



†.⊙Λ.⊂ξ† †C%#%Λ † C†.C%⊙

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DE DIPLOME DE MASTER

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Parasitologie

Présenté par :

HAOUCHINE Sofiane & OUADI Lyes

Thème : Étude rétrospective et prospective de la cryptosporidiose diagnostiquée au niveau du CHU de Tizi-Ouzou

Devant le jury

Président	SIFER.K	MAA	UMMTO
Examineur	MSELA.A	MCB	UMMTO
Promotrice	YOUSFI.S	MCA	UMMTO
Co-promoteur	MOULOUA.A.K	MCA	UMMTO

Remerciements

Nous tenons, avant tout, à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice **Mme YOUSFI.S** pour nous avoir proposé ce sujet et accepté d'encadrer ce travail. Nous la remercions également pour sa patience, sa disponibilité, ses conseils et l'aide constante qu'elle nous a apportée tout au long de ce projet.

Nous adressons nos vifs remerciements à notre Co-promoteur **Mr MOULOUA. A.K** pour ses conseils, ses observations, et ses orientations pendant la réalisation de ce travail en laboratoire.

Nous tenons également à remercier **Dr SEKLAOUI.N** pour nous avoir accueillis dans le laboratoire de Parasitologie et Mycologie ainsi que tous les membres du laboratoire.

Nous remercions vivement les membres du jury pour avoir accepté de faire partie du jury de soutenance. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre gratitude.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin et qui ont participé à l'élaboration de ce document.

Dédicaces

H.S COYG

Je remercie Dieu de m'avoir donné la force nécessaire pour mener à bien ce travail. Je dédie ce mémoire à mes chers parents pour leurs encouragements et leurs prières constantes tout au long de cette aventure.

Je le dédie également à mes frères et à ma nièce **Nélia** et toute la famille, ainsi qu'à mon ami Aris. Merci pour votre soutien et votre aide précieuse.

Enfin, je souhaite dédier ce travail à notre cher artiste **Hssissou** de la caméra cachée, au professeur **Amrane** et à **Smail Kouiret**, pour leur inspiration et leurs contributions inestimables.

O.L Scuderia Ferrari f1

Je remercie Dieu de m'avoir donné la force nécessaire pour mener à bien ce travail.

Je dédie ce mémoire en hommage à mes parents bien-aimés, qui ont toujours cru en moi et m'ont inspiré à atteindre mes objectifs. Votre souvenir est une source de réconfort et de motivation.

Je le dédie également à mes frères, sœurs, nièces, neveux, ainsi qu'à mon amie **Warssissima.A** et **Lyes.CH** Merci pour votre soutien et votre aide précieuse.

Résumé

Ce mémoire explore *Cryptosporidium sp.*, un protozoaire pathogène responsable de cryptosporidiose, et son impact sur la santé humaine, s'appuyant sur des données recueillies au CHU de Tizi Ouzou. La première partie présente une revue exhaustive des connaissances sur *Cryptosporidium*, incluant sa biologie, son cycle de vie complexe, les modes de transmission – tels que l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés – et les symptômes cliniques associés, qui varient de la diarrhée aiguë à des manifestations plus sévères chez les immunodéprimés.

Deux études ont été réalisées pour mieux comprendre l'épidémiologie de cette infection. La première, une étude rétrospective, a couvert une période de dix ans et inclus 278 patients. Parmi eux, 24 cas positifs ont été identifiés, représentant une prévalence de 8,6%. Cette étude a également examiné les facteurs de risque associés aux infections, tels que l'âge, les conditions de santé préexistantes et les pratiques d'hygiène. Les résultats ont mis en lumière une prévalence accrue chez certaines populations vulnérables, notamment les enfants, les personnes âgées et les patients immunodéprimés.

En parallèle, une étude prospective a été menée sur un échantillon de 60 patients, révélant 2 cas positifs (3,3%), un chez un enfant et un autre chez une personne âgée. Cette étude a permis de recueillir des données sur les symptômes présentés, l'historique médical et les éventuelles expositions antérieures à des sources d'infection. Les résultats de ces deux études soulignent une prévalence modérée de la cryptosporidiose dans la région, et la nécessité d'une vigilance accrue dans le dépistage des cas, particulièrement parmi les groupes à risque.

Mots clés : Cryptosporidiose -Oocystes-Immunodéprimés - Diarrhée - Prévention - Enfants -Épidémiologie Nitazoxanide - Méthodes diagnostiques - Microscopie - Prévalence -Transmission hydrique - Étude rétrospective - Étude prospective - CHU de Tizi-Ouzou

Abstract

This thesis explores *Cryptosporidium sp.*, a pathogenic protozoan responsible for cryptosporidiosis, and its impact on human health, based on data collected at the CHU of Tizi Ouzou. The first part presents a comprehensive review of knowledge on *Cryptosporidium*, including its biology, complex life cycle, modes of transmission—such as the ingestion of contaminated water or food—and associated clinical symptoms, which range from acute diarrhea to more severe manifestations in immunocompromised individuals.

Two studies were conducted to better understand the epidemiology of this infection. The first, a retrospective study, covered a ten-year period and included 278 patients. Among them, 24 positive cases were identified, representing a prevalence of 8.6%. This study also examined risk factors associated with infections, such as age, pre-existing health conditions, and hygiene practices. The results highlighted an increased prevalence among certain vulnerable populations, including children, the elderly, and immunocompromised patients.

Simultaneously, a prospective study was conducted on a sample of 60 patients, revealing 2 positive cases (3.3%), one in a child and another in an elderly person. This study gathered data on the symptoms presented, medical history, and any previous exposures to sources of infection. The findings from these two studies indicate a moderate prevalence of cryptosporidiosis in the region and the need for increased vigilance in screening cases, particularly among at-risk groups

Keywords: Cryptosporidiosis -Oocysts – Immunocompromised - Diarrhea -Prevention - Children - Epidemiology - Nitazoxanide- Diagnostic methods - Microscopy -Prevalence Waterborne transmission - Retrospective study - Prospective study - CHU of Tizi-Ouzou

Liste des figures

FIGURE 1 : Représentation d'un oocyste et d'un sporozoïte de <i>Cryptosporidium sp</i> ----	3
FIGURE 2 : Excystation de l'oocyste et invasion de la cellule hôte par le sporozoïte ----	6
FIGURE 3 : Trophozoïtes a la surface de la cellule hote 48 h apres l'inoculation-----	8
FIGURE 4 : Mérontes i et mérozoïtes de type I -----	10
FIGURE 5 : Mérontes type II et mérozoïtes de type II -----	11
FIGURE 6 : Macrogamonts et leurs zones d'attachement -----	12
FIGURE 7 : Microgamonts -----	13
FIGURE 8 : Cycle de <i>Cryptosporidium sp</i> -----	15
FIGURE 9 : Biopsie intestinale montrant la présence de <i>Cryptosporidium parvum</i> à la surface des cellules épithéliales intestinales.-----	22
FIGURE 10 : Oocystes de <i>Cryptosporidium sp</i> . -----	23
FIGURE 11 : Oocyste de <i>Cryptosporidium</i> par coloration de ziehl-neelsen à froid modifiée au grossissement X100 . -----	24
FIGURE 12 : Coloration de kinyoun modifiée -----	25
FIGURE 13 : Oocystes de <i>Cryptosporidium sp</i> colorées à l'auramine-phénol. -----	26
FIGURE 14 : Des oocystes de <i>Cryptosporidium</i> révélés par des anticorps immunofluorescents -----	27
FIGURE 15 : Préparation de l'eau physiologique -----	36
FIGURE 16 : Étapes d'examen direct -----	36
FIGURE 17 : Étapes de la technique de Ritchie-----	37
FIGURE 18 : Étapes de réalisation de coloration de ziehl-neelsen modifiée par henriksen et pohlenz -----	39
FIGURE 19 : Étapes de réalisation de coloration de kinyoun -----	40

FIGURE 20 : Les oocystes de *Cryptosporidium* sous microscope optique après la coloration de zeihl-neelsen modifiée au grossissement X100 ----- **43**

FIGURE 21 : Les oocystes de *Cryptosporidium* sous microscope optique après la coloration de kinyoun au grossissement X100 ----- **44**

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : Classification taxonomique	3
TABLEAU 2 : Espèces de <i>Cryptosporidium</i> les plus prédominantes	4
TABLEAU 3 : Sensibilités et spécificités des méthodes microscopiques	26
TABLEAU 4 : Nombre de cas étudié selon différents services.....	42
TABLEAU 5 : Répartition des patients étudiés selon les services.....	44
TABLEAU 6 : Les taux des cas selon le sexe	45
TABLEAU 7 : Répartition des cas positif selon les tranches d'âge	46
TABLEAU 8 : Fréquence des cas étudiés de <i>Cryptosporidium</i> durant 10 ans depuis 2014	46

Liste des abréviations

AIDS : ACQUIRED IMMUNODEFICIENCY SYNDROME (SYNDROME D'IMMUNODÉFICIENCE ACQUISE)

CART : COMBINED ANTIRETROVIRAL THERAPY (THÉRAPIE ANTIRÉTROVIRALE COMBINÉE)

CD4+ : CLUSTER OF DIFFERENTIATION 4 POSITIVE (TYPE DE LYMPHOCYTE T)

CELLULES/MM3 : CELLULES PAR MILLIMÈTRE CUBE

DPCR : DIGITAL PCR

EIA - ENZYME IMMUNOASSAY (IMMUNOESSAI ENZYMATIQUE)

ELISA - ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY

GEMS: GENOME-SCALE METABOLIC MODELS

IFN- γ : INTERFÉRON GAMMA

MG/KG/JOUR : MILLIGRAMMES PAR KILOGRAMME PAR JOUR

MZN: MODIFIED ZIEHL-NEELSEN (ZIEHL-NEELSEN MODIFIÉE)

NF-KB : FACTEUR NUCLÉAIRE KAPPA B (UN FACTEUR DE TRANSCRIPTION IMPLIQUÉ DANS LA RÉGULATION DE DIVERS PROCESSUS CELLULAIRES, Y COMPRIS L'INFLAMMATION)

QPCR : PCR QUANTITATIVE

RFLP : RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (POLYMORPHISME DE LONGUEUR DES FRAGMENTS DE RESTRICTION)

SUBSTANCE P : UN NEUROTRANSMETTEUR IMPLIQUÉ DANS LA TRANSMISSION DE LA DOULEUR ET D'AUTRES FONCTIONS NEUROLOGIQUES

TGF-B : TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (FACTEUR DE CROISSANCE TRANSFORMANT BÊTA)

VHB : VIRUS DE L'HÉPATITE B (VIRUS DE L'HÉPATITE B)

VHC : VIRUS DE L'HÉPATITE C (VIRUS DE L'HÉPATITE C)

VIH : VIRUS DE L'IMMUNODÉFICIENCE HUMAINE

VIH-1 : VIRUS DE L'IMMUNODÉFICIENCE HUMAINE DE TYPE I

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

RÉSUMÉ

ABSTRACT

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR *CRYPTOSPORIDIUM SP*

1	Historique.....	2
2	Taxonomie.....	2
3	Morphologie :.....	5
3.1	Oocystes.....	5
3.2	Sporozoïtes.....	6
3.3	Les trophozoïtes.....	7
3.4	Les mérontes.....	8
3.5	Les mérozoïtes.....	9
3.6	Les macrogamonts et Les microgamonts.....	11
3.6.1	Les macrogamonts.....	11
3.6.2	Les microgamontes.....	13
4	Cycle.....	14
5	Resistance du parasite.....	15

CHAPITRE II : LA CRYPTOSPORIDIOSE

1	Définition.....	16
2	Prévalence et Épidémiologie de l'Infection à <i>Cryptosporidium</i>	16
3	Transmission :.....	17

4	Signes cliniques	17
4.1	Chez les immunocompétents	18
4.2	Chez les enfants	19
4.3	Chez les immunodéprimés	19
5	Facteurs de risque	20
5.1	Maladies immunodéficientes et cryptosporidiose.....	20
5.2	Cancer	20
5.3	Leucémie/Lymphome	20
5.4	Transplantation de moelle osseuse et d'organes solides	21
5.5	Diabète.....	21
6	Pathogénèse	21
6.1	Malabsorption.....	22
7	Diagnostic	23
7.1	Diagnostic microscopique.....	23
7.1.1	Technique de concentration :.....	23
	<i>Technique de Ritchie</i>	23
7.2	Méthodes de coloration	24
7.2.1	Colorations Historiques :	24
7.2.2	Coloration Modifiée de Ziehl-Neelsen (mZN) :.....	24
7.2.3	La coloration de Kinyoun	25
7.2.4	Coloration Auramine phénol	25
7.3	Immunofluorescence	26
7.4	Méthodes de Diagnostic par EIA, ELISA et Immunochromatographie	27
7.5	Approches Moléculaires	28
7.6	Tendances futures dans les plateformes moléculaires.....	29
8	Prévention	30
8.1	Prévention individuelle de la cryptosporidiose :	30
8.2	Prévention collective :	30
9	Traitement	31
9.1	Nitazoxanide	31
9.2	La paromomycine.....	32

9.3 Les macrolides	32
--------------------------	----

CHAPITRE III : MATÉRIELS ET MÉTHODES

1 Objectifs	33
2 Présentation des lieux de prélèvement	33
2.1 Lieu d'étude.....	33
3 Population de l'étude.....	33
4 Matériel non biologique.....	33
4.1 Appareillage	33
4.2 Les réactifs.....	33
4.3 Autre matériel.....	34
5 Méthodes utilisées.....	34
5.1 Recueil des selles	34
5.2 Examen macroscopique	35
5.3 Examen microscopique	35
5.3.1 Examen directe	35
5.3.2 Technique de concentration : Technique de Ritchie	37
5.3.3 Réalisation d'un frottis	37
5.3.4 Les Colorations	38
.5.3.4.1 Coloration de Zeihl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz	38
.5.3.4.2 Coloration de Kinyoun	39
5.3.5 Lecture	41
5.4 Analyse statistique	41

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSION

1 Résultats	42
1.1 Etude prospective.....	42
1.2 Etude rétrospective	44
1.2.1 Répartition des patients selon différents services.....	44
1.2.2 Répartition des patients selon le sexe	45
1.2.3 Distribution des cas de Cryptosporidiose selon la tranche d'âge	45

1.2.4	Fréquence des cas positifs observer dans le laboratoire mycologie- parasitologie depuis 2014	46
2	Discussion :	47
	CONCLUSION.....	50
	BIBLIOGRAPHIE	

Introduction

Bons nombres de parasitoses semblent affecter le system digestif, une localisation optimale permettant à l'organisme parasite un accès direct aux ressources de l'organisme hôte, sans dépenser un surplus d'énergie [1]. Ces atteintes intestinales sont qualifiées d'opportunistes, car elles sont généralement détectées ou observés chez des personnes a immunités réduites ou défailant. Ces dernières sont létales, si elles ne sont pas traitées.

La Cryptosporidiose, l'une d'entre elles, est une infection causée par un parasite protozoaire du genre *Cryptosporidium*. Cette zoonose cosmopolite de la sous classe des coccidies fut longtemps exclusivement animale (mammifères, oiseaux, reptiles, poissons), et observer par TYZZER pour la première fois dans le tube digestif de la souris de laboratoire [1].

Chez l'homme, l'atteinte qui a été observé en 1976, fut considérée comme rare jusqu'en 1980, et longtemps associée aux fermiers et autre personne travaillant à proximité du bétail. Mais rapidement, la Cryptosporidiose humaine est devenue un problème clinique en raison de sa fréquence et, de la gravité des manifestations digestives, surtout chez les immunodéficients [2].

La maladie qui a tendance à guérir d'elle-même chez les patients immunocompétents, a comme principal symptôme une diarrhée aqueuse, accompagnée d'autres signes gastro-intestinaux.

Son impact est surtout observable chez les immunodéficients, d'autant plus qu'aucun traitement spécifique efficace n'existe pas, aucune molécule testée n'a eu un contrôle parfait sur l'atteinte. [2]

L'objectif de notre étude est de déterminer l'importance de cette parasitose opportuniste à travers des cas diagnostiqués au niveau du CHU de Tizi Ouzou.

Chapitre I : Généralités sur
Cryptosporidium sp

1 Historique

Le genre *Cryptosporidium* a été découvert pour la première fois en 1907 par Tyzzer dans les glandes gastriques d'une souris de laboratoire « *Mus musculus* » qu'il a nommé « *Cryptosporidium muris* » en 1910. En 1912, Tyzzer a observé une autre espèce dans l'intestin grêle de souris, également du même genre et de morphologie similaire, mais plus petite, qu'il a nommée « *Cryptosporidium parvum* » [2].

En 1955, Slavin a découvert la pathogénicité de « *Cryptosporidium meleagridis* », provoquant des infections dans le système digestif des dindes, entraînant des diarrhées et une faible mortalité [3]. Les premiers cas de cryptosporidiose chez l'homme ont été rapportés en 1976 chez deux patients : l'un immunodéprimé [4], et l'autre un enfant de trois ans immunocompétent, capable de produire une réponse immunitaire normale face à un agent pathogène [5]. Les personnes immunodéficientes, telles que celles souffrant de SIDA, sont particulièrement à risque [6].

En 1978, une étude menée dans l'Iowa (USA) a identifié les différentes espèces de « *Cryptosporidium* » comme des agents entéropathogènes importants chez les veaux [7]. En 1993, Milwaukee (États-Unis) a connu l'une des épidémies les plus importantes, touchant plus de 400 000 personnes ayant consommé de l'eau du robinet contaminée [8].

En Algérie, les premiers cas de cryptosporidiose ont été diagnostiqués en 1992 par le médecin Azzam à l'hôpital d'El Kettar (wilaya d'Alger), chez deux patients immunodéprimés et trois immunocompétents [9].

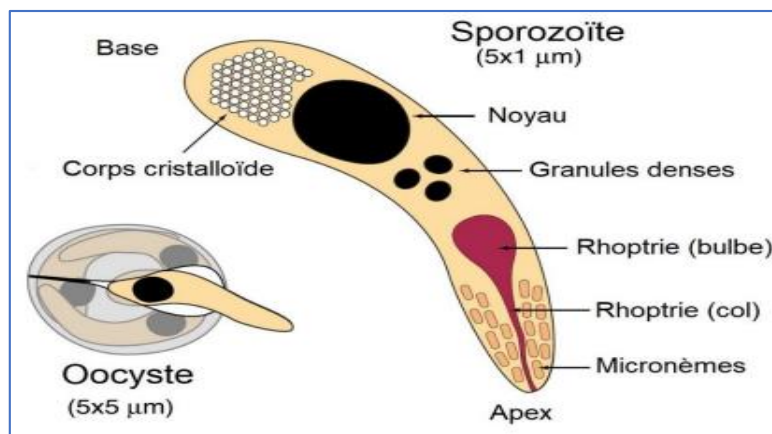
2 Taxonomie

Le genre *Cryptosporidium*, faisant partie du domaine des Eucaryotes et du phylum des *Apicomplexa*, l'ordre des *Eucoccidiorida*, le sous-ordre des *Eimeriorina* et la famille des *Cryptosporidiidae*.

Tableau 1 : Classification taxonomique [10] [11] [12]

Classification	Nom
Règne	Protistes
Phylum	Apicomplexa
Classe	Sporozoasida
Sous-classe	Coccidiasina
Ordre	Eucoccidiorida
Sous-ordre	Eimeriorina
Famille	Cryptosporidiidae
Genre	<i>Cryptosporidium</i>

Cryptosporidium a vu sa classification révisée il y a environ dix ans. Initialement classé parmi les Coccidies, ce genre a été rapproché des grégarines, des protistes parasites des vertébrés, en raison de similitudes biologiques, moléculaires et génétiques, bien qu'il provienne probablement d'un lignage distinct. Certains chercheurs suggèrent de le classer dans la classe des Gregarinomorpha et de créer une nouvelle sous-classe, les Cryptogregarinorida [13] [14]. Les *Cryptosporidium* sont des organismes unicellulaires dotés d'un complexe apical mais dépourvus de mitochondries, et leur motilité est assurée par leur glidésome. La structure de ces parasites est illustrée dans la Figure 1 [15].

Figure 1 : Représentation d'un oocyste et d'un sporozoïte de *Cryptosporidium sp* [15]

La classification des protozoaires est généralement complexe et repose souvent sur des critères subjectifs. En l'absence de différences morphologiques évidentes, les variations dans la répartition géographique, la spécificité des hôtes ou le comportement des parasites peuvent être utilisées pour définir une espèce. Le genre *Cryptosporidium* comprend environ 30 espèces identifiées à ce jour, présentes chez plus de 250 espèces de vertébrés [15], y compris des mammifères, des poissons et des oiseaux. Chez l'homme, environ 20 espèces de *Cryptosporidium* ont été recensées, mais plus de 90 % des cas de cryptosporidiose sont causés par deux espèces principales : *Cryptosporidium hominis* et *Cryptosporidium parvum* [15].

Tableau 2 : Espèces de *Cryptosporidium* les plus prédominantes : principaux hôtes, taille des oocystes et localisation [16, 17, 18, 19]

<i>Cryptosporidium</i> spp.	Hôte	Taille de l'oocyste sporulé en μm	Localisation
<i>C. hominis</i>	Humains	4.5 × 5.5	Intestin grêle
<i>C. scophthalmi</i>	Poissons	3.0–4.7 × 3.7–5.0	Intestin
<i>C. molnari</i>	Poissons	4.7 × 4.5	Estomac
<i>C. tyzzeri</i>	Souries	4.6 × 4.2	Intestin grêle
<i>C. rattii</i>	Rongeurs	4.5–5.4 × 4.5–5.0	Intestin grêle
<i>C. muris</i>	Rongeurs, humains	5.6 × 7.4	Estomac
<i>C. macropodum</i>	Marsupiaux	4.9 × 5.4	Intestin grêle
<i>C. fayeri</i>	Marsupiaux, kangourous	4.9 × 4.3	Intestin
<i>C. serpentis</i>	Serpents, lézards	4.8–5.6 × 5.6–6.6	Estomac
<i>C. saurophilum</i>	Serpents, lézards	4.2–5.2 × 4.4–5.6	Intestin, muqueuse du cloaque
<i>C. felis</i>	Félins, humains	4.5 × 5.0	Intestin grêle
<i>C. canis</i>	Canidés, humains, coyotes, renards	5.0 × 4.7	Intestin grêle
<i>C. cuniculus</i>	Lapins	5.9 × 5.4	Intestin grêle
<i>C. wrairi</i>	Cochons d'indes	4.0–5.0 × 4.8–5.6	Intestin grêle

<i>C. suis</i>	Porcs, humains	5.1 × 4.4	Intestin grêle
<i>Eurasian woodcock genotype</i>	Oiseaux	8.5 × 6.4	Intestin
<i>Avian genotype IV</i>	Oiseaux	8.25 × 6.3	Intestin
<i>Avian genotype II</i>	Oiseaux	6.0–6.5 × 4.8–6.6	Intestin
<i>C. nesorum</i>	Poissons	4.3 × 3.2	Intestin
<i>C. parvum</i>	Ruminants, humains	4.5 × 5.5	Intestin grêle
<i>C. bovis</i>	Ruminants	4.2–4.8 × 4.8–5.4	Intestin grêle
<i>C. andersoni</i>	Ruminants, camélidés	5.5 × 7.4	Abomasum (caillette)
<i>C. ryanae</i>	Ruminants	3.2 × 3.7	Intestin grêle
<i>C. xiaoi</i>	Ovins	3.9 × 3.4	Intestin grêle
<i>C. ubiquitum</i>	Ovins, animaux sauvages	5.2 × 4.9	Intestin grêle
<i>C. meleagridis</i>	Volailles, humains	4.5–5.0 × 4.6–5.2	Intestin
<i>C. baileyi</i>	Oiseaux	6.4 × 6.2	Cloaque, bourse de Fabricius, trachée respiratoire
<i>C. galli</i>	Oiseaux	8.0–8.5 × 6.2–6.4	Proventricule
<i>C. avium</i>	Oiseaux	5.3–6.9 × 4.3–5.5	Intestin
<i>C. ornithophilus</i>	Autruches	6.13 × 5.15	Intestin
<i>C. proventriculi</i>	Oiseaux psittaciformes	7.4 × 5.8	Proventricule

3 Morphologie :

3.1 Oocystes

Ils ont une forme sphérique à ovoïde. Leurs sporozoïtes nus sans sporocystes et présente un corps résiduel granuleux central très réfringent [20]. Leur paroi est

composée de deux couches distinctes : une couche interne et une couche externe. La couche externe, de densité électronique variable, est composée d'une matrice polysaccharidique où le glucose est le sucre prédominant. Cette matrice est immunogène et hautement résistante aux protéases. La couche interne, peu électronique dense, semble être composée de glycoprotéines filamenteuses et pourrait contribuer à la robustesse et à l'élasticité de la paroi [21].

3.2 Sporozoïtes

Les sporozoïtes, mesurant environ 1 à 1,5 μm de longueur, ont une forme allongée et mince. Entourés d'une membrane plasmique lisse, contenant des protéines spécifiques pour l'attachement et l'invasion, ils se déplacent grâce à une motilité de glissement alimentée par un système de moteur actine-myosine. Leur complexe apical, comprenant des structures spécialisées comme les rhoptries et les micronèmes, est essentiel pour l'invasion des cellules hôtes. Résistants à des conditions environnementales variées, ils expriment des lectines de surface facilitant l'attachement aux cellules hôtes et entre eux, contribuant ainsi à leur capacité d'invasion. [22]

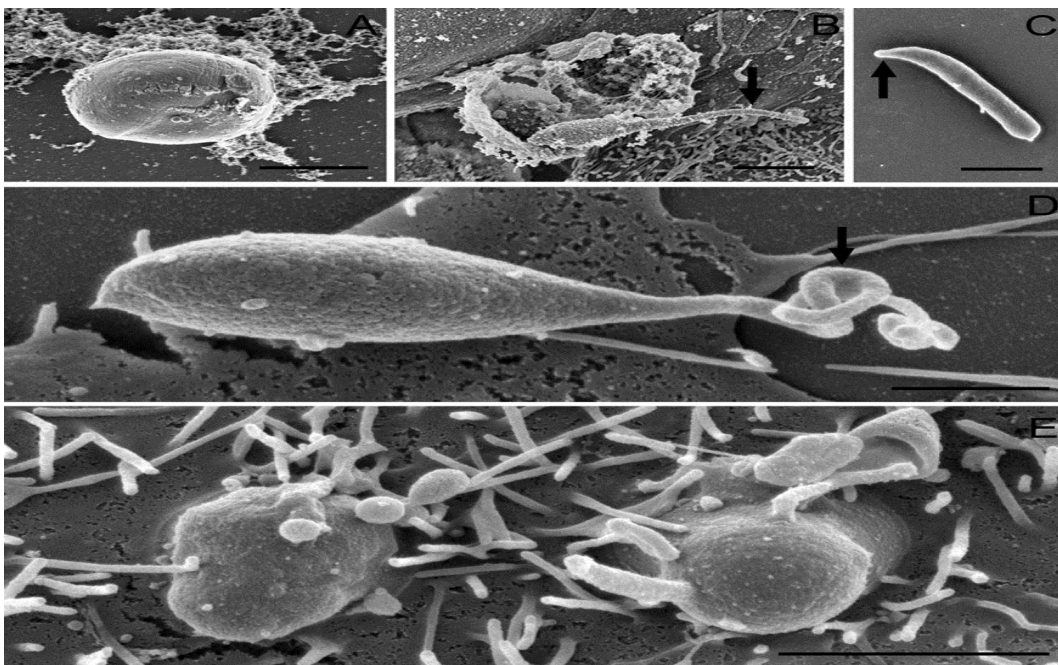


Figure 2 : Excystation de l'oocyste et invasion de la cellule hôte par le sporozoïte [23]

- (A) Oocyste intact provenant du surnageant, 3 h après l'inoculation.
- (B) Excystation de l'oocyste in vitro, 48 h après l'inoculation.
- (C) Sporozoïte libre isolé à partir du surnageant 3 h après l'inoculation.
- (D) Sporozoïte libre sur la cellule hôte, 7 h après l'inoculation. Les flèches indiquent les régions apicales des sporozoïtes.
- (E) Encapsulés par la membrane apicale de la cellule hôte, les sporozoïtes envahissants se transforment au stade de trophozoïte de manière épi cellulaire, à 6 h et 24 h respectivement.
- Barres d'échelle : (A) 4 mm ; (B) 2 mm ; (C, D, E) 1 mm.

3.3 Les trophozoïtes

Les trophozoïtes possèdent plusieurs caractéristiques distinctives qui leur permettent de survivre et de se multiplier efficacement au sein de l'hôte. Ils ont une forme ovale à ronde, mesurant généralement entre 2 et 5 μm de diamètre, et se trouvent à la surface des cellules épithéliales de l'hôte, souvent dans une vacuole parasitophore. Ces trophozoïtes sont englobés par la membrane apicale de la cellule hôte, formant une vacuole qui les isole du cytoplasme de la cellule hôte. Ils contiennent un seul noyau central, visible sous microscope électronique, et dépendent des nutriments de l'hôte pour leur métabolisme et leur croissance. Au cours de leur développement, les trophozoïtes se transforment en mérontes, puis en mérozoïtes, complétant ainsi leur cycle de vie. Leur surface lisse peut contenir des structures spécialisées comme des microtubules pour faciliter l'attachement et la nutrition. [22]

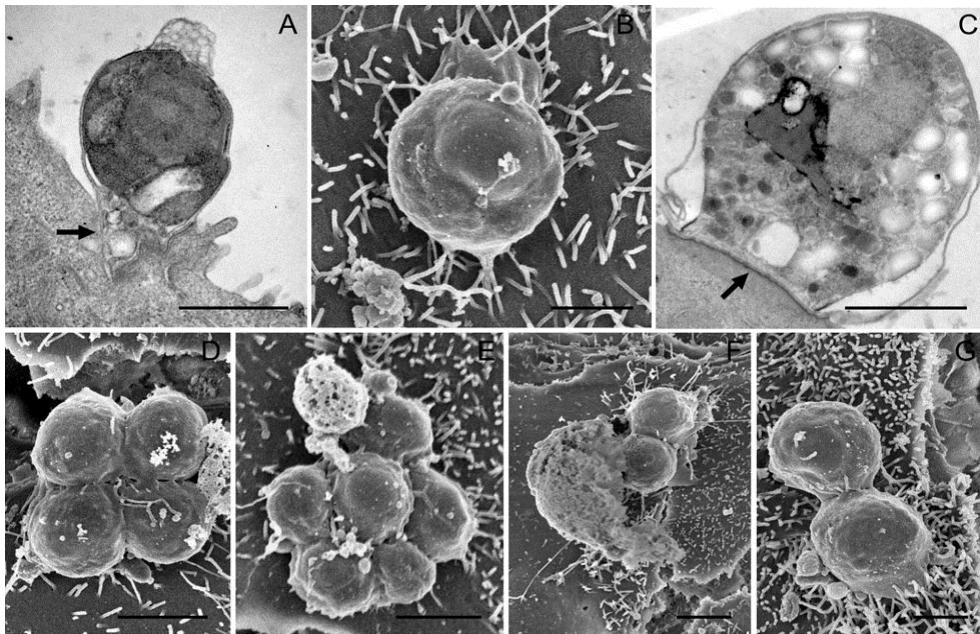


Figure 3 : Trophozoïtes à la surface de la cellule hôte 48 h après l'inoculation [23]

- (A) Coupe transversale d'un trophozoïte précoce montrant l'attachement de l'organe nourricier (flèche) au cytosol de la cellule hôte.
- (B) Trophozoïte mature.
- (C) Coupe transversale d'un trophozoïte mature révélant la bande dense en électrons (flèche) qui sépare le parasite de la cellule hôte.
- (D,E,F,G) Accumulations de trophozoïtes à la surface de la cellule hôte.

Barres d'échelle : (A) 0.5 μ m ; (B,C,G) 1 μ m ; (D,E,F) 2 μ m

3.4 Les mérontes

Les mérontes se distinguent par leur forme ovale à ronde et leur localisation à la surface des cellules épithéliales de l'hôte, enveloppés par la membrane apicale de la cellule hôte.

Les mérontes de type I mesurent environ 1,5 μ m de diamètre en développement, atteignant jusqu'à 2,5 μ m au stade de libération des mérozoïtes, tandis que les mérontes de type II sont plus grands, mesurant environ 3,5 μ m de diamètre [11]. Les mérontes I contiennent des mérozoïtes de type I alignés parallèlement, alors que les

mérontes II renferment des mérozoïtes de type II, ronds et mesurant entre 0,5 et 1 µm de diamètre. La libération des mérozoïtes se fait sans perforation apparente de la membrane des mérontes, qui peut s'ouvrir ou se rompre pour permettre cette libération. Les mérontes II ont une membrane externe plus épaisse que celle des mérontes I, suggérant une origine de la cellule hôte. Issus de trophozoïtes, les mérontes subissent la mérogonie pour former des mérozoïtes internes avant d'atteindre leur taille maximale, restant attachés aux cellules hôtes jusqu'à la libération des mérozoïtes, souvent en laissant un corps résiduel derrière [11].

3.5 Les mérozoïtes

Les mérozoïtes de *Cryptosporidium* sont des structures allongées ou en croissant, mesurant environ 1 à 2 micromètres. Ils possèdent un complexe apical avec des rhoptries et des micronèmes, essentielles pour envahir les cellules hôtes, et se déplacent activement grâce à un système actine-myosine. Les mérozoïtes se fixent aux cellules épithéliales intestinales de l'hôte via des protéines spécifiques avant de les envahir, poursuivant ainsi leur cycle de multiplication asexuée.

Ils se divisent en deux types principaux :

Mérozoïtes de type I: Ils proviennent de mérontes de type I et initient l'infection en envahissant rapidement les cellules hôtes, permettant une multiplication prolongée. Ils sont plus abondants et ont une grande capacité de réinfection [11].

Mérozoïtes de type II: Ils proviennent de mérontes de type II et sont essentiels pour la transmission sexuelle du parasite, conduisant à la formation de gamètes. Moins nombreux, ils marquent la transition vers la phase sexuelle du cycle de vie, produisant de nouveaux oocystes infectieux. Morphologiquement, ils sont souvent plus petits et montrent des différences subtiles dans les structures apicales par rapport aux mérozoïtes de type I [11].

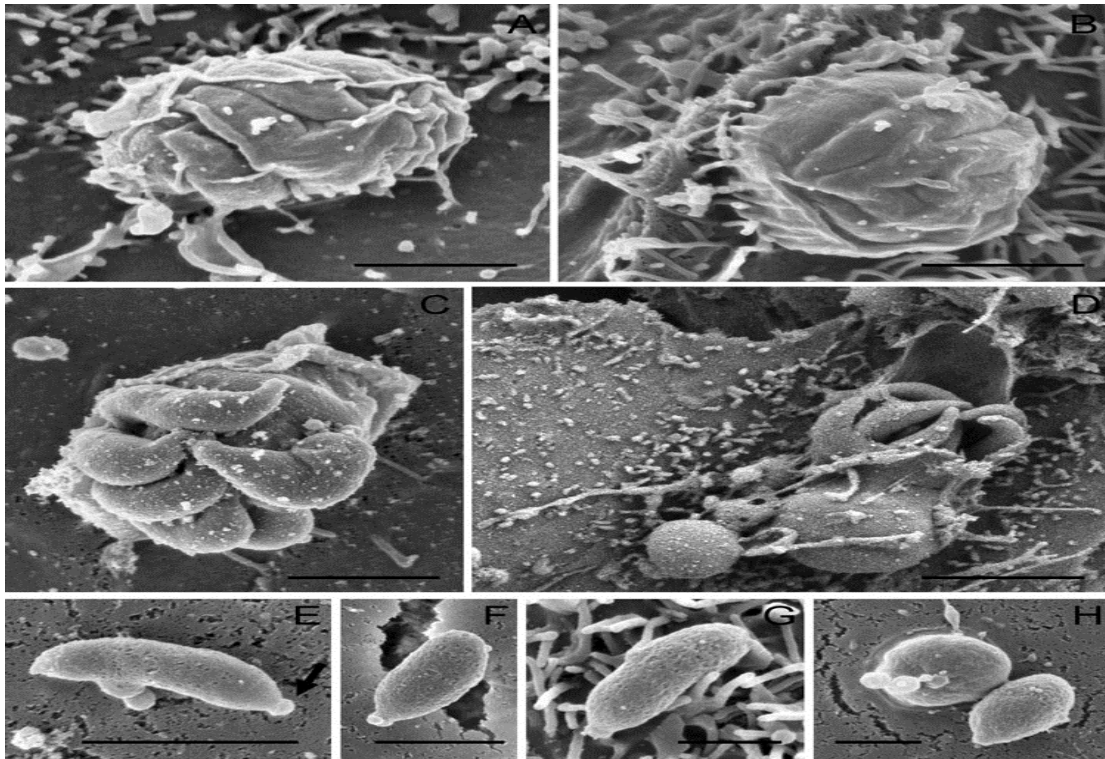


Figure 4 : Mérontes I et mérozoïtes de type I [23]

- (A,B) Mérontes I en développement avec des mérozoïtes internes de type I.
- (C,D) Mérontes I matures au stade de l'excystation des mérozoïtes I.
- (E,F,G) Mérozoïtes libres de type I montrant des régions apicales bien définies (flèche) après 6 heures de culture.
- (H) Invasion de la cellule hôte par le mérozoïte de type I 6 heures après l'inoculation.

Barres d'échelle : (A,B,C,E,F) 1 mm; (D) 2 mm; (G,H) 0,5 mm.

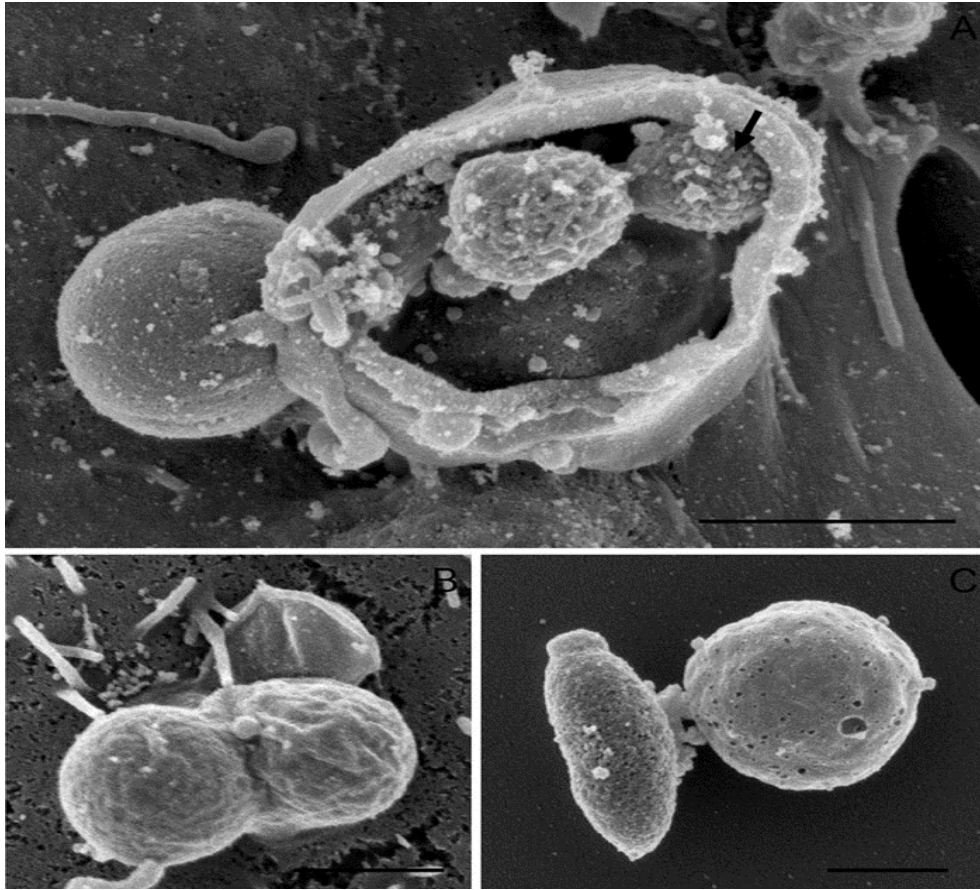


Figure 5 : Mérontes type II et mérozoïtes de type II [23]

- (A) Méronte II excroissant avec mérozoïtes internes de type II (flèche) 3 jours après l'inoculation.
- (B) Mérozoïte de type II envahissant la cellule hôte.
- (C) Appariement d'un mérozoïte de type II avec un mérozoïte de type I 9 heures après l'inoculation.

Barres d'échelle : (A) 1 mm ; (B,C) 0,5 mm.

3.6 Les macrogamonts et Les microgamonts

3.6.1 Les macrogamonts

Les macrogamonts sont ovulaires et mesurent environ 4 à 5 μm de diamètre. Ils sont situés de manière extracellulaire avec un contact réduit avec les cellules hôtes par rapport aux trophozoïtes ou aux mérontes. Leur surface apparaît rugueuse, indiquant

souvent une rupture du contact avec la cellule hôte et laissant derrière elle une membrane dérivée de la cellule hôte. Les macrogamonts montrent une attache des organelles de nutrition, visibles sous forme de structures granulaires, et des zones de détachement annulaire peuvent être observées là où ces organelles étaient attachées à la cellule hôte [11].

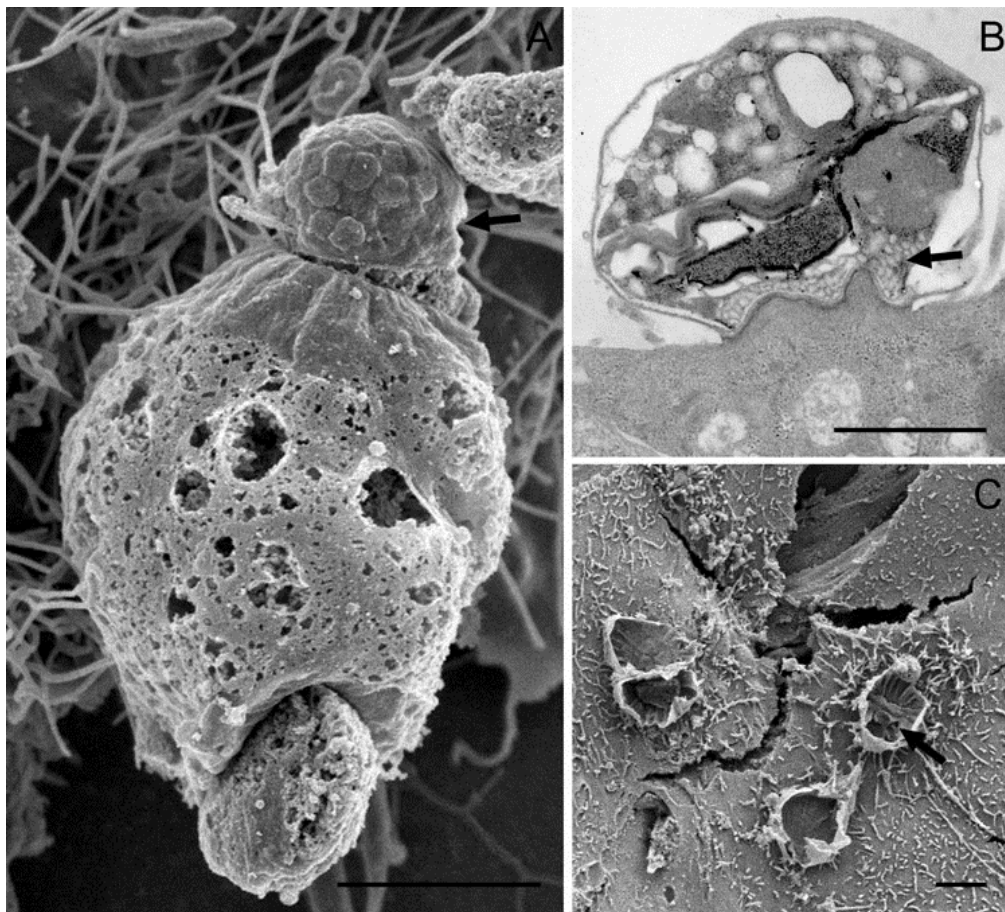


Figure 6 : Macrogamonts et leurs zones d'attachement [23]

- (A) Macrogamont avec organite d'alimentation (flèche) 4 jours après l'inoculation.
- (B) Macrogamont en développement avec organite nourricier (flèche).
- (C) Zones d'attachement de *Cryptosporidium parvum* 5 jours après l'inoculation.

Barres d'échelle : (A,C) 2 mm ; (B) 1 mm.

3.6.2 Les microgamonts

Les microgamonts sont petits et ronds, mesurant environ 2 μm de diamètre, et contiennent de nombreux microgamètes sphériques et non flagellés de 0,1 μm de diamètre. Ils libèrent des microgamètes pour fertiliser les macrogamonts. Entourés d'une membrane dérivée de la cellule hôte, les microgamonts présentent des attaches des organelles de nutrition. Environ la moitié d'entre eux possèdent une structure en forme de tige, suggérant une connexion avec les cellules hôtes, et ils peuvent se regrouper en clusters. Ces caractéristiques sont essentielles pour comprendre leur développement et leur rôle dans la reproduction sexuée du parasite, contribuant à la propagation de l'infection [11].

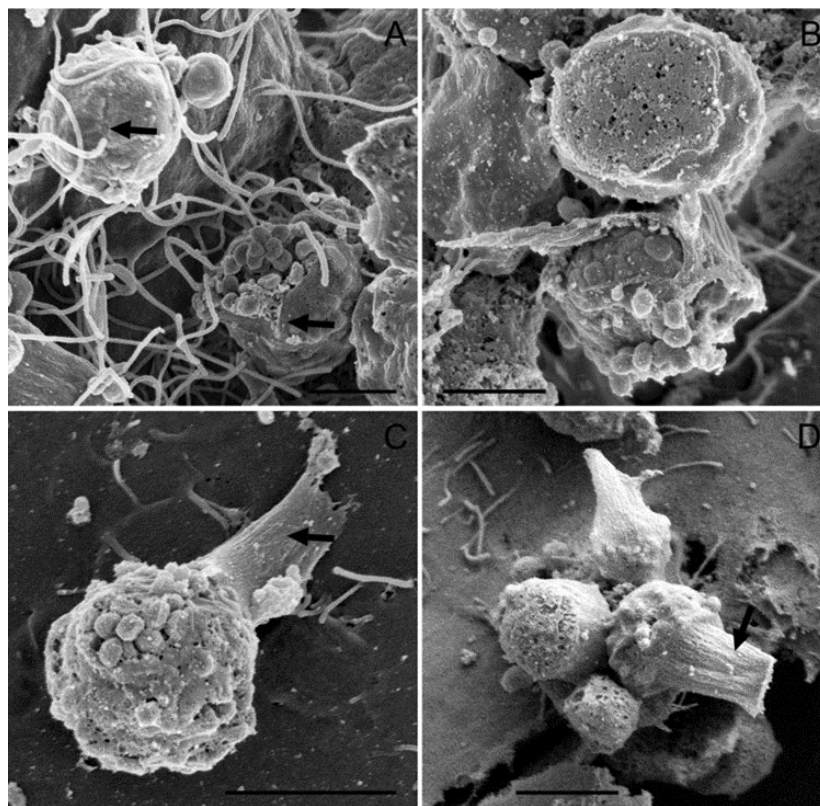


Figure 7 : Microgamonts [23]

- (A, B) Microgamonts sans pédoncule. Les flèches en A indiquent une fente le long de laquelle s'ouvrent les macrogamonts.
- (C, D) Microgamonts avec pédoncule (flèche).

Barres d'échelle : (A,B) 1 μm ; (C,D) 2 μm .

4 Cycle

Les cryptosporidies sont des parasites à cycle homoxène, ce qui signifie qu'ils n'impliquent qu'un seul hôte pour leur cycle de vie, avec une infection qui se produit à partir des éléments parasitaires présents dans l'environnement. Leur cycle de vie est complexe, alternant entre des phases extracellulaires et intracellulaires dans la lumière intestinale. Une fois ingérés par l'hôte, les parasites se fixent à la surface des entérocytes, les cellules de la paroi intestinale, et fusionnent avec les microvillosités pour former une vacuole parasitophore. À l'intérieur de la cellule hôte, les parasites se nourrissent et se développent pour former des trophozoïtes, une forme classique observée sous forme de "piédestal" au microscope électronique.

Les trophozoïtes se multiplient ensuite par mérogonie, un processus de multiplication asexuée, pour donner naissance à six à huit mérozoïtes I. Chaque mérozoïte I peut envahir une nouvelle cellule hôte et recommencer le cycle de multiplication. Certains mérozoïtes peuvent également se transformer en mérozoïtes II, qui peuvent à leur tour se différencier en micro- ou macrogamontes lors de la gamétogonie. Les mécanismes précis de la gamétogonie ne sont pas encore entièrement compris. Les microgamontes libèrent des microgamètes qui fécondent les macrogamontes. La fusion des gamètes mâle et femelle donne naissance à un zygote, qui subit ensuite une méiose pour produire des individus haploïdes. Deux types d'oocystes sporulés peuvent être formés à partir du zygote, chacun avec des parois différentes. Les oocystes à paroi épaisse sont immédiatement infectants et sont excrétés dans les matières fécales, tandis que les oocystes à paroi fine persistent dans l'intestin pour recommencer un cycle d'infection.

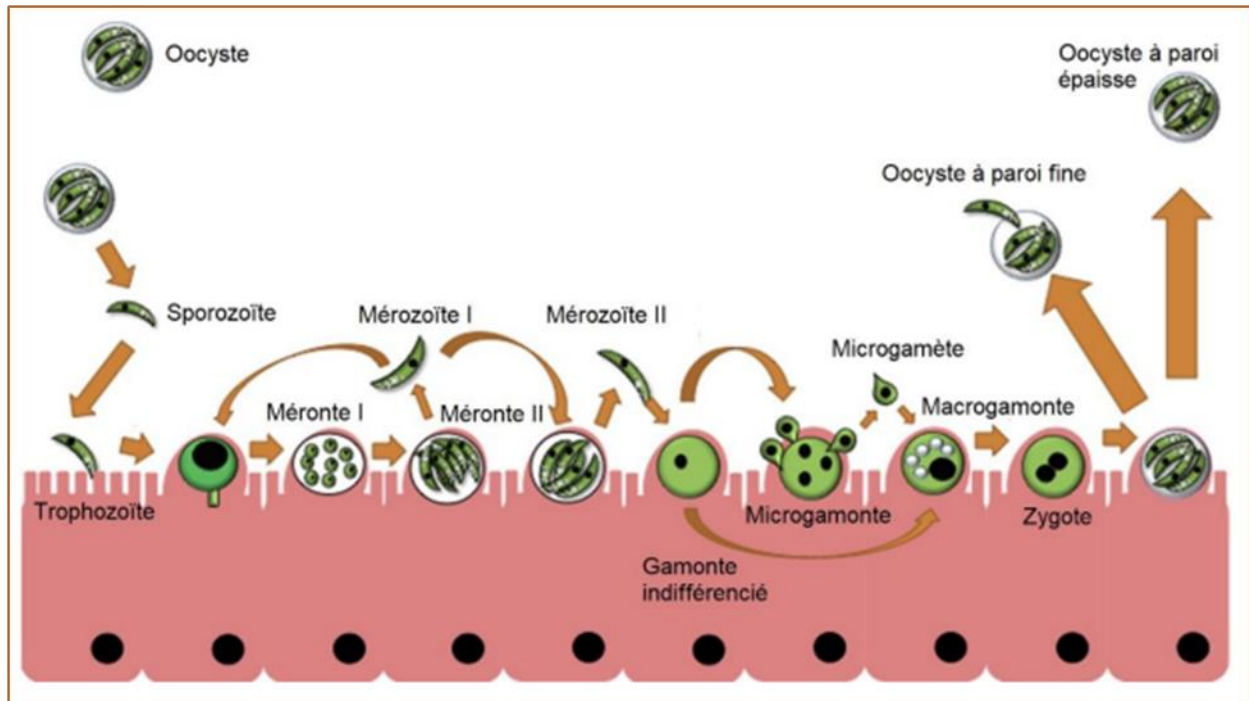


Figure 8 : Cycle de *Cryptosporidium* sp [24] [25]

5 Résistance du parasite

Les oocystes de *Cryptosporidium* sont connus pour leur résistance exceptionnelle dans divers environnements. Ils peuvent survivre pendant plusieurs mois dans des conditions allant de **0°C** à **30°C**, notamment dans l'eau, les matières fécales et même l'eau de mer [26]. Cependant, leur résistance peut être compromise par des températures élevées, telles qu'une exposition à **72°C** pendant une minute ou à **64°C** pendant cinq minutes, selon des études antérieures [27] [26]. De plus, un contact prolongé avec des agents chimiques tels que l'ammoniac à 5% ou le formol à 10% peut également détruire les oocystes [28] [26]. Cette robustesse dans des conditions variées souligne l'importance de prendre des mesures appropriées pour prévenir la contamination environnementale par les oocystes de *Cryptosporidium*.

Chapitre II : La cryptosporidiose

1 Définition

La cryptosporidiose est une maladie parasitaire causée par *Cryptosporidium*, un genre de protozoaires. Cette maladie affecte principalement le système gastro-intestinal, provoquant des symptômes tels que diarrhée, crampes abdominales, nausées, vomissements et fièvre. *Cryptosporidium* est un parasite résistant et peut être transmis par l'eau contaminée, les aliments, le contact direct avec des animaux infectés, ou par contact interhumain. La cryptosporidiose peut être plus grave chez les personnes ayant un système immunitaire affaibli, comme les personnes vivant avec le VIH/SIDA, les personnes âgées et les enfants en bas âge.

2 Prévalence et Épidémiologie de l'Infection à *Cryptosporidium*

La prévalence de cette infection varie considérablement : elle est d'environ 1 % dans les régions occidentalisées comme l'Amérique du Nord et l'Europe, mais peut atteindre 30 % dans les zones tropicales, en particulier dans les pays en développement. Le climat tropical favorise la survie des oocystes de *Cryptosporidium*. En moyenne, la prévalence de la diarrhée due à ce parasite est presque trois fois plus élevée dans les pays en développement (6,1 %) comparé aux pays développés (2,1 %).

Cryptosporidium est cosmopolite largement répandu dans le monde entier, avec plus de 95 pays signalant des cas d'infection. La prévalence mondiale est estimée à environ 7,6%, avec des taux plus élevés observés dans certains pays tels que le Mexique (69,9%), le Nigéria (34%), le Bangladesh (43%) et la Corée (8%). Dans les pays industrialisés, la prévalence est généralement plus faible, estimée entre 0,5% et 2%. Les enfants sont particulièrement touchés par cette maladie, avec des études montrant des taux élevés d'infection chez les écoliers en Zambie (30,7%), au Liban (10,4%), et même jusqu'à 77% chez les enfants vivant dans des bidonvilles au Bangladesh. En outre, dans une étude menée à Lima, au Pérou, sur 2 490 individus infectés par le VIH, 230 ont été testés positifs pour *Cryptosporidium* [29].

3 Transmission :

La cryptosporidiose est une maladie infectieuse transmise par voie féco-orale. L'ingestion de seulement quelques oocystes de *Cryptosporidium* peut provoquer une infection, avec une dose minimale infectante estimée à environ 132 oocystes pour les individus immunocompétents et moins de 10 oocystes pour les patients immunodéprimés [29]. La transmission de la maladie varie selon la virulence des souches et la susceptibilité individuelle, influencée par des facteurs comme l'âge, l'état immunitaire et les antécédents d'exposition [29].

Les oocystes sont infectieux dès leur émission et très résistants dans l'environnement, survivant plus d'un an. La cryptosporidiose se transmet directement par contact avec des individus ou des animaux infectés, et indirectement via l'eau et les aliments contaminés [30].

Pour *C. hominis*, l'homme est le seul réservoir, favorisant la transmission interhumaine, notamment dans les crèches. Pour *C. parvum* et d'autres espèces, la contamination humaine peut se produire par contact avec des animaux infectés, comme observé après des visites dans des fermes pédagogiques [30].

L'eau est le principal vecteur de transmission, incluant l'eau de surface, d'arrosage, de loisirs et potable. Des épidémies hydriques ont été signalées, telles qu'en Angleterre en 2008 où *C. cuniculus* a contaminé un réservoir d'eau potable. Outre l'eau, des sources comme le cidre brut, les produits laitiers non pasteurisés et les légumes crus ont aussi été impliquées dans des cas d'infection [31].

4 Signes cliniques

Après une infection par *Cryptosporidium sp.*, l'homme est asymptomatique pendant typiquement 1 semaine pendant laquelle le parasite se multiplie dans son tissu cible, la muqueuse épithéliale de l'intestin [30] [8] [31]. La période d'incubation entre l'infection et la présentation des symptômes peut aller de 1 jour à 1 mois, selon la souche/l'espèce du parasite et l'état du parasite et de l'état immunitaire de l'hôte [31] [32]. La

cryptosporidiose se manifeste généralement par une diarrhée, Cependant, comme mentionné ci-dessus, la gravité de la maladie et le syndrome diarrhéique exact peuvent varier en fonction de l'état immunitaire et de l'âge du patient. Selon l'état immunitaire et l'âge des personnes touchées [33]. Trois populations sensibles distinctes ont été décrites : (1) les personnes immunocompétentes des pays développés, y compris les touristes voyageant dans les pays en développement, (2) les jeunes enfants des pays en développement dont le statut immunitaire n'est pas encore totalement fonctionnel, et (3) les personnes immunodéficientes (généralement celles atteintes du SIDA) [33].

4.1 Chez les immunocompétents

Dans les pays développés, les infections chez les immunocompétents sont souvent dues à des épidémies hydriques, à des voyages ou à des contacts entre animaux et humains [34] [35]. Les enfants et les personnes âgées sont particulièrement touchés, avec une maladie se manifestant principalement par une diarrhée aqueuse durant une à deux semaines, mais pouvant parfois persister jusqu'à un mois [8]. Les oocystes sont excrétés en moyenne pendant 7 jours (de 1 à 15 jours) après la fin des symptômes, mais dans certains cas, cette excrétion peut durer jusqu'à 2 mois [30] [36]. Les symptômes associés incluent des crampes abdominales, des nausées, des vomissements et la fièvre [8]. Une récurrence des symptômes gastro-intestinaux est possible, comme observé dans l'épidémie de Milwaukee, où 30 % des patients ont signalé une récurrence [36], et dans une étude anglaise de cas sporadiques, où 40 % des patients ont rapporté des symptômes récurrents [36].

La présentation clinique de l'infection varie selon l'espèce de *Cryptosporidium*. Les infections à *C. hominis* entraînent une excrétion plus prolongée des oocystes et une charge oocystale plus élevée dans les selles par rapport aux infections à *C. parvum* [37] [38] [39]. La maladie chez les immunocompétents est généralement bénigne et souvent asymptomatique, ce qui souligne l'importance d'un système immunitaire fonctionnel pour combattre l'infection. Les rapports d'épidémies et les études montrent que les hôtes immunocompétents infectés par *C. parvum* peuvent ne présenter aucun symptôme tout en excréant des oocystes. Par conséquent, la prévalence des infections symptomatiques sous-estime souvent l'ampleur de l'infection dans la communauté.

4.2 Chez les enfants

Dans les pays en développement, la cryptosporidiose est une cause fréquente de diarrhée chez les enfants de moins de 5 ans, représentant 5 à 10 % des cas en Asie, en Afrique et en Amérique latine [33]. Les symptômes incluent une diarrhée aqueuse, des crampes abdominales, et parfois de la fièvre et de la toux [33]. Près de la moitié des enfants infectés développent une diarrhée persistante de plus de deux semaines, augmentant les risques de malnutrition chronique et de décès [40]. La gravité des symptômes varie selon les espèces de *Cryptosporidium*, avec *C. hominis* causant des syndromes plus sévères que *C. meleagridis*. L'infection est fortement associée à la malnutrition, aggravant la déshydratation, les vomissements et la perte de poids chez les enfants. Ceux infectés avant l'âge d'un an subissent souvent une perte de poids irréversible et une croissance retardée. En résumé, la cryptosporidiose contribue de manière significative à la malnutrition et aux maladies graves chez les enfants dans les pays en développement

4.3 Chez les immunodéprimés

La cryptosporidiose chez les hôtes immunodéficients se présente souvent comme une complication de l'infection par le VIH-1, généralement lorsque le patient présente un SIDA cliniquement défini avec un nombre de lymphocytes T CD4+ inférieur à 200 cellules/mm³. La variabilité de la maladie observée dans la présentation de la cryptosporidiose chez divers patients immunodéprimés est remarquable et actuellement inexplicable. Curieusement, une grande partie des personnes co-infectées par le VIH et le *Cryptosporidium*, même avec des lymphocytes T CD4+ inférieurs à 200 cellules/mm³, présentent des symptômes légers ou nuls, tandis que d'autres souffrent de diarrhée aqueuse chronique, d'une perte de poids importante et d'une malabsorption sévère [33]. Cette variabilité peut être due à des co-infections avec d'autres agents pathogènes qui exacerbent ou préviennent les symptômes de la cryptosporidiose. Avec l'émergence d'une thérapie antirétrovirale combinée (cART) efficace, la prévalence de la cryptosporidiose dans la population infectée par le VIH-1 dans les régions où l'utilisation de la cART est répandue a considérablement diminué. Le traitement antirétroviral combiné aide à maintenir des niveaux adéquats de cellules T CD4+ nécessaires pour contrôler l'infection.

5 Facteurs de risque

La sensibilité à la cryptosporidiose est influencée par divers facteurs, tels que les conditions environnementales, le statut immunitaire de l'hôte, l'âge, la localisation géographique et le contact avec des humains ou des animaux infectés.

La cryptosporidiose est une cause fréquente de maladies d'origine hydrique et est souvent associée à la consommation d'eau contaminée ou à l'utilisation de piscines. Elle a été responsable de certaines des plus grandes épidémies d'origine hydrique jamais enregistrées.

5.1 Maladies immunodéficientes et cryptosporidiose

Les patients immunodéficients, particulièrement ceux atteints du SIDA, sont vulnérables à une cryptosporidiose sévère. Des cas de cryptosporidiose associés à d'autres déficits immunitaires, comme le syndrome d'immunodéficience combinée sévère et le syndrome hyper-IgM lié à l'X, ont été rapportés [41]. Ces patients peuvent présenter une infection généralisée avec une propagation extra-intestinale, entraînant souvent une issue fatale. Des déficiences en immunoglobuline A et en production d'interféron- γ (IFN- γ) ont également été observées dans certains cas [41]. Les modèles murins suggèrent que le système CD40/ligand CD40 est crucial pour la réponse immunitaire contre *Cryptosporidium* [41].

5.2 Cancer

Les études sur l'association entre le cancer et la cryptosporidiose montrent des résultats variables. En Turquie, 17 % des 106 patients atteints de cancer et de diarrhée étaient positifs pour *Cryptosporidium* [41], tandis qu'en Inde, seulement 1,3 % des cas avaient des oocystes de ce parasite. D'autres études en Nouvelle-Galles du Sud et en Malaisie montrent des taux de 0 % et 2 %, respectivement [41].

5.3 Leucémie/Lymphome

La relation entre cryptosporidiose et leucémie/lymphome n'est pas clairement établie. Certains enfants atteints de leucémie lymphoblastique aiguë se sont rétablis de la cryptosporidiose, tandis que d'autres ont rechuté ou sont décédés malgré la chimiothérapie [41].

5.4 Transplantation de moelle osseuse et d'organes solides

Les patients ayant subi une greffe de moelle osseuse ou d'organes solides peuvent développer une cryptosporidiose sévère. Des cas de cryptosporidiose pulmonaire, parfois fatale, ont été rapportés. La cryptosporidiose a également été observée chez des enfants ayant subi des greffes de foie et de rein, ainsi que chez des patients ayant reçu une greffe d'intestin grêle [41].

5.5 Diabète

Une possible association entre cryptosporidiose et diabète a été observée, mais elle n'est pas clairement établie. Quelques patients diabétiques ont développé une cryptosporidiose, mais la majorité des diabétiques ne présentent pas cette infection et les grandes études ne montrent pas le diabète comme un facteur de risque majeur [41].

6 Pathogenèse

La pathologie de l'infection par *Cryptosporidium* dépend du statut immunitaire de l'individu. Chez les immunocompétents, le parasite se limite généralement à l'intestin grêle distal et au côlon proximal, tandis qu'il peut se propager aux voies respiratoires chez les immunodéprimés. Une forte dose d'oocystes peut provoquer une infection disséminée et une réponse immunitaire déséquilibrée. Une réponse immunitaire équilibrée est essentielle, avec l'IFN- γ jouant un rôle crucial mais potentiellement dommageable en cas de dysrégulation [33]. Les cytokines anti-inflammatoires comme le TGF- β peuvent prévenir la rupture de la barrière épithéliale. La diarrhée, symptôme principal, résulte de la malabsorption du sodium, de la sécrétion de chlorure et de l'augmentation de la perméabilité intestinale, influencées par NF- κ B [42]. Les prostaglandines, bien qu'impliquées chez les porcs et les bovins, ne jouent pas un rôle significatif chez l'humain. La substance P, associée à la sévérité de la maladie, peut être ciblée thérapeutiquement. Enfin, l'infection cause la mort des cellules intestinales par apoptose et nécrose, réduisant la surface intestinale et augmentant la perméabilité et la malabsorption [33].

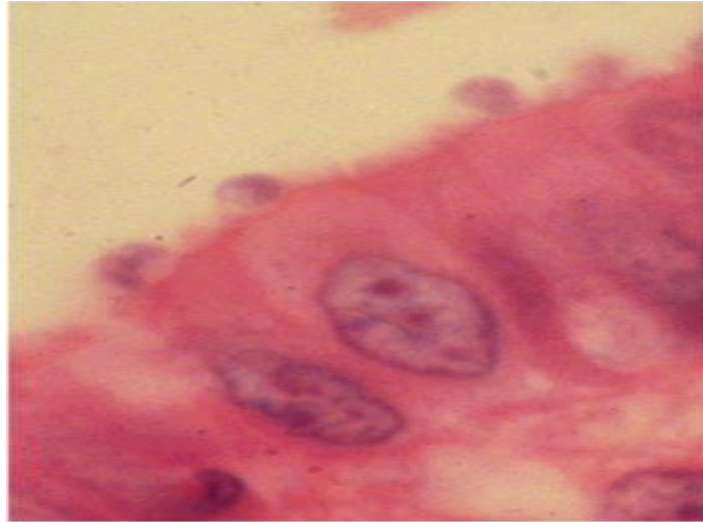


Figure 9 : Biopsie intestinale montrant la présence de *Cryptosporidium parvum* à la surface des cellules épithéliales intestinales. Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine, objectif 100X [43]

6.1 Malabsorption

La cryptosporidiose entraîne généralement une aggravation lorsqu'elle atteint l'intestin grêle proximal, provoquant des perturbations anatomiques importantes telles qu'une atrophie et une hyperplasie des cryptes et des villosités intestinales. Ces altérations réduisent la surface d'absorption et diminuent l'activité enzymatique, notamment des disaccharidases et aminopeptidases. Les microvillosités sont endommagées, en particulier aux points d'attachement des *Cryptosporidium*, affectant l'absorption des nutriments. De plus, les organites intracellulaires subissent des modifications structurelles, telles que le gonflement des mitochondries, altérant la fonction microvillositaire, et entraînant une mauvaise absorption de la vitamine B12 et des graisses chez les patients atteints de SIDA [44].

7 Diagnostic

Le diagnostic de la cryptosporidiose peut être réalisé en utilisant plusieurs méthodes, notamment :

7.1 Diagnostic microscopique

7.1.1 Technique de concentration :

Technique de Ritchie : La technique de Ritchie, également connue sous le nom de méthode formol-éther, est une méthode couramment utilisée pour la concentration des parasites dans les échantillons de selles, particulièrement efficace pour la détection de protozoaires et d'helminthes tels que *Cryptosporidium*. Le processus commence par la fixation des échantillons dans une solution de formol à 10 % pour tuer et préserver les parasites. Ensuite, les échantillons sont émulsifiés dans une solution saline et tamisés pour enlever les gros débris. Cette émulsion est centrifugée pour concentrer les parasites dans le culot. Une quantité égale d'éther est ajoutée pour extraire les lipides et autres composants solubles dans les graisses, facilitant ainsi une meilleure séparation des parasites. Après une deuxième centrifugation, les parasites se retrouvent dans le culot et peuvent être examinés au microscope après coloration, souvent avec de l'acide lactique ou du lugol, pour faciliter leur identification. [45] [46]



Figure 10 : Oocystes de *Cryptosporidium sp.* (Flèches roses) en support humide. Une levure bourgeonnante (flèche brune) se trouve dans le même champ [47]

7.2 Méthodes de coloration

7.2.1 Colorations Historiques :

Initialement, la coloration de Giemsa et d'autres techniques comme celles à l'iode, au trichrome, et à l'hématoxyline ferrique étaient utilisées, mais avec des résultats limités.

7.2.2 Coloration Modifiée de Ziehl-Neelsen (mZN) :

Introduite en 1981, la coloration de Ziehl-Neelsen repose sur l'utilisation d'une solution de carbol-fuchsine, qui colore les oocystes de *Cryptosporidium* en rouge vif. Cette coloration est ensuite suivie d'une décoloration à l'acide-alcool pour éliminer le colorant des structures non désirées. Enfin, une contre-coloration avec une solution de bleu de méthylène ou de vert malachite est effectuée pour contraster les oocystes et faciliter leur visualisation sous le microscope. Les oocystes, avec leur paroi épaisse et riche en lipides, retiennent la carbol-fuchsine même après la décoloration, les faisant apparaître en rouge vif sur un fond bleu ou vert. Bien que cette méthode soit prédominante, elle présente des défis, comme le risque de confondre les oocystes avec des levures ou des spores [46] [48].

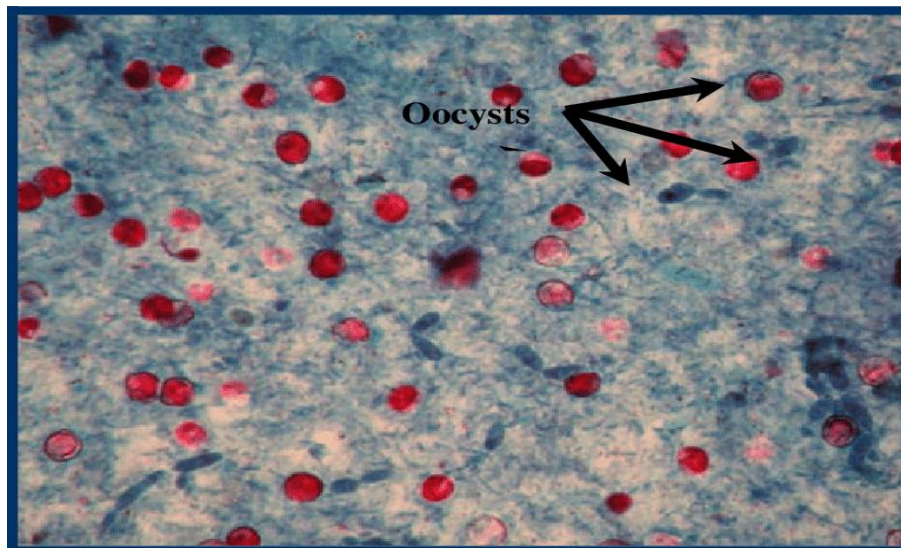


Figure 11 : Oocyste de *Cryptosporidium* par coloration de Ziehl-Neelsen à froid modifiée au grossissement 100X [49].

7.2.3 La coloration de Kinyoun

La coloration spécifique utilisée pour différencier les oocystes de *Cryptosporidium* des levures dans les selles est cruciale pour améliorer la sensibilité du dépistage. Elle est effectuée sur le culot de concentration.

Le processus comprend l'étalage de l'échantillon sur une lame, la fixation au méthanol absolu, la coloration à la fuchsine phéniquée de Kinyoun, le lavage à l'alcool éthylique à 50 %, la décoloration à l'acide sulfurique, le contre-coloration au bleu de méthylène de Loeffler, et enfin, examiné au microscope pour détecter les oocystes de *Cryptosporidium* [50] [46].

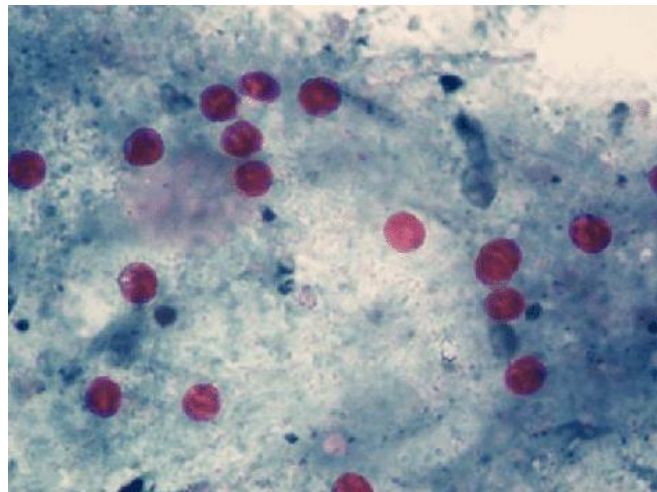


Figure 12 : Coloration de Kinyoun modifiée [51]

7.2.4 Coloration Auramine phénol

La coloration à l'auramine-phénol est une méthode de coloration spécifique utilisée dans le diagnostic de *Cryptosporidium*, un parasite intestinal. Le principe de cette technique repose sur l'application d'une solution contenant un colorant d'auramine et du phénol sur l'échantillon biologique, suivi d'une incubation. Les oocystes de *Cryptosporidium* présents dans l'échantillon vont se lier au colorant et émettre une fluorescence caractéristique lorsqu'ils sont exposés à une lumière ultraviolette sous un microscope à fluorescence. Cette fluorescence permet une détection visuelle des oocystes de *Cryptosporidium* dans l'échantillon [52].

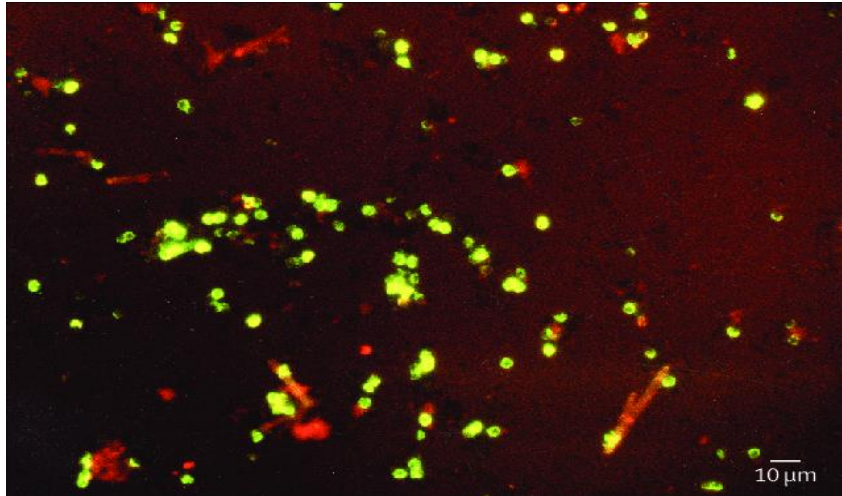


Figure 13 : Oocystes de *Cryptosporidium sp* colorés à l'auramine-phénol, présentant un motif de coloration caractéristique des érythrocytes Coupe d'un champ de grossissement x 400 [53]

Tableau 3 : Sensibilités et spécificités des méthodes microscopiques, et des tests diagnostiques immunologiques et basés sur l'ADN actuellement disponibles pour *Cryptosporidium sp* [54]

Nom du test	Sensibilité	Spécificité
Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée	37–79,1%	100%
Coloration fluorescente - auramine phénol	92,1–100%	99.6–100%
Coloration acido-résistante de Kinyoun	66,7–91,6%	88,2–100%

7.3 Immunofluorescence

La technique d'immunofluorescence (IF) est une méthode de diagnostic utilisée pour détecter les antigènes spécifiques de *Cryptosporidium* dans les échantillons cliniques [54]. Cette méthode repose sur l'utilisation d'anticorps fluorescents qui se lie spécifiquement aux antigènes de *Cryptosporidium* présents dans l'échantillon, ce qui permet de les visualiser sous un microscope fluorescent [54]. Les échantillons cliniques, tels que les selles ou les tissus, sont collectés et préparés pour l'analyse, puis incubés avec des anticorps spécifiques dirigés contre les antigènes de *Cryptosporidium*. Après

l'incubation, les échantillons sont lavés pour éliminer l'excès d'anticorps non lié [46]. Ensuite, ils sont examinés sous un microscope à fluorescence, où les antigènes de *Cryptosporidium* apparaissent comme des taches fluorescentes caractéristiques. Cette méthode offre une sensibilité élevée, une spécificité et une rapidité, ce qui en fait une technique précieuse dans le diagnostic de *Cryptosporidium* [46].

L'immunofluorescence surpasse les techniques conventionnelles en termes de sensibilité et de spécificité. Cette méthode réduit le temps d'analyse et ne nécessite pas la concentration des selles pour des échantillons à faible quantité d'oocystes [46].

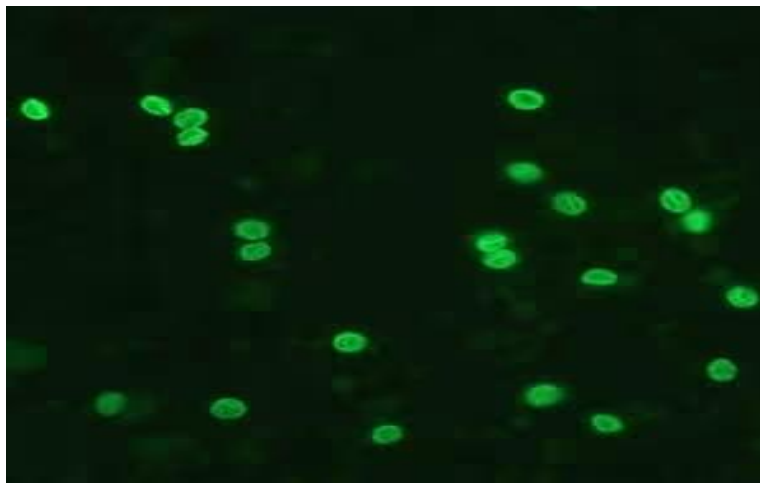


Figure 14 : Des oocystes de *Cryptosporidium* révélés par des anticorps immunofluorescents [47]

7.4 Méthodes de Diagnostic par EIA, ELISA et Immunochromatographie

Les techniques de diagnostic des antigènes fécaux, telles que les enzyme immunoassays (EIA) et les enzyme linked immuno-sorbent assays (ELISA), ont été développées pour éviter la nécessité de microscopistes qualifiés et d'équipements spécialisés [55]. Ces méthodes colorimétriques permettent une détection sans formation approfondie en microscopie. Les études ont montré que les kits EIA et ELISA offrent une sensibilité et une spécificité supérieures (94-100%) par rapport aux méthodes de coloration résistantes aux acides [56].

Cependant, ces techniques sont moins efficaces que la détection immunofluorescente pour identifier de faibles densités d'oocystes et peuvent générer des résultats faussement positifs. Les kits immunochromatographiques, qui permettent une détection rapide sans étapes de réactifs supplémentaires, varient en termes de sensibilité (47-100%) et de spécificité (98-100%) [57].

Bien que pratiques, ces kits peuvent aussi produire des faux positifs et sont souvent limités à la détection de *C. parvum* et *C. hominis*, ce qui réduit leur utilité clinique dans les régions où d'autres espèces de *Cryptosporidium* sont présentes. Ainsi, malgré leurs avantages logistiques et économiques, les immunoassays ne remplacent pas adéquatement les méthodes conventionnelles dans les laboratoires modernes, mais peuvent servir de complément dans des contextes spécifiques ou pour des études épidémiologiques.

7.5 Approches Moléculaires

La PCR a révolutionné le diagnostic moléculaire, notamment pour la détection de *Cryptosporidium*, surpassant les méthodes traditionnelles en termes de sensibilité et de précision. La PCR permet l'identification des espèces et sous-espèces, facilitant ainsi les études épidémiologiques. Le développement de bases de données génomiques comme CryptoDB a été crucial pour la recherche et le diagnostic [58].

Les premières techniques de caractérisation reposaient sur la PCR et la RFLP, mais étaient limitées dans la différenciation intra-espèces. Le séquençage des génomes de *C. parvum* et *C. hominis* a permis de développer des tests basés sur des loci microsatellites et minisatellites, améliorant la précision du génotypage [59].

La qPCR, plus rapide et moins sujette à la contamination que la PCR conventionnelle, est devenue une méthode privilégiée, notamment avec l'introduction de tests multiplex qui permettent de détecter plusieurs parasites simultanément. Ces tests réduisent les coûts et augmentent l'efficacité [60].

Malgré leurs avantages, les techniques PCR et qPCR ne sont pas encore largement adoptées en routine clinique en raison des coûts et de la nécessité de former le

personnel. Cependant, l'évolution vers des méthodes moléculaires semble inévitable pour améliorer le diagnostic de *Cryptosporidium*.

7.6 Tendances futures dans les plateformes moléculaires

La PCR numérique (dPCR), une méthode de troisième génération éliminant le besoin de courbes d'étalonnage pour quantifier les cibles d'acides nucléiques, gagne en popularité pour détecter les agents pathogènes. Basée sur l'amplification d'un seul modèle d'ADN, cette méthode produit des signaux linéaires et numériques, permettant une analyse quantitative précise et sensible, détectant des mutations rares. Actuellement, son application pour détecter et quantifier *Cryptosporidium* dans les échantillons fécaux humains est limitée, mais elle pourrait devenir courante dans les diagnostics cliniques futurs [61].

Le séquençage de nouvelle génération (NGS) est également en plein essor, révélant une diversité génétique au sein des isolats de *Cryptosporidium* impossible à discerner avec les méthodes actuelles. Les études NGS ont avancé la compréhension de la distribution taxonomique et des dynamiques de transmission des espèces de *Cryptosporidium* et joueront probablement un rôle clé dans l'identification des épidémies et la surveillance des nouveaux sous-types [62].

Malgré les défis liés à l'extraction d'ADN pur et les coûts élevés, le NGS devrait avoir un impact significatif sur les diagnostics cliniques en développant des schémas de typage de séquence multilocus (MLST). De plus, il sera essentiel dans les analyses épidémiologiques et le développement de vaccins et de médicaments [63].

Enfin, la bioinformatique et la protéomique se développent rapidement. Des modèles informatiques prédictifs, appelés GEMs, utilisent des paramètres génomiques et environnementaux pour prévoir les résultats phénotypiques [64]. Déjà appliqués à des micro-organismes bien étudiés comme *E. coli*, des modèles pour *Cryptosporidium* sont en cours de développement, offrant la possibilité de prédire les effets phénotypiques des variations génétiques [65].

8 Prévention

8.1 Prévention individuelle de la cryptosporidiose :

- Lavage fréquent des mains et des aliments après des contacts avec des animaux ou des environnements contaminés.
- Application rigoureuse des règles d'hygiène de base dans les milieux collectifs et vigilance lors du changement de couches et du traitement du linge souillé
- Formation du personnel à la prévention des contaminations utilisation de gants
- Sensibilisation au risque de diarrhées lors de voyages
- Adhésion stricte aux mesures d'hygiène pour les patients immunodéprimés
- Consommation d'eau filtrée ou embouteillée
- Précautions spécifiques pour la consommation de coquillages crus
- Information sur les risques de contamination oro-fécale liés à certaines pratiques sexuelles [66]

8.2 Prévention collective :

- Prévention collective de la cryptosporidiose :
- Traitement avancé des eaux usées pour éliminer les parasites
- Filtration et désinfection optimales des eaux de boisson
- Surveillance continue des sources d'eau potable pour la détection de *Cryptosporidium*
- Recherche systématique de *Cryptosporidium* dans l'eau potable, même en l'absence de contamination fécale avérée
- Contrôle strict des effluents agricoles pour prévenir la contamination des eaux de surface
- Maintenance régulière et inspection des infrastructures de traitement des eaux
- Réglementation stricte pour les niveaux acceptables de contamination par *Cryptosporidium*
- Éducation des exploitants de piscines et des gestionnaires de parcs aquatiques sur les risques de contamination et les mesures de prévention
- Installation de systèmes de filtration efficaces dans les piscines et les parcs aquatiques

- Surveillance régulière de la qualité de l'eau dans les piscines et les parcs aquatiques
- Campagnes de sensibilisation pour informer le public sur les bonnes pratiques d'hygiène en milieu aquatique
- Collaboration internationale pour échanger les bonnes pratiques et les données sur la prévention de la cryptosporidiose
- Mise en place de protocoles de réponse rapide en cas d'épidémie de cryptosporidiose
- Formation continue des professionnels de la santé et des responsables de la gestion de l'eau sur les dernières avancées en matière de prévention de la cryptosporidiose [66]

9 Traitement

La restauration du système immunitaire est cruciale dans le traitement de la cryptosporidiose, surtout chez les patients immunodéprimés comme ceux atteints du SIDA. Les thérapies antirétrovirales ont montré des améliorations significatives dans les cas de diarrhée liée à la cryptosporidiose. Les agents antidiarrhéiques, tels que les opiacés et l'octréotide, sont utilisés pour réguler la motilité intestinale et atténuer la malabsorption. Cependant, aucun agent antiparasitaire n'a encore démontré une efficacité clinique constante dans le traitement de la cryptosporidiose chez les patients immunodéprimés. Des essais cliniques ont évalué plusieurs médicaments, y compris la nitazoxanide, la paromomycine et la spiramycine, mais aucun n'a montré de résultats concluants en l'absence de thérapie antirétrovirale. La recherche de nouvelles combinaisons thérapeutiques reste nécessaire pour améliorer la prise en charge de cette maladie grave [33] [43].

9.1 Nitazoxanide

À ce jour, le nitazoxanide est le seul traitement approuvé pour la cryptosporidiose. Il est efficace pour réduire la gravité et la durée de la maladie chez les personnes immunocompétentes infectées par le parasite. Cependant, son efficacité chez les patients immunodéprimés, en particulier ceux atteints du SIDA, n'est pas claire. Le nitazoxanide est généralement bien toléré, avec des effets indésirables limités et légers,

et il n'a pas d'interactions médicamenteuses importantes. Son innocuité pendant la grossesse chez l'homme n'est pas bien connue [33] [43].

- Dose adulte

500 mg deux fois par jour pendant 3 jours.

- Posologie pédiatrique.

1-3 ans: 100 mg deux fois par jour pendant 3 jours.

4-11 ans: 200 mg deux fois par jour pendant 3 jours. [67]

9.2 La paromomycine

La paromomycine est un médicament utilisé pour traiter la giardiase, l'amibiase intestinale et la cryptosporidiose. Bien qu'elle ait montré une efficacité dans ces conditions, des rechutes sont fréquentes, limitant son succès à long terme à 33 %. Chez les patients atteints du SIDA et de cryptosporidiose, l'association de la paromomycine avec la cART semble améliorer la réponse au traitement. Elle peut être utilisée en remplacement du nitazoxanide, mais uniquement en association avec la cART [43].

- La posologie recommandée pour les adultes est de 25 à 35 mg/kg/jour en 2 à 4 doses divisées [67].

9.3 Les macrolides

Les macrolidestels que la spiramycine, l'azithromycine, la roxithromycine et la clarithromycine, ont une activité variable contre la cryptosporidiose. La spiramycine a montré une efficacité initiale mais n'a pas été efficace dans un second essai. L'azithromycine a montré une certaine efficacité in vitro, mais les essais contrôlés par placebo n'ont pas montré de résultats significatifs. La clarithromycine a également montré une activité dans des études animales et chez des enfants en Égypte. Chez les patients immunodéprimés, les macrolides pourraient être utilisés en remplacement du nitazoxanide, mais en combinaison avec la cART [43].

- La spiramycine, administrée à des enfants une dose de 100 mg/kg/jour.
- Les essais contrôlés par placebo de l'azithromycine (900 mg/jour) [67].

Chapitre III : Matériel et méthodes

1 Objectifs

Notre travail comporte deux volets :

- Une étude prospective, pour la recherche de cryptosporidies sur des selles de patients, menée au niveau du laboratoire de parasitologie et mycologie du CHU de Tizi -Ouzou.
- Une étude rétrospective à propos des cas de Cryptosporidiose enregistrés au niveau du même laboratoire, sur une période de 10 ans (2014 – 2023).

L'objectif est de déterminer l'importance de cette zoonose parasitaire dans la région d'étude.

2 Présentation des lieux de prélèvement

2.1 Lieu d'étude

L'étude a été réalisée au sein du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicales du CHU Nedir Mohammed de Tizi-ouzou

3 Population de l'étude

L'ensemble de l'étude prospective comporte 60 prélèvements de selles.

La population source de notre étude est représentée par tous les consultants présentant des signes évoquant la cryptosporidiose comme critère d'inclusion.

4 Matériel non biologique

4.1 Appareillage

- Balance
- Centrifugeuse
- Microscope optique

4.2 Les réactifs

- Méthanol pur
- Fuchsine basique
- Phénol
- Vert malachite
- Bleu méthylène

- Acide sulfurique
- Éthanol absolu
- Na Cl
- Eau distillée
- Formol 10%
- Éther

4.3 Autre matériel

- Verres à pied.
- Agitateurs en verre.
- Lame porte-objet.
- Lamelle couvre-objet.
- Tube conique à centrifuger de 15 ml.
- Bouchons en caoutchouc pour les tubes à centrifuger.
- Portoir.
- Éprouvettes à 500ml.
- Des emboues.
- Une micro pipette Pasteur.
- Une pince.
- Boîtes de Pétrie.
- Bêcher.
- L'huile à immersion.
- Récipients propres.

5 Méthodes utilisées

5.1 Recueil des selles

Les selles sont recueillies dans des récipients propres, secs et fabriqués en matériaux non absorbantes. La totalité de l'émission fécale est acheminée au laboratoire de parasitologie. Les selles doivent parvenir au laboratoire deux à trois heures au maximum après la défécation. En cas de conservation il faut ajouter du formol à 10%.

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignement (sexe, âge, adresse, symptômes, traitement, différents facteurs de risque...)

Pour chaque prélèvement, nous avons effectué :

- Un examen macroscopique direct à l'état frais.
- Une concentration par la méthode de Ritchie simplifiée.
- Une coloration de Zeihl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz sur frottis de selles.
- Une coloration Kinyoun.

5.2 Examen macroscopique

Consiste à visualiser la selle à l'œil nu pour observer la texture, la couleur et la présence éventuelle de parasites.

5.3 Examen microscopique

5.3.1 Examen directe

Cet examen à l'état frais à l'objectif 40, nous permet d'observer les éléments parasitaires présents.

❖ Préparation de l'eau physiologique

- ◆ Prendre 9 gr de NaCl.
- ◆ Mélanger avec 1000 ml de l'eau distillé.



Figure 15 : Préparation de l'eau physiologique (Photo personnelle, 2024)

❖ **Examen directe :**

- ◆ Prendre une noisette de selle (50%).
- ◆ Ajouter 50% de l'eau physiologique.
- ◆ Observer entre lame et lamelle.



Figure 16 : Étapes d'examen direct (Photos personnelles, 2024)

5.3.2 Technique de concentration : Technique de Ritchie

- ◆ Prendre une noisette de selle.
- ◆ Dilution dans 10 fois le volume de formol à 10%
- ◆ Dans un tube conique, on verse 2/3 du mélange
- ◆ On ajoute 1/3 d'éther
- ◆ On ferme le tube hermétiquement
- ◆ Agiter fortement le tube pour obtenir une solution homogène
- ◆ Centrifuger à 1500 t/mn pendant 3 mn
- ◆ Rejeter le surnageant en un seul jet
- ◆ Confectionner un frottis à partir du culot
- ◆ Le frottis sera coloré selon la technique de ZIEHL-NEELEN

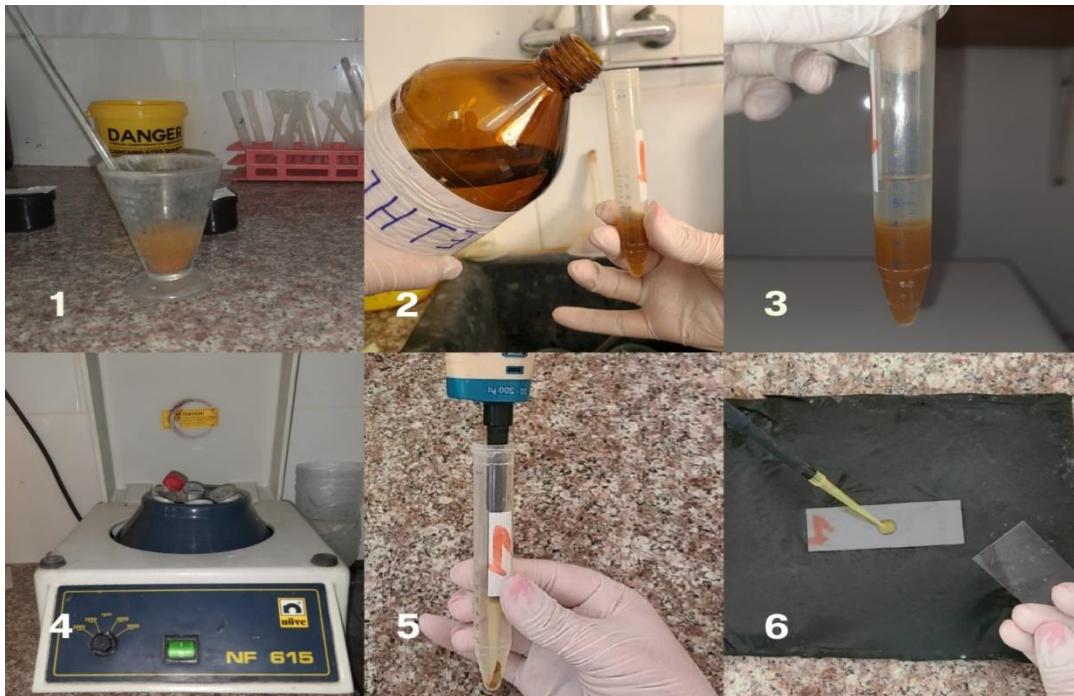


Figure 17 : Étapes de la technique de Ritchie (Photos personnelles, 2024)

5.3.3 Réalisation d'un frottis

- ◆ À l'aide d'une micropipette on prend une goutte du culot.
- ◆ On met cette goutte sur une lame porte objet
- ◆ À l'aide d'un embout on étale bien la goutte.

- ◆ Laisser sécher à l'air libre.
- ◆ Fixer avec le méthanol pendant 5 min.
- ◆ Puis la colorer avec une coloration ZIEHL NEELSEN modifiée et KINYOUN

5.3.4 Les Colorations

5.3.4.1 Coloration de Zeihl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz

C'est une technique spécifique pour la coloration des oocystes de *Cryptosporidium sp.*

❖ Confection du frottis :

- ◆ On dépose sur une lame bien à l'aide de pipette pasteur, une goutte du culot de centrifugation
- ◆ Laisser le frottis sécher à l'air libre.
- ◆ Fixer le frottis par le méthanol pendant 5 minutes.
- ◆ Sécher de nouveau.
- ◆ Colorer la lame dans un bain de fuchsine phéniquée pendant 1 heure.
- ◆ Rinçage sous l'eau du robinet.
- ◆ Différencier avec l'acide sulfurique à 2 % pendant 20 secondes.
- ◆ Rincer sous l'eau du robinet.
- ◆ Contre coloration dans une solution de vert de malachite à 5% pendant 5 minutes.
- ◆ Rincer à l'eau de robinet.
- ◆ Sécher à l'air libre.
- ◆ Observation microscopique : La lecture du frottis coloré se fait au microscope optique au grossissement $\times 40$ puis $\times 100$ (avec l'huile d'immersion).



Figure 18 : Étapes de réalisation de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (Photos personnelles, 2024)

.5.3.4.2 Coloration de Kinyoun

Cette technique de coloration permet d'avoir un résultat plus rapide par rapport à la coloration spécifique Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz.

- ◆ Tremper la lame dans la fuchsine de Kinyoun pendant 5 min.
- ◆ Rincer à l'alcool éthylique 50%.
- ◆ Rinçage à l'eau de robinet.
- ◆ Décoloration à l'acide sulfurique 2%.
- ◆ Rinçage à l'eau.
- ◆ Contre coloration dans une solution de bleu de Méthylène.
- ◆ Rinçage à l'eau.
- ◆ Sécher à l'air libre.
- ◆ Observation microscopique : La lecture du frottis coloré se fait au microscope optique au (grossissement $\times 40$) puis ($G \times 100$) (avec l'huile d'immersion).

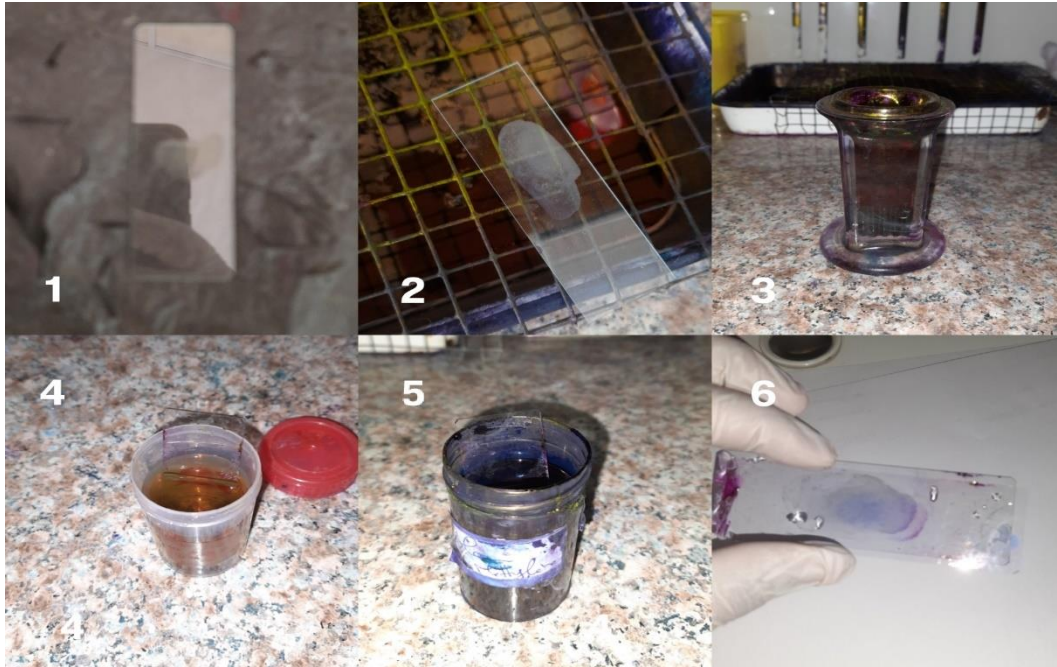


Figure 19 : Étapes de réalisation de coloration de Kinyoun (Photos personnelles, 2024)

Préparation des réactifs des deux préparations

Préparation de la Fuchsine basique de KINYOUN

- ◆ 33,3 g de la fuchsine basique
- ◆ 66,6 g de phénol
- ◆ 166 ml d'éthanol
- ◆ 1000ml de l'eau distillé
- ◆ Bleu de méthylène de Löffler
- ◆ Dissoudre 0,3 g à 0,5 g de chlorure de bleu de méthylène dans 100 ML d'eau distillé.

Préparation de la fuchsine phéniquée

Solution A :

- ◆ 15g de fuchsine basique.
- ◆ 1000 ml d'éthanol à 95 %.

Solution B :

- ◆ 10ml de la solution A.

- ◆ 90ml l'eau phéniquée à 5%.
- ◆ Solution de vert de malachite à 5% :
- ◆ 5 g vert de malachite oxalate.
- ◆ 100ml d'eau distillée.
- ◆ Acide sulfurique à 2% :
- ◆ Dilution de l'acide sulfurique 95%

5.3.5 Lecture

Le diagnostic est dit positif, quand les oocystes de *Cryptosporidium sp* apparaissent en rouge-vif sur un fond vert (vert malachite), ils se présentent sous forme d'éléments arrondis de 5 à 8 μm de diamètre et renfermant de grosses granulations noirâtre [68]. Il est dit négatif quand aucun oocyste n'est visualisé après observation de 100 champs microscopiques [69] .

5.4 Analyse statistique

Le traitement et l'analyse statistique des données ont été réalisés avec le Logiciel R, version i386 4.1.3. La différence est considérée comme statistiquement significative pour des valeurs de $p < 0.05$.

Chapitre IV : Résultats et discussion

1 Résultats

1.1 Etude prospective

Sur **60** échantillons examinés pour la recherche de la cryptosporidiose, les résultats sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Nombre de cas étudié selon différents services

Services	Positif	Négatif	Total
Externe	0	26	26
Néphrologie	1	4	5
Infectieux	0	11	11
Pédiatrie	1	10	11
Autres	0	7	7
TOTAL	2	58	60

Parmi les services répertoriés, deux cas positifs ont été enregistrés dans deux services distincts : un cas au niveau du service de Néphrologie et le deuxième cas au niveau du service Pédiatrie, avec un total respectif de 5 et 11 tests effectués. Les autres services, tels que l'Externe, l'Infectieux et les services regroupés sous la catégorie "**Autres**" (hématologie, gastro-entérologie, dermatologie) n'ont pas rapporté de cas positifs.

Présentation des cas observés :

Patient 1 :

Age : 10 Ans

Sexe : Masculin

Région : Bouira

Clinique :

Cancéreux

Symptômes :

- Diarrhées aqueuses
- Douleurs abdominales.
- Fièvre
- Amaigrissement

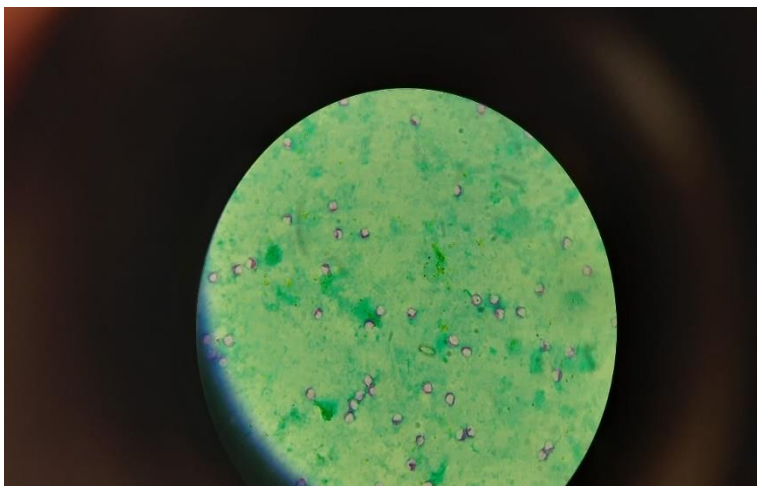


Figure 20 : Les oocystes de *Cryptosporidium* sous microscope optique après la coloration de Zeihl-Neelsen modifiée au grossissement x100 (Photo personnelle, 2024)

Patient 2 :

Age : 57 Ans

Sexe : Masculin

Région : Béjaïa

Clinique :

- Insuffisance rénale
- Pancréatite

Symptômes :

- Diarrhées aqueuses
- Douleurs abdominales.
- Fièvre
- Amaigrissement
- Nausées

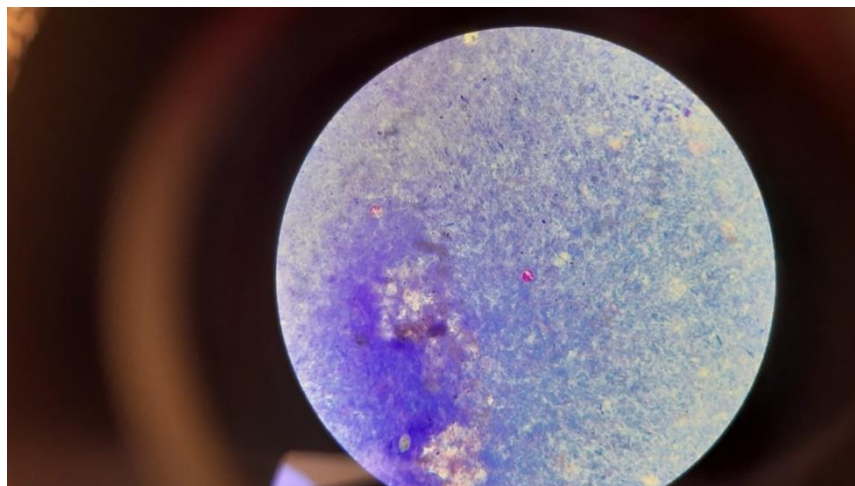


Figure 21 : Les oocystes de *Cryptosporidium* sous microscope optique après la coloration de Kinyoun au grossissement x100 (Photo personnelle, 2024)

1.2 Etude rétrospective

278 patients ont été diagnostiqués au niveau du laboratoire de parasitologie et mycologie du CHU de Tizi-Ouzou sur une période de 10 années (2014 – 2023). 24 patients se sont révélés positifs.

1.2.1 Répartition des patients selon différents services

La répartition de l'ensemble des patients infectés par la cryptosporidiose selon les différents services est représentée dans le tableau ci dessous :

Tableau 5 : Répartition des patients étudiés selon les services

Service	Positif	Négatif	Total	Taux positif
Externe	2	61	63	3,2%
Infectieux	10	70	80	12,5%
Mi	6	52	58	10,3%
Pédiatrie	4	38	42	9,5%
Autre	2	33	35	5,7%
Total	24	254	278	8,6%

Les résultats montrent une répartition variée des cas positifs selon les services médicaux. Le service infectieux affiche le nombre le plus élevé de cas positifs avec un total de 10 patients. En médecine interne, 6 cas positifs ont été enregistrés, suivi par le service pédiatrie avec 4 cas positifs. 2 cas positifs ont été rapportés dans le service externe et 2 cas ont été signalés dans d'autres services (gastro-entérologie + hématologie + Réanimation+ néphrologie).

1.2.2 Répartition des patients selon le sexe

La répartition des cas de cryptosporidiose selon le sexe est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Les taux de cryptosporidiose selon le sexe

Sexe	Positif	Négatif	Total	Taux de +
Homme	18	163	181	9,9%
Femme	6	91	97	6.2%
Total	24	254	278	8,6%

Sur un total de **278** prélèvements analysés pour la recherche des cryptosporidies, **9.9%** étaient positifs chez le sexe masculin et **6.2%** chez le sexe féminin, toutefois, cette différence n'est pas statistiquement significative ($p > 0.05$).

1.2.3 Distribution des cas de Cryptosporidiose selon la tranche d'âge

Selon la tranche d'âge, les résultats de la cryptosporidiose sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Répartition des cas positifs selon les tranches d'âge

Classe d'âge	Positif	Négatif	Total	Taux
Classe 0-10	4	36	40	11.11%
Classe 10-20	0	10	10	0%
Classe 20-30	1	16	17	5.88%
Classe 30-40	1	28	29	3.44%
Classe 40-50	14	138	152	9,21%
>50	4	26	30	13.33%
TOTAL	24	254	278	9,00%

Les tranches d'âge 0-10 ans et >50 ans montrent des taux de positivité les plus élevés (11,11% et 13,33% respectivement). La tranche d'âge 10-20 ans affiche un taux de positivité nul, tandis que les tranches 20-30 ans et 30-40 ans montrent des taux relativement bas (5,88% et 3,44% respectivement). La classe d'âge 40-50 ans présente un taux de positivité intermédiaire de 9,21%, indiquant une proportion modérée de cas positifs.

1.2.4 Fréquence des cas positifs observés dans le laboratoire mycologie-parasitologie depuis 2014

24 cas de cryptosporidiose ont été enregistrés dans le laboratoire de Mycologie-Parasitologie depuis le 01 janvier 2014 jusqu'au 31 décembre 2023. L'atteinte maximale a été enregistrée en 2015 (6 cas), tandis qu'aucun cas n'a été enregistré durant l'année 2021. Les résultats sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Fréquence des cas étudiés de *Cryptosporidium* durant 10 ans depuis 2014.

Année	Positif	Négatif	Total	Taux positif
2014	2	12	14	14,3%
2015	6	24	30	20,0%
2016	3	33	36	8,3%
2017	2	66	68	2,9%
2018	3	7	10	30,0%
2019	2	14	16	12,5%
2020	3	7	10	30,0%
2021	0	14	14	0,0%
2022	2	15	17	11,8%
2023	1	62	63	1,6%
Total	24	254	278	8,6%

2 Discussion :

L'étude rétrospective et prospective sur la cryptosporidiose au niveau du CHU Mohammed Nedir de Tizi-Ouzou, a mis en lumière quelques faiblesses, telles que des données manquantes pour certains patients, des prélèvements non répétés pour valider nos conclusions, ainsi qu'un suivi insuffisant de l'ensemble des patients. Néanmoins, Les prélèvements ont été réalisés dans des unités spécialisées en parasitologie, et les résultats ont été authentifiés par une équipe d'experts.

Pour l'étude prospective, parmi les **60** demandes de recherche de cryptosporidies, deux cas se sont révélés être positifs pour un pourcentage de **3,33%**, nos résultats sont proches de ceux obtenus par des pays de l'Afrique Subsaharienne comme le Niger avec un taux de **5,5 %** trouvé par Gay-Andrieu *et al.* (2007) [70] et un taux de **4,5 %** rapportés par Faye *et al.* (2013) au Sénégal. [71]

Pour l'étude rétrospective de **278** prélèvements ont été analysés depuis 2014 jusqu'à 2023, **24** cas se sont révélés positifs, soit un pourcentage de **8,63%**. Ce taux est très inférieur à celui rapporté au Gabon [72] et au Nigeria [73] avec des taux de **31,6%** et **38.3%** respectivement. Cela pourrait être du à la densité élevée de populations et les pratiques agricoles et d'élevages qui favorisent la contamination de l'environnement par le parasite.

Selon le sexe

Nous avons recensé dans notre étude **9,9 %** (18/181) des échantillons positifs provenant d'individus de sexe masculin et **6,2%** (6/97) des échantillons positifs provenant d'individus de sexe féminin. Aucune différence significative dans la prévalence de l'infection à *Cryptospridium* entre les deux sexes ($p > 0.05$). Ce résultat est similaire à celui obtenu par une étude faite au soudan, où ils ont trouvé un taux de **14,7 %** (39/266) et **14,1%** (72/510) chez des hommes et des femmes respectivement, mais pas de différence significative dans la prévalence de l'infection à *Cryptospridium* entre les deux sexes [74] .

Selon la tranche d'âge

Dans notre étude, on a observé que la maladie est observée chez les enfants et les personnes âgées, ceci pourrait être expliqué par un manque de réponse du système immunitaire pour ces deux catégories de personnes. Le premier pic on le retrouve chez les enfants entre 0-10 ans avec un taux de 11.1%, le système immunitaire étant en développement, de plus, ils sont plus susceptibles de se retrouver dans des situations qui les exposent à la contamination comme les écoles et les jeux dans les parcs publics, ou vivre dans des zones où l'accès à l'eau potable est limité. D'ailleurs un cas d'infection par la cryptosporidiose a été enregistré dans l'étude prospective. Ce cas concerne un jeune enfant de 10 ans, dont le système immunitaire est de plus affaibli par un cancer. Ce résultat est proche de ceux obtenus en Tanzanie [75], Éthiopie [76] et Rwanda [77] avec respectivement 10,4 %, 9,4 % et 7.2%. Par contre, la prévalence observée dans notre étude est inférieure à celle observée chez les enfants de la Jordanie avec un taux de 37.3% [78].

Le deuxième pic on le retrouve chez les personnes âgées de plus de 50 ans, avec un taux de 13.3%. Avec l'âge et la consommation des médicaments immunosuppresseurs pour traiter d'autres infections médicales, le système immunitaire est affaibli et rend cette catégorie de personnes plus susceptibles de contracter les infections opportunistes comme la cryptosporidiose. Le seul cas diagnostiqué positif pour la cryptosporidiose a été enregistré durant notre étude prospective, concernant un homme de 57 ans dont le système immunitaire est affaibli à cause d'une insuffisance rénale et une infection par le cytomégalovirus, laquelle a provoqué une pancréatite. Un taux inférieur à l'étude faite au Soudan sur les personnes dans la soixantaine (40,0 %) qui vivent dans des zones rurales [74], Ces résultats suggèrent l'absence de systèmes de purification de l'eau est pour prévenir l'infection à *Cryptosporidium* ainsi des pratiques agricoles non hygiéniques, et le contact avec des animaux porteurs de la maladie.

Le taux élevé de 9,21% de cryptosporidiose chez les personnes âgées de 40 à 50 ans peut être attribué à plusieurs facteurs, notamment leurs métiers à risque comme l'agriculture et l'élevage, où le parasite peut être présent dans les excréments des animaux. De même, travailler en garderie expose à des interactions fréquentes avec de

jeunes enfants porteurs du parasite, tout comme dans les secteurs de la santé, des parcs aquatiques et des piscines publiques.

En outre, voyager dans des régions où l'hygiène de l'eau est insuffisante et d'autres comportements à risque peuvent également accroître la probabilité d'être exposé à *Cryptosporidium*.

Enfin, la présence possible de maladies chroniques telles que le VIH, le cancer ou le diabète qui affaiblissent le système immunitaire augmente encore davantage le risque de développer cette infection parasitaire.

Selon les années

Les résultats de notre étude, menée rétrospectivement depuis 2014 et prospectivement, indiquent une stabilité presque constante de la cryptosporidiose au cours de la dernière décennie. Le nombre de cas reste faible, variant entre 0 et 6. Le pic de cas a été observé en 2015, tandis que le nombre le plus bas a été enregistré en 2021, année où aucun cas n'a été signalé. Entre 2014, 2017, 2019, 2022 et 2024, deux cas ont été enregistrés chaque année, maintenant ainsi la stabilité de la cryptosporidiose. En 2016, 2018 et 2020, trois cas ont été enregistrés, tandis qu'en 2023, il n'y a eu qu'un seul cas.

Le taux d'incidence annuelle a atteint son maximum en 2018 et 2020, avec un taux de positivité de 30%, et en 2015 avec un taux de 20%. Ce taux diminue au cours des années suivantes : 8,3% en 2016, 12,5% en 2019, et 11,8% en 2022. En 2017 et 2023, le taux est bas, respectivement à 2,9% et 1,6%. En 2024, le taux est de 3,33%, tandis qu'aucun cas positif n'a été enregistré, ce qui équivaut à un taux de 0%. La variation du nombre d'échantillons examinés chaque année est due à un manque de demandes et de réactifs.

Conclusion

Conclusion

En conclusion, cette étude sur *Cryptosporidium sp* et la cryptosporidiose chez l'homme au CHU de Tizi Ouzou a révélé des éléments importants concernant l'impact de cette infection sur la santé publique. Les cas identifiés, en particulier chez des populations vulnérables telles que les enfants et les personnes âgées, mettent en lumière la nécessité d'une vigilance accrue et d'un dépistage systématique pour mieux gérer cette pathologie.

Les résultats soulignent également que la cryptosporidiose peut représenter un risque significatif dans notre région, d'où l'importance de renforcer les mesures de prévention. Il est essentiel d'améliorer l'éducation à la santé des patients et du personnel médical, en mettant l'accent sur les pratiques d'hygiène, la sécurité alimentaire et la sensibilisation aux symptômes de l'infection.

De plus, cette recherche invite à la mise en place de protocoles de suivi pour les patients à risque, ainsi qu'à des campagnes de sensibilisation dans la communauté. À l'avenir, des études complémentaires pourraient enrichir notre compréhension des facteurs épidémiologiques liés à la transmission de *Cryptosporidium* et permettre le développement d'interventions ciblées et efficaces pour réduire l'incidence de la cryptosporidiose.

Bibliographie

- [1] Benouis, A., Bekkouche, Z., & Benmansour, Z., «Étude épidémiologique des parasitoses intestinales humaines au niveau du C.H.U. d'Oran (Algérie),» *International Journal of Innovation and Applied Studies*, vol. 2, n° %14, pp. 613-620, 2013.
- [2] O'Donoghue, «*Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in men and animals,» *journal for parasitology*, vol. 25, n° %12, pp. 139-95, 1995.
- [3] Slavin, D, «*Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.),» *Comp Pathol Ther*, vol. 70, pp. 592-, 1955.
- [4] Meisel, J.L., Perara, D.R., Meligro, C., Rubin, C.E., «Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient,» *Gastroenterology*, vol. 70, n° %160, p. 1156, 1976.
- [5] Nime, F.A., Burke, J-D., Page, D-L., Holscher, M.A., Yardley, J-H., «Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*,» *Gastroenterology*, vol. 70, pp. 592-598, 1976.
- [6] Chen XM, Keithly JS, Paya CV, LaRusso NF, «Cryptosporidiosis,» *N. Engl. J. Med.*, vol. 346, n° %1(22), pp. 1723-31, 2002.
- [7] Pohlenz J, Moon HW, Cheville NF, Bemrick WJ, «Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves,» *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, vol. 172, n° %14, pp. 452-7, 1978.
- [8] Mackenzie, W.R., Hoxie, N.J., Proctor, M.E., Gradus, M.S., Blair, K.A., Peterson, D.E., Kazmierczak, J.J., Addiss, D.G., Fox, K.R., Rose, J.B., Davis, J.P, «A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply,» *The New England Journal of Medicine*, vol. 331, pp. 161-167, 1994.
- [9] Khelaifai Sawsen, Labied Meriem, Rahim Nour Elhouda, *Étude de la cryptosporidiose dans les eaux de la région de Guelma*, Guelma, Guelma, 2020.

- [10] Current W.L., Garcia L.S., «Cryptosporidiosis,» *Clinical Laboratory Medicine*, vol. 11, pp. 873-897, 1991.
- [11] Fayer, R., «*Cryptosporidium* and cryptosporidiosis,» 1997.
- [12] Tyzzer, E. E., «A sporozoan found in the peptic gland of the common mouse,» *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, vol. 5, p. 12, 1907.
- [13] Adl, S.M., Bass, D., Lane, C.E., et al., «Revisions to the Classification, Nomenclature, and Diversity of Eukaryotes,» *Journal of Eukaryotic Microbiology*, vol. 66, n° 11, p. 4-119, 2019.
- [14] Ryan, U.M., Feng, Y., Fayer, R., et al., «Taxonomy and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* and *Giardia*,» *International Journal for Parasitology IJP 50th Anniversary Special Issue*, vol. 51, n° 113, p. 1099-1119, 2021.
- [15] Guérin, A., Striepen, B., «The Biology of the Intestinal Intracellular Parasite *Cryptosporidium*,» *Cell Host & Microbe*, vol. 24, n° 14, p. 509-515, 2020.
- [16] Sunnotel, O.; Lowery, C.J.; Moore, J.E.; Dooley, J.S.; Xiao, L.; Millar, B.C.; Rooney, P.J.; Snelling, W.J., «*Cryptosporidium*,» *Lett. Appl. Microbiol*, vol. 43, p. 7–16., 2006.
- [17] Helmy, Y. A., Krucken, J., Abdelwhab, E. M., von Samson-Himmelstjerna, G., & Hafez, H. M., «Molecular diagnosis and characterization of *Cryptosporidium* spp. in turkeys and chickens in Germany reveals evidence for previously undetected parasite species,» *PLoS ONE*, 2017.
- [18] Caccio, S. M., & Widmer, G, Springer, Éd., Berlin/Heidelberg, 2014.
- [19] Ryan, U., «*Cryptosporidium* in birds, fish and amphibians,» *Experimental Parasitology*, vol. 124, p. 113–120, 2010.
- [20] Rose, J. B., & Slifko, T. R., «*Giardia*, *Cryptosporidium*, and *Cyclospora* and their impact on foods: a review,» *Journal of Food Protection*, vol. 62, n° 19, pp. 1059-1070, 1999.

- [21] Aggoun A, Aggoune H, Recherche de la cryptosporidiose bovine, dans les quelques, Blida, Blida , 2016.
- [22] M. Arrowood, «In vitro cultivation of *Cryptosporidium* species,» *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 15, n° 13, pp. 390-400, 2002.
- [23] BOROWSKI.H ,THOMPSON R.C.A, ARMSTRONG.T and CLODE P.L, «Morphological characterization of *Cryptosporidium parvum*,» *Parasitology*, vol. 137, p. 13–26, 2010.
- [24] BONES, A.J., JOSSÉ, L., MORE, C., et al, «Past and future trends of *Cryptosporidium* in vitro research,» *Experimental Parasitology*, vol. 196, pp. 28-37, 2019.
- [25] THOMPSON, R.C.A., OLSON, M.E., ZHU, G., et al, «*Cryptosporidium* and cryptosporidiosis,» *Advances in Parasitology*, vol. 59, p. 77-158, 2005.
- [26] Derouin, F., Ginsburg, H., & Pelloux, H, «*Cryptosporidium*: The impact of low temperatures on oocysts survival in the environment,» 2002.
- [27] Lindsay, D. S., & Zajac, A. M, «Effect of high temperatures on *Cryptosporidium parvum* oocysts viability,» 2004.
- [28] Barr, S. C., «Chemical disinfection and *Cryptosporidium*: Efficacy of different agents,» 1997.
- [29] hurong Dong, Ya Yang, Yingjian Wang, Dongjian Yang, Ying Shi, Chunlin Li, Linhan Li, Yue Chen, Qingwu Jiang, and Yibiao Zhou, «Prevalence of *Cryptosporidium* Infection in the Global Population: A Systematic Review and Meta-analysis.,» *Acta Parasitologica*, vol. 65, 08 Juin 2020.
- [30] J. A. Jokipii L, «Timing of symptoms and oocyst excretion in human cryptosporidiosis,» *N Engl J Med*, vol. 315, n° 126, p. 1643–1647, 1986.

- [31] Okhuysen PC, Rich SM, Chappell CL, Grimes KA, Widmer G, Feng X, Tzipori S (2002), «Infectivity of a *Cryptosporidium parvum* isolate of cervine origin for healthy adults and interferon-gamma knockout mice,» *J Infect Dis*, vol. 185, n° 19, p. 1320–1325, 2002.
- [32] Pereira SJ, Ramirez NE, Xiao L, Ward LA, «Pathogenesis of human and bovine *Cryptosporidium parvum* in gnotobiotic pigs,» *J Infect Dis*, vol. 186, n° 15, p. 715–718, 2002.
- [33] white, *Principles and practice of infectious diseases, 7th edn*, B. J. D. R. (. In: Mandell GL, Éd., Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier, , 2010.
- [34] Hunter PR, Hughes S, Woodhouse S, Syed Q, Verlander NQ, Chalmers RM, Morgan K., «Sporadic cryptosporidiosis case–control study with genotyping,» *Emerg Infect Dis*, vol. 10, n° 17, p. 1241–1249, 2004b.
- [35] Roy SL, DeLong SM, Stenzel SA, Shiferaw B, Roberts JM, Khalakdina A, Marcus R, Segler SD, Shah DD, Thomas S, Vugia DJ, Zansky SM, Dietz V, Beach MJ, «Risk factors for sporadic cryptosporidiosis among immunocompetent persons in the United States from 1999 to 2001.,» *J Clin Microbiol*, vol. 42, n° 17, p. 2944–2951, 2004.
- [36] Chalmers RM, Davies AP, «Minireview: clinical cryptosporidiosis,» *Exp Parasitol*, vol. 124, n° 11, pp. 138-146, 2010.
- [37] Bushen OY, Kohli A, Pinkerton RC, Dupnik K, Newman RD, Sears CL, Fayer R, Lima AA, Guerrant RL, «Heavy cryptosporidial infections in children in northeast Brazil: comparison of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum*,» *Trans R Soc Trop Med Hyg*, vol. 101, n° 14, p. 378–384, 2007.
- [38] Cama VA, Bern C, Roberts J, Cabrera L, Sterling CR, Ortega Y, Gilman RH, Xiao L, «*Cryptosporidium* species and subtypes and clinical manifestations in children,» *Emerg Infect Dis*, vol. 14, n° 10, p. 1567–1574, 2008.

- [39] Xiao L, Bern C, Limor J, Sulaiman I, Roberts J, Checkley W, Cabrera L, Gilman RH, Lal AA, «Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru,» *J Infect Dis*, vol. 183, n° 13, p. 492–497, 2001.
- [40] Newman RD, Zu SX, Wuhib T, Lima AA, Guerrant RL, Sears CL, «Household epidemiology of *Cryptosporidium parvum* infection in an urban community in northeast Brazil,» *Ann Intern Med*, vol. 120, n° 16, pp. 500-505, 1994.
- [41] Hunter PR, Nichols G, «Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients,» *Clin Microbiol Rev*, vol. 15, n° 11, p. 145–154, 2002.
- [42] Chen XM, Levine SA, Splinter PL, Tietz PS, Ganong AL, Jobin C, Gores GJ, Paya CV, LaRusso NF, «*Cryptosporidium parvum* activates nuclear factor kappaB in biliary epithelia preventing epithelial cell apoptosis,» *Gastroenterology*, vol. 120, n° 17, pp. 1774-1783, 2001.
- [43] Shikani.H and Weiss L.M, «Human Cryptosporidiosis: A Clinical Perspective,» Janvier 2014. [En ligne]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/259972823>. consulté le 13-04-2024
- [44] Farthing MJG, «Clinical aspects of human Cryptosporidiosis,» chez *In: Cryptosporidiosis and microsporidiosis*, Contributions to Microbiology, F.petry, Éd., Basel, 2000.
- [45] L. Ritchie, «An ether sedimentation technique for routine stool examinations,» *Bulletin of the U.S. Army Medical Department*, vol. 8, n° 14, p. 326, 1948.
- [46] Garcia, L.S., *Diagnostic Medical Parasitology*, 6th Edition éd., A. Press, Éd., 2016.
- [47] «U.S. Centers for Disease Control and Prevention,» [En ligne]. Available: <http://www.cdc.gov>.
- [48] Henriksen, S.A., & Pohlenz, J.F., «Staining of Cryptosporidia by a Modified Ziehl-Neelsen Technique,» *Acta Veterinaria Scandinavica*, vol. 22, n° 13-4, pp. 594-596, 1981.

- [49] Fatimah Mohammed ali, «CRYPTOSPORIDIOSIS IN SULAIMANI PEDIATRIC TEACHING HOSPITAL AND COMPARISON OF DIFFERENT DIAGNOSTIC METHODS FOR ITS DETECTION.,» 2018.
- [50] J. Kinyoun, «A note on Uhlenhuth's method for sputum examination, for tubercle bacilli,» *American Journal of Public Health*, vol. 5, n° 19, pp. 876-870, 1915.
- [51] ML Rodríguez-Ferrero, Patricia Muñoz, Maricela Valerio Minero, Emilio Bouza, Pablo Martín-Rabadán, and Fulvio Anaya, «*Cryptosporidium Parvum* infection in a Kidney transplant recipient,» *Nefrología*, vol. 30, pp. 476 - 477, 1 Janvier 2010.
- [52] Ridderhof, J.C., & van Deun, A., Tuberculosis, UFRJ éd., J. & L. S. (. Palomino, Éd., 2007.
- [53] JOHANSEN, H O; ABSIDA, A; ZANGENBERG, M; MEKONNEN, Z; ESHETU, B; BJORANG, «Performance and operational feasibility of two diagnostic tests for cryptosporidiosis in children (CRYPTO-POC) :a clinical, prospective, diagnostic accuracy study,» *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 21, n° 15.
- [54] Jennifer K. O'Leary, Roy D. Sleator *, «*Cryptosporidium spp.* diagnosis and research in the 21st century,» *Food and Waterborne Parasitology*, August 2021.
- [55] Helmy, Y.A., Krücken, J., Nockler, K., von Samson-Himmelstjerna, G., Zessin, K.-H., «"Comparison between two commercially available serological tests and polymerase chain reaction in the diagnosis of *Cryptosporidium* in animals and diarrhoeic children,» *Parasitology Research*, vol. 113, pp. 211-216, 2014.
- [56] Kehl, K.S., Cicirello, H., Havens, P.L., «Comparison of four different methods for detection of *Cryptosporidium* species,» *J. Clin. Microbiol.*, vol. 133, pp. 416-418, 1995.
- [57] Agnamey, P., Sarfati, C., Pinel, C., Rabodoniriina, M., Kapel, N., Dutoit, E., Garnaud, C., Diouf, M., Garin, J.F., Totet, A., Derouin, F, «Evaluation of four commercial rapid immunochromatographic assays for detection of *Cryptosporidium* antigens in stool samples: A blind multicenter trial,» *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 49, pp. 1605 - 1607, 2011.

- [58] Hadfield, S.J., Robinson, G., Elwin, K., Chalmers, R.M., «Detection and differentiation of *Cryptosporidium spp.* in human clinical samples by use of real-time PCR,» *J. Clin. Microbiol.*, vol. 49, p. 918–924, 2011.
- [59] Robinson, G., Chalmers, R.M., «Assessment of polymorphic genetic markers for multi-locus typing of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis*,» *Exp parasitol*, vol. 132, p. 200–215, 2012.
- [60] Espy, M.J., Uhl, J.R., Sloan, L.M., Buckwalter, S.P., Jones, M.F., Vetter, E.A., Yao, J.D.C., Wengenack, N.L., Rosenblatt, J.E., Cockerill, F.R., Smith, T.F., «Real time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing.,» *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 19, pp. 165-256, 2006.
- [61] Yang, R., Paparini, A., Monis, P., Ryan, U., «Comparison of next-generation droplet digital PCR (ddPCR) with quantitative PCR (qPCR) for enumeration of *Cryptosporidium* oocysts in faecal samples,» *Int. J. Parasitol*, vol. 44, p. 1105–1113, 2014.
- [62] DeMone, C., Hwang, M.H., Feng, Z., McClure, J.T., Greenwood, S.J., Fung, R., Kim, M., Weese, J.S., Shapiro, K., «Application of next generation sequencing for detection of protozoan pathogens in shellfish,» *Food Waterborne Parasitol*, vol. 21, 2020.
- [63] De Waele, V., Van den Broeck, F., Huyse, T., McGrath, G., Higgins, I., Speybroeck, N., Berzano, M., Raleigh, P., Mulcahy, G.M., Murphy, T.M., «Panmectic structure of the *Cryptosporidium parvum* population in Irish Calves: influence of prevalence and host movement,» *Appl. Environ. Microbiol*, vol. 79, p. 2534–2541, 2013.
- [64] Monk, J., Palsson, B.O., «Genetics,» *Predicting microbial growth*, vol. 344, p. 1448–1449, 2014.
- [65] Carrera, J., Estrela, R., Luo, J., Rai, N., Tsoukalas, A., Tagkopoulos, I., «An integrative, multi-scale, genome-wide model reveals the phenotypic landscape of *Escherichia coli*,» *Mol. Syst. Biol*, vol. 10, p. 735, 2014.

- [66] Gharpure R, Perez A, Miller AD, Wikswa ME, Silver R, Hlavsa MC., «Cryptosporidiosis Outbreaks — United States, 2009–2017. 2019;68:568–572. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6825a3>,» *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Repor*, vol. 68, pp. 568-572, 2019.
- [67] DEROUIN F., ELIASZEWICZ M., POUILLOT R., ROZE S, «Rapport sur les «Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Evaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium* sp. »,» AFSSA, 2002.
- [68] BELKAID, M; TABEL, D; ZENAIDI; HAMRIOUI, «Cours De Parasitologie (tome Protozooses),» *Office des publications universitaires*, 1992.
- [69] D. KHELEF, Z. SAIB, A. AKAM, R. KAIDI, V. CHERILA, V. COZMA et K. T. ADJOU, «Epidimiologie de la Cryptosporidiose chez les bovins en Algérie,» *Revue méd. Vét.*, pp. 260-264, 2007.
- [70] Gay-Andrieu F, Adehossi E, Illa H, Garba Ben A, Kourna H, Boureima H, «Prevalence of cryptosporidiosis in pediatric hospital in Niamey,» *Bull. Soc. Pathol. Exot*, vol. 100, pp. 193-196, 2007.
- [71] Faye B, Dieng T, Tine RC, Diouf L, Sylla K, Ndiaye M, Sow D, Ndiaye JL, Ndiaye D, Ndiaye M, Badiane AS, Seck MC, Dieng Y, Faye O, Ndir O, Gaye O , «Cryptosporidiosis in Senegal children: Prevalence study and use of ELISA serologic diagnosis,» *Bull. Soc. Pathol. Exot*, vol. 106, pp. 258-263, 2013.
- [72] D. D. K. J. N.-E. R. T. V. R. D. M. Duong TH, «Cryptosporidiosis in young children in urban areas in Gabon,» *Cahiers Santé* , vol. 5, pp. 185-158, 1995.
- [73] Nassar SA, Oyekale TO, Oluremi AS , « Prevalence of *Cryptosporidium* infection and related risk factors in children in Awo and Iragberi, Nigeria,» *J. Immunoassay Immunochem.* , vol. 9, pp. 1-8, 2016.
- [74] S., Yu, J. R., Lee, Y. H., Lee, J. S., Jeong, H. G., Saed Mohamed, A. A. W., & Hong, S. T., «Prevalence of *Cryptosporidium* infection among inhabitants of 2 rural areas in White Nile state, Sudan.,» *Korean Journal of Parasitology*, vol. 53, n° %16, pp. 745-747, 2015.

- [75] Tellevik MG, Moyo SJ, Blomberg B, Hjøllø T, Maselle SY, Langeland N, Hanevik K (2015). Prevalence of *Cryptosporidium parvum/hominis*, *Entamoebahistolytica* and *Giardia lamblia* among Young Children with and without Diarrhea in Dar es Salaam., «Tellevik MG, Moyo SJ, Blomberg B, Hjøllø T, MPrevalence of *Cryptosporidium parvum/hominis*, *Entamoebahistolytica* and *Giardia lamblia* among Young Children with and without Diarrhea in Dar es Salaam, Tanzania.,» *PLoS Negl Trop. Dis*, vol. 10.
- [76] Wegayehu T, Karim M, Anberber M, Adamu H, Erko B, Zhang L Tilahun G . , «Prevalence and genetic characterization of *Cryptosporidium* species in dairy calves in central Ethiopia.,» *PLoS one*, vol. 11, pp. 1546-1547, 2016.
- [77] Kabayiza JC, Andersson ME, Nilsson S, Bergström T, Muhirwa G, Lindh M., «Real-time PCR identification of agents causing diarrhea in Rwandan children less than 5 years of age,» *Pediatr Infect Dis J.* , vol. 33, n° 110, pp. 1037-1042, 2014.
- [78] Mahgoub ES, Almahbashi A, Latif B. , «Cryptosporidiosis in children in a north Jordanian paediatric hospital.,» *East Mediterr Health J*, vol. 10, pp. 494-501, 2004.