

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU MAMMARI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUE



Mémoire de fin d'études

En Vue d'Obtention Du Diplôme Master En Biologie

Spécialité : Parasitologie

Thème

La prévalence de la cryptosporidiose au CHU de Tizi Ouzou depuis 2014

Présenté par

M^{elle} FERHAT Siham

&

M^{elle} KHEROUS Lydia

Soutenues le 25/06/2023

Devant le jury

Président : Mr SIFER K.

Maitre-assistant A

UMMTO

Promoteur : Mr. MOULOUA A.

Maitre de conférences A

UMMTO

Examineur : Mr BOUKHEMZA M.

Professeur

UMMTO

2022 - 2023

Remerciements

Nous tenons à remercier tout d'abord Dieu, qui nous a ouvert les porte du savoir et qui nous a offert la force, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Monsieur MOULOUA Abdelkamal, pour avoir accepté d'encadrer ce travail. Nous le remercions également pour sa patience, sa disponibilité, ses conseils et son aide constant qu'il nous a apporté tout au long de ce travail, ainsi pour tout le savoir qu'il nous a transmis.

Nous adressons nos remerciements à Dr SEKLAOUI pour nous avoir accueillies dans le laboratoire de Parasitologie et mycologie et aux autres membres du laboratoire. Ainsi aux chefs des services de nous permettre d'avoir l'accès aux échantillons.

Nous adressons nos remerciements à tous les enseignants du département de biologie, qui ont contribué à notre formation.

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

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

À vous tous merci

Dédicace

En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu tout puissant, créateur de toutes choses, pour tous innombrables bienfaits, et de m'avoir donné la force pour réaliser ce modeste travail que je dédie :

A mes chers parents, ce travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployé pour mon éducation et ma formation. A mon père Mohamed et ma mère Ouardia qui n'ont jamais cessé de m'encourager et me conseiller, qui m'ont aidé durant tout en long de mon chemin.

A mon très chère frère Hamouche et ma petite sœur Lynda, la source de ma joie et de mon bonheur.

A ma meilleure et chère amie et binôme Lydia, qui a contribué à la réalisation de ce travail et pour toute sa famille.

A mes amies et à l'ensemble de mes camarades de promotion.

A l'âme de mes grands-parents paternels et maternels.

A tous les professeurs qui ont contribué afin que ce moment arrive et se réalise, je vous remercie de tout cœur soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

A tous ceux qui ne sont pas mentionnés dans ce modeste mémoire, mais ils sont dans mon cœur.

Siham

Dédicace

Je dédie ce mémoire à mes chers parents CHABANE et OUIZA, qu'ils n'ont jamais cessé de m'encourager, me soutenir et me conseiller et qui m'ont aidé durant tout au long de mon chemin.

A mes trois chères frères SAMIR, NABIL et HAKIM, a ma belle sœur DJAHIDA.

A mes deux amies MELIZA et LAMIA, ainsi leurs familles.

A mon chère amie et binôme SIHAM ainsi toute sa famille.

A tous ceux qui ne sont pas mentionnés dans ce modeste mémoire, mais ils sont dans mon cœur.

LYDIA

Remerciements**Dédicace****Liste des figures****Liste des tableaux****Introduction****Chapitre I : Généralités sur *Cryptosporidium* sp**

1	Historique	3
2	Définition du parasite	3
3	Taxonomie et classification de différentes espèces de <i>Cryptosporidium</i>	4
4	Morphologie du parasite.....	6
4.1	Oocystes	6
4.2	Les sporozoïtes	7
4.3	Les trophozoïtes	7
4.4	Mérontes	8
4.4.1	Les macrogamètes	8
4.4.2	Les microgamètes	8
5	Cycle de développements.....	9
6	La résistance du parasite.....	10
7	Caractères biologique des oocystes favorisant la transmission.....	10

Chapitre II :La cryptosporidiose

1	Définition.....	11
2	Populations affectées	11
2.1	Les immunocompétents.....	11
2.2	Les enfants.....	11
2.3	Les immunodéprimés	11
3	Pathogénie	12
3.1	Pouvoir pathogène de <i>Cryptosporidium</i>	12
3.2	Facteurs de virulence	12
3.3	Facteur de risque	13
4	Transmission	13
4.1	Transmission de l'animal à l'homme (zoonotique).....	13
4.2	Transmission interhumaine	13
4.3	Transmission hydrique	14
4.4	Transmission alimentaire.....	14

4.5	Transmission aérienne	15
5	Clinique	15
6	Epidémiologie	16
6.1	Prévalence	16
6.2	Répartition géographique	16
6.3	Epidémies	16
7	Diagnostic.....	17
7.1	Diagnostic microscopique	17
7.1.1	Diagnostic direct.....	17
7.1.2	Techniques de colorations après concentrations	17
7.2	Le diagnostic sérologique (la recherche de coproantigènes).....	22
7.3	Le diagnostic moléculaire.....	22
8	Traitement	22
8.1	Chez les immunocompétents	22
8.2	Chez les immunodéprimés	23
9	Prévention.....	24
9.1	Prévention individuelle.....	24
9.2	Prévention collective	24

Chapitre III :Matériel et méthodes

1	Matériels et méthodes.....	26
1.1	Présentation de cadre et lieu d'étude	26
1.2	Présentation des lieux de prélèvement :	26
1.2.1	Le Centre de transfusion sanguine de Tizi-Ouzou	26
1.2.2	Les différents services du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou :	26
1.3	Population de l'étude.....	26
1.4	Recueil des selles.....	26
1.5	Matériel non biologique	27
1.5.1	Appareillage	27
1.5.2	Les réactifs	27
1.5.3	Autre matériel.....	27
1.6	Méthodes utilisées	28
1.6.1	Examen macroscopique.....	28
1.6.2	Examen microscopique	28
1.6.2.1	Examen direct.....	28

1.6.2.2	Technique de concentration : Technique de Ritchie.....	29
1.6.2.3	Réalisation du frottis.....	30
1.6.2.4	Les colorations.....	31
1.6.2.4.1	Coloration de Ziehl-Neelsen modifié par Henriksen et Pohlenz.....	31
1.6.2.4.2	Coloration de Kinyoun	32

ChapitreIV:Résultats et discussion

1	Résultats	35
1.1	Etude prospective	35
1.2	Etude rétrospective	36
1.2.1	Répartition des patients selon différents services.....	37
1.2.2	Distribution des cas de Cryptosporidiose selon le sexe.....	38
1.2.3	Distribution des cas de cryptosporidiose selon la tranche d'âge	39
1.2.4	Fréquence des cas positifs observer dans le laboratoire mycologie-parasitologie depuis 2014.....	40
2	Discussion	42

Conclusion

Références bibliographique

Résumé

Liste de figures

Figure 1: Schéma d'un oocyste (FAYER & UNGAR, <i>Cryptosporidium</i> spp.and cryptosporidiosis, 1986).....	6
Figure 2 : La structure d'oocyste en microscope optique (VALIGUROVA, JIRKU, KOUDELA, GELNAR, MODRY, & SLAPETA, 2008).....	6
Figure 3: Structure d'un sporozoïte (coupe longitudinale), observé au microscopie à transmission (TETLEY, BROWN, COOMBS, & MC DONALD, 1998)	7
Figure 4: Image au microscope électronique d'un trophozoïte de <i>Cryptosporidium</i> localisé entre les microvillosités de cellules épithéliales intestinales (ALLALOU & YACOUB, 2015).....	8
Figure 5: Cycle de vie de <i>Cryptosporidium</i> (KUBINA, 2021)	10
Figure 6: Oocystes de <i>Cryptosporidium</i> après coloration Ziehl-Neelsen modifiée. (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).....	19
Figure 7: Oocystes de <i>Cryptosporidium</i> spp colorés à l'auramine-phénol, présentant un motif de coloration caractéristique des érythrocytes Coupe d'un champ de grossissement 400 × (JOHANSEN, et al., 2020).....	20
Figure 8 : Oocystes de <i>Cryptosporidium</i> spp dans les fèces, colorées par la méthode de kinyoun. (RIBEIRO, et al., 2016).....	20
Figure 9: Oocystes de <i>Cryptosporidium parvum</i> observés par la méthode d'immunofluorescence direct (PRINT, 2019).....	21
Figure 10: Préparation de l'eau physiologique (FERHAT & KHEROUS, 2023).	28
Figure 11: Etapes de l'examen direct (FERHAT & KHEROUS, 2023).....	29
Figure 12: Etapes de la technique de concentration Ritchie (FERHAT & KHEROUS, 2023).....	30
Figure 13: Les quatre phases obtenues après technique de concentration de Ritchie (FERHAT & KHEROUS, 2023).....	30
Figure 14: Etapes de réalisation d'un frottis (FERHAT & KHEROUS, 2023).	31
Figure 15: Etapes de réalisation de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (FERHAT & KHEROUS, 2023).....	32
Figure 16: Etapes de réalisation de coloration de Kinyoun (FERHAT & KHEROUS, 2023).....	33
Figure 17: Les oocystes de <i>Cryptosporidium</i> sous microscope optique après la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée au grossissement x100 (FERHAT & KHEROUS, 2023).....	35
Figure 18: Les oocystes de <i>Cryptosporidium</i> sous microscope optique après la coloration de kinyoun au grossissement x100 (FERHAT & KHEROUS, 2023).....	36
Figure 19: Répartition de <i>Cryptosporidium</i> selon les services.....	37
Figure 20 : Distribution des cas étudiés selon les tranches d'âge.....	39
Figure 21: Fréquence de <i>Cryptosporidium</i> durant 9 ans depuis 2014 jusqu'à 2022	40

Liste des Tableaux

Tableau 1: Classification taxonomique (KHELAIFAI, LABIED, & RAHIM, 2020).....	4
Tableau 2: Différentes espèces du genre <i>Cryptosporidium</i> (BENAMROUZ-VANNESTE, et al.,2020)	5
Tableau 3: Thérapeutiques décrites contre la cryptosporidiose (CHECKLEY, et al., 2015) ..	23
Tableau 4: Nombre de cas étudié selon différents services	35
Tableau 5: Répartition des patients étudiés selon les services.	37
Tableau 6: Les taux des cas selon le sexe.	38
Tableau 7: Répartition des cas positif selon les tranches d'âge	38
Tableau 8: Frequence des cas etudiés de <i>Cryptosporidium</i> durant 9 ans depuis 2014.....	39

Liste des abréviations

FEA : Acétate D'éthyle Formol (ou Formalin-Ethyl Acetate)

PCR : Polymérase Chain Reaction

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

FISH: Hybridation Fluorescente In Situ

ECDC: European Centre for Disease Control

ADN: Acide désoxyribonucléique

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

SIDA: Syndrome d'Immunodéficience Acquise

LBA : Lavage Broncho-Alvéolaire

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

MI : Médecine Interne



INTRODUCTION

Les parasitoses intestinales sont des maladies dues à la présence des parasites dans le tube digestif. Cette situation stratégique dans leurs hôtes, leur fournit les éléments nutritifs nécessaires pour assurer la pérennité de leurs cycles de transmission et de reproduction (BENOUIS, BEKKOUCHE, & BENMANSOUR, 2013).

Les parasitoses intestinales touchent la population en générale avec prédominance de certaines espèces chez certains sujets, tels que les immunodéprimés et les enfants. Les parasitoses intestinales sont parmi les causes de mortalité chez cette catégorie de patients. L'augmentation des cas d'immunodéficience due au virus de l'immunodéficience humaine (V.I.H.), a entraîné l'émergence de certaines parasitoses dites opportunistes parmi lesquels on cite la pneumocystose, la toxoplasmose, la cryptosporidiose.

La cryptosporidiose est une infection par le parasite protozoaire cosmopolite du genre *Cryptosporidium* considéré comme agent infectieux responsable de plus de 60 % des épidémies de gastro-entérite d'origine hydrique (BALDURSSON & KARANIS, 2011). Plusieurs espèces de *Cryptosporidium* ont été identifiées pouvant infecter un grand nombre de vertébrés et plus de 150 espèces de mammifères (CHEN, et al., 2011), parmi lesquels : *C. parvum*, *C. muris* qui possèdent une assez faible spécificité d'hôte, ce qui signifie qu'elles peuvent être pathogènes à la fois pour les animaux et les humains et *C. hominis* qui parasite quasi exclusivement l'homme (O'DONOGHUE, 1995) (NACIRI, 1992).

La cryptosporidiose peut être partiellement prévenue par des mesures d'hygiène très strictes mais celles-ci ne sont pas infaillibles à cause des caractéristiques biologiques du parasite (cycle rapide, forte résistance des oocystes) et des doutes qui persistent aujourd'hui sur les mécanismes d'apparition de la maladie.

Le principal symptôme est une diarrhée aqueuse, souvent accompagnée d'autres signes gastro-intestinaux. Habituellement, la maladie guérit spontanément chez le patient immunocompétent, mais peut être persistante et sévère chez les patients immunodéficitaires notamment ceux atteints du SIDA.

L'impact pathologique des cryptosporidies est d'autant plus inquiétant qu'aucun traitement étiologique spécifique efficace n'est actuellement disponible (MORGAN & THOMPSON, 1998). Plus de 100 molécules ont été testées mais aucune ne permet un contrôle parfait de la maladie, il existe seulement un traitement symptomatique.

La cryptosporidiose est l'une des maladies qui touche l'Algérie malheureusement, pour laquelle peu de données épidémiologiques sont renseignées. Cela nous a incités à faire cette étude qui a pour objectif de déterminer la prévalence de *Cryptosporidium spp*, l'âge critique, le sexe le plus sensible et évaluer aussi sa place chez les patients diarrhéiques dans la

région de Tizi-Ouzou (laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicales du CHU Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou).

Notre travail est subdivisé en deux parties et chaque partie se divise en deux volets, la partie bibliographique, où nous présenterons le parasite puis la maladie, La deuxième partie concerne la partie pratique, où nous présenterons matériel et méthodes puis discussion des résultats préliminaires obtenus.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top, both with rounded ends and small circular details at the corners.

Chapitre I
Généralités sur *Cryptosporidium* sp.

1 Historique

La première espèce de *Cryptosporidium* a été observée par CLARKE en 1895, qu'il a décrit comme étant une multitude de spores sur la surface de l'épithélium gastrique de souris (BENFERHAT & MERAHI, 2006).

En 1907, TYZZER découvre pour la première fois ces petits micro-organismes dans la glande gastrique d'une souris de laboratoire (*Mus musculus*) utilisée pour ses travaux de recherche, qu'il a placée dans le genre (*Cryptosporidium*= sporocystes cachés) car à la différence des autres coccidies, les sporozoïtes sont directement contenus dans l'oocyste, qu'il nomma *Cryptosporidium muris* en 1910. Une autre espèce de la même morphologie que *C. muris* mais plus petite a été observée par TYZZER dans l'intestin grêle d'une souris, il lui donna le nom *Cryptosporidium parvum* (O'DONOGHUE, 1995).

Les premiers cas humains de cryptosporidiose ont été décrits en 1976, chez deux patients : l'un était immunodéprimé et l'autre un enfant de trois ans immunocompétent. Mais les cas rapportés dans la littérature restent rares (MEISEL, PERARA, MELIGRO, & RUBIN, 1976). Cependant, ce n'est qu'au début des années 80 que l'impact clinique de ce parasite a été reconnu et particulièrement pour *Cryptosporidium parvum*, responsable de courts épisodes de diarrhées, parfois cholériforme, qui sont mortelles, vu leurs résistances à tout traitement chez les patients immunodéprimés et surtout les patients infectés par le VIH (TZIPORI & WIDMER, 2008) Milwaukee (États-Unis d'Amérique) a connu sa pire épidémie en 1993, touchant plus de 400 000 personnes (MAC KENZIE, et al., 1994)

Le premier cas de cryptosporidiose humaine fut observé en Algérie en 1992 à l'hôpital d'El KETTAR (willaya, Alger) par le Médecin AZZAM chez Cinq (05) patients ; Deux immunodéprimés et trois immunocompétents (KHELAIFAI, LABIED, & RAHIM, 2020).

2 Définition du parasite

Cryptosporidium est un parasite intracellulaire et unicellulaire capable de parasiter un grand nombre de Vertébrés, il a été retrouvé chez plus de 250 groupes de Vertébrés différents (oiseaux, mammifères..., et même l'homme) (O'DONOGHUE, 1995), ces espèces sont nommées selon l'hôte infecté la première fois (SLAPETA, 2009).

Au sein du genre *Cryptosporidium*, environ 30 espèces sont recensées à ce jour (SLAPETA, 2009), dont 20 espèces touchent l'homme. Les espèces les plus importantes (>90%) sont *C. parvum* (les principaux réservoirs sont des ruminants) et *C. hominis*. Leur cycle de multiplication se déroule dans les cellules épithéliales intestinales et aboutit à la production d'oocystes matures infectants éliminés dans les selles. (Anonyme, 2011)

3 Taxonomie et classification de différentes espèces de *cryptosporidium*

Le genre *Cryptosporidium* est inclus dans le phylum des Apicomplexa, l'ordre des Eucoccidiorida, le sous-ordre des Eimeriorina et la famille des Cryptosporidiidae.

Tableau 1: Classification taxonomique (KHELAIFAI, LABIED, & RAHIM, 2020)

Classification	Nom	Caractéristiques
Règne	Protistes	Eucaryote unicellulaire
Phylum	Apicomplexa	Présence d'un complexe apicale (participer dans la pénétration du parasite).
		Présence du parasite intracellulaire est obligatoire
Classe	Sporozoasida	Présente une multiplication asexuée et une multiplication sexuée
		Formation d'oocystes
sous-classe	Coccidiasina	Plusieurs stades participent dans le cycle de développement : schizogonie, mérogonie, sporogonie, gamétogonie.
		Existences des gamontes de petite taille
Ordre	Eucoccidiorida	Existence de stade mérogonie.
Sous-ordre	Eimeriorina	Développement indépendant de micro et macrogamètes
		Zygote non mobile présent
Famille	Cryptosporidiidae	Les oocystes contiennent quatre sporozoïtes nus.
		Existence d'une organelle d'attachement dans le stade endogène de développement
		Cycle monoxène
Genre	<i>Cryptosporidium</i>	Développement intra cellulaire mais extracytoplasmique
		Microgamètes non flagellés
		Très grande prolificité
		Oocystes atypiques possibles
		Absence de spécificité pour certaines espèces

Tableau 2: Différentes espèces du genre *Cryptosporidium* (BENAMROUZ-VANNESTE, et al., 2020)

Espèce	Hôtes importants	Références
<i>C. parvum</i>	Souris, bovin domestique, homme	(TYZEER, 1912)
<i>C. hominis</i>	Etre humain	(MORGAN-RYAN et al., 2002)
<i>C. felis</i>	Chat domestique peut toucher l'homme	(ISEKI, 1979)
<i>C. canis</i>	Chien domestique peut toucher l'homme	(FAYER et al., 2001)
<i>C. andersoni</i>	Bovin domestique	(LINDSAY et al., 2000)
<i>C. muris</i>	Souris	(TYZZER, 1907)
<i>C. baileyi</i>	Poulet	(CURRENT et al, 1986)
<i>C. meleagridi</i>	Dindon	(SALVIN, 1955)
<i>C. bovis</i>	Bovins	(BARKER & CARBONELL, 1974)
<i>C. cuniculus</i>	Lapins	(INMAN & TAKEUCHI, 1979)
<i>C. suis</i>	Porc	(RYAN, 2004)
<i>C. pestis</i>	Mammifères	(ŠLAPETA, 2006)
<i>C. fayeri</i>	Marsupial	(RYAN, 2008)
<i>C. ubiquitum</i>	Mammifères	(FAYER, 2010)
<i>C. tyzzeri</i>	Souris	(ZHAO, 2012) (SLAPETA et al, 2012)
<i>C. viatorum</i>	Homme	(ELWIN, 2012)
<i>C. scrofarum</i>	Porc	(KVAC, 2013)

4 Morphologie du parasite

Dans les années 1980, la microscopie électronique est apparue et a permis de distinguer les différents stades parasitaires et d'attribuer des caractéristiques morphologiques à *Cryptosporidium spp* (VALIGUROVA, et al., 2008).

4.1 Oocystes

L'oocyste de *Cryptosporidium* présente une forme sphérique ou ovoïde, la taille varie de 3 à 8 microns selon les espèces. Il contient quatre sporozoïtes "nu", agencés autour d'un corps résiduel mesurant un micron de diamètre et semble très réfracté au microscope optique. Sa paroi lipido-protidique est lisse constituée de deux couches distinctes, intérieure et extérieure, séparées par un espace clair et contient une suture qui se dissout durant l'excystation et permet la libération des sporozoïtes. La résistance extrême de ce stade est essentielle à la survie du parasite dans l'environnement (Jenkins, et al., 2010). Les oocystes sont protégés par une enveloppe kystique (KHELLEF, 2007).

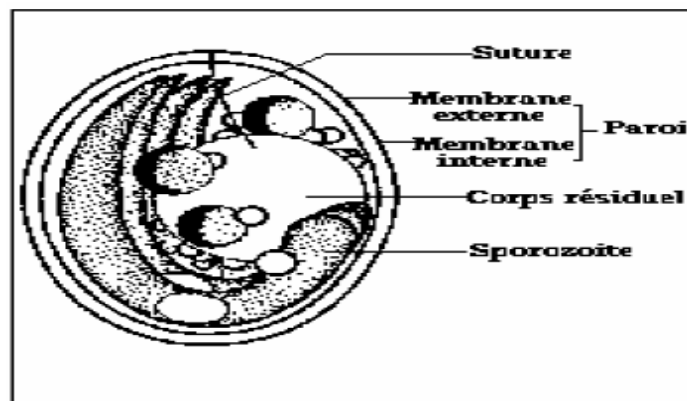


Figure 1: Schéma d'un oocyste (FAYER & UNGAR, *Cryptosporidium spp. and cryptosporidiosis*, 1986)

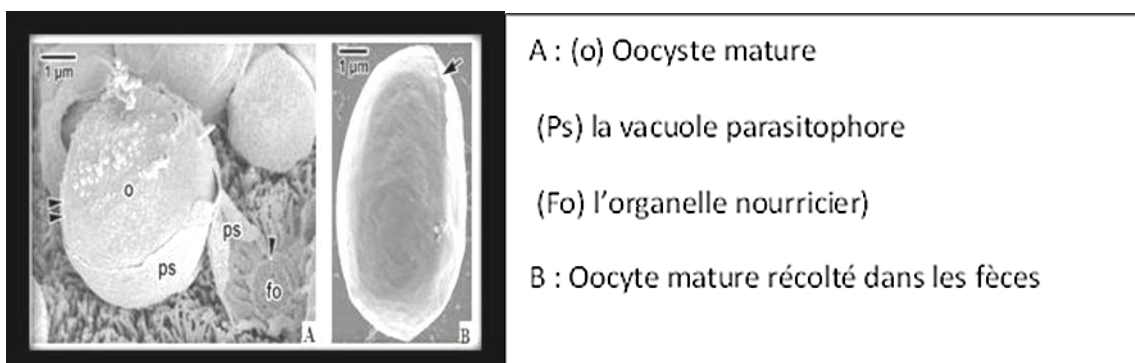


Figure 2 : La structure d'oocyste en microscope optique (VALIGUROVA, et al., 2008)

4.2 Les sporozoïtes

Les sporozoïtes sont en forme de virgule, allongés vers l'avant et arrondis vers l'arrière, entourés d'une triple membrane, libres et mobiles qui constituent la forme infectieuse du parasite, leurs tailles varient selon l'espèce. Les sporozoïtes ont un complexe apical, où se trouvent de petits micronèmes sphériques et une rhoptrie plus grosse. Des granules denses apparaissent dans la moitié antérieure, et le noyau polaire est enfermé dans le tiers postérieur du parasite. Ce complexe joue un rôle important dans la motilité, l'adhésion et l'invasion des parasites dans les cellules hôtes (TETLEY, et al., 1998).

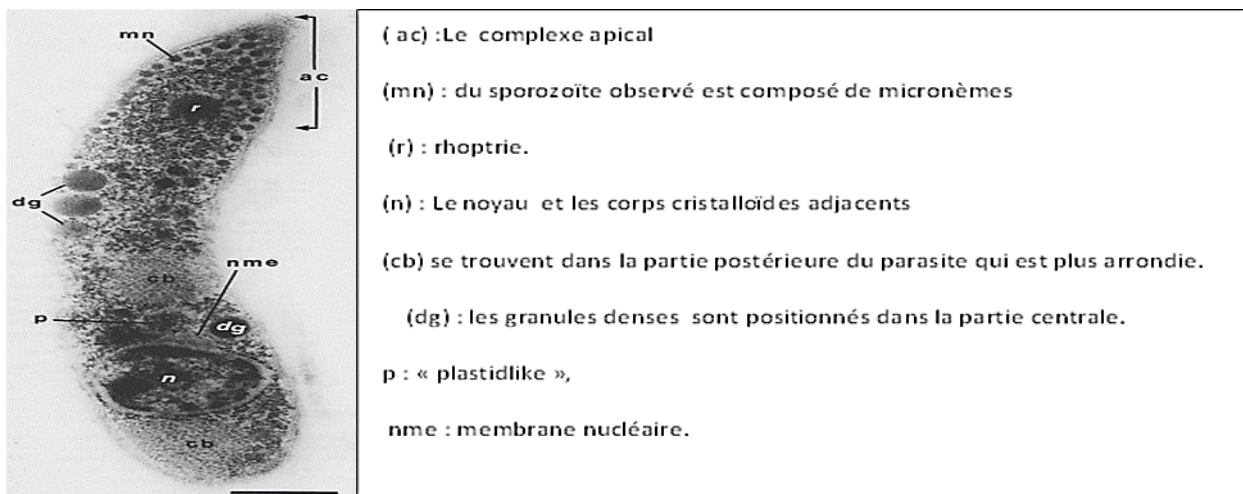


Figure 3: Structure d'un sporozoïte (coupe longitudinale), observé au microscope à transmission (TETLEY, et al., 1998).

4.3 Les trophozoïtes

Les trophozoïtes apparaissent entourés de cinq membranes dans les deux extrêmes forment la vacuole parasitophore, ils sont caractérisés par la présence d'un noyau unique de grande taille. Le complexe apical observé chez les sporozoïtes n'est plus présent mais une organelle nourricière est bien développée à ce stade. Les trophozoïtes sont de formes sphériques de 2.5 à 3 μ , ils sont caractérisés par un grand noyau (1-1,3 μ) contenant un gros nucléole (VALIGUROVA, et al., 2008).



Figure 4: Image au microscope électronique d'un trophozoïte de *Cryptosporidium* localisé entre les microvillosités de cellules épithéliales intestinales (ALLALOU & YACOUB, 2015)

4.4 Mérontes

Les mérontes murs ont la même morphologie que les sporozoïtes. Il existe deux types de mérontes : le type I et le type II dont la taille varie de 4 et 5 μ de diamètre. Les mérontes contiennent huit mérozoïtes pour le type I et quatre mérozoïtes pour le type II, morphologiquement identiques, qui bourgeonnent à partir du corps résiduel. Le mérozoïte de type II produit des gamétocytes (macrogamètes et microgamètes) (BOUZID, et al., 2013).

4.4.1 Les macrogamètes

Les macrogamètes sont de forme sphérique à ovoïde, ont une taille comprise entre 4 et 6 μ m, ils se reconnaissent grâce à la présence de large granules d'amylopectine qui les différencient des trophozoïtes, par un grand noyau en position central et une vacuole (VALIGUROVA, et al., 2008).

4.4.2 Les microgamètes

Les microgamontes ont presque la même forme que les mérontes, ils sont rarement observés à cause probablement de leur vie brève, ils contiennent de petits noyaux, de forme allongée avec une extrémité antérieure aplatie. Les microgamontes renferment 14 à 16 microgamètes aflagellés et un corps résiduel central (VALIGUROVA, et al., 2008).

5 Cycle de développements

Le cycle biologique du parasite est monoxène, il ressemble à celui des coccidies, avec une phase sexuée et une phase asexuée. Le cycle complet peut se décliner en 6 parties (BOUZID, et al., 2013) :

- ✓ Le « dékystement » des oocystes
- ✓ La mérogonie
- ✓ La gamétogonie
- ✓ La fécondation
- ✓ La formation de la paroi de l'oocyste nouvellement formé
- ✓ La sporogonie

Les oocystes une fois dans la lumière intestinale de l'hôte, libèrent leurs quatre sporozoïtes « dékystement » qui peut être déclenché par différents facteurs, tels que la température, le CO₂, la présence d'enzymes digestives et de sels biliaires (LENDNER & DAUGSCHIES, 2014). Les sporozoïtes se fixent à la bordure en brosse des entérocytes et pénètrent la cellule hôte par invagination de la membrane plasmique par leur extrémité apicale.

Les sporozoïtes s'internalisent dans un compartiment issu de l'hôte dénommé vacuole parasitophore séparé du cytoplasme par une membrane plasmique. Ces derniers se développent en trophozoïtes sphériques et entrent en reproduction asexuée (mérogonie) pour former des mérontes de type I, composé de huit mérozoïtes. Chaque mérozoïte de type I envahit la cellule épithéliale voisine. Ces mérozoïtes de première génération peuvent, soit se recycler pour donner de nouveaux mérozoïtes de même génération, soit se développer en mérontes de deuxième génération. (BENFERHAT & MERAHI, 2006)

Le cycle continue, les mérozoïtes de type II se différencient en deux formes sexuées les microgamétocytes mâles et les macrogamétocytes femelles. La fusion de ces deux derniers donne un zygote.

Ce zygote diploïde subit la sporogonie, s'entoure d'une paroi contenant quatre sporozoïtes haploïdes. Cette étape donne naissance à deux types d'oocystes :

- ✓ Des oocystes à paroi mince (auto-infection)
- ✓ Des oocystes à paroi épaisse (permet la résistance de parasite dans l'environnement jusqu'à l'infection de nouveaux hôtes) (LEITCH & HE, 2011).

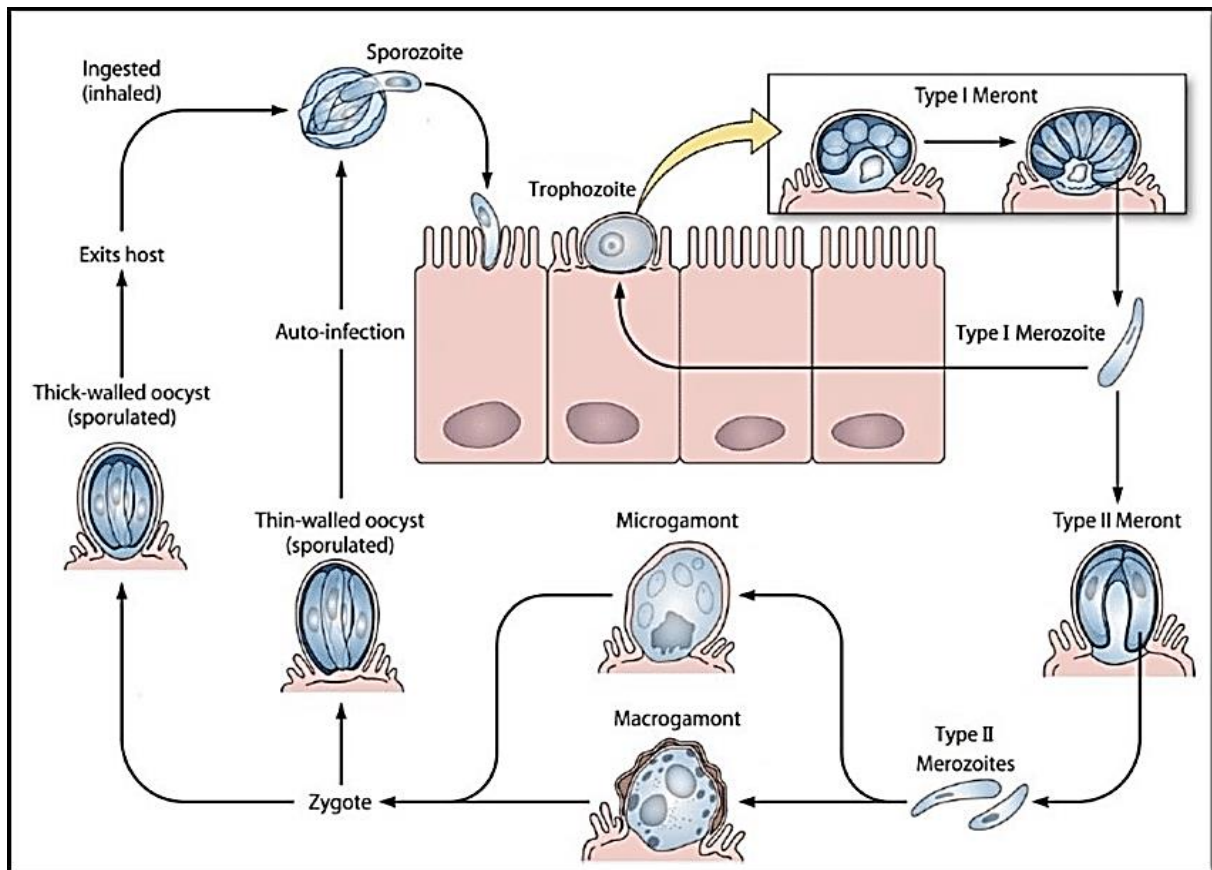


Figure 5: Cycle de vie de *Cryptosporidium* (KUBINA, 2021)

6 La résistance du parasite

La forme du parasite responsable de la transmission est l'oocyste que l'on trouve dans les selles et dans l'environnement. Il peut survivre plusieurs mois l'eau et même dans les sols à des températures comprises entre 0 et 30°C. L'oocyste possède une paroi épaisse, qui explique sa survie prolongée et sa résistance aux produits de désinfection usuelle, dont l'eau de Javel, l'alcool, chlore, l'ammoniaque et l'aluminium utilisé pour la floculation dans le traitement primaire de l'eau (DEROUIN, et al., 2020).

7 Caractères biologique des oocystes favorisant la transmission

- ✓ Les dispositifs de filtration peuvent laisser passer les oocystes grâce à la petite taille de ceux-ci.
- ✓ Résistance au chlore.
- ✓ Résistance dans l'environnement (plusieurs mois selon les conditions).
- ✓ Le nombre important de réservoir animaux en particulier les bovins.
- ✓ Leur caractère sporulé dès l'élimination permet une contamination directe des hôtes sensibles (BONNIN, et al., 2006).



Chapitre II
La cryptosporidiose

1 Définition

La cryptosporidiose est une infection gastro-intestinale (entérites, diarrhée) ou respiratoires (toux, dyspnée, sinusite) causée par des protozoaires intracellulaires du genre *Cryptosporidium* qui parasite les cellules épithéliales de tube digestive ou de l'appareil respiratoire de l'homme des animaux (veau, chevreaux, porcelet...) (BENFERHAT & MERAHI, 2006).

Il s'agit d'une zoonose transmise par le chemin féco-oral, c'est l'une des maladies hydriques trouvé partout dans le monde (BENFERHAT & MERAHI, 2006).

2 Populations affectées

2.1 Les immunocompétents

La cryptosporidiose peut être asymptomatique ou peut se manifester par une diarrhée spontanément résolutive, la durée et la sévérité des symptômes cliniques traduisent l'état immunitaire du patient, la plupart des personnes ayant une forte immunité sont capables de réagir rapidement et d'éliminer la maladie en une à deux semaines (BENAMROUZ-VANNESTE, et al., 2020)

2.2 Les enfants

L'immaturation du système immunitaire des enfants et leur comportement peu hygiénique est la raison de leur sensibilité à la cryptosporidiose. Cette infection atteint généralement les enfants très jeunes, âgés entre 1 et 5 ans, elle représente 20% des cas de diarrhées dans cette catégorie d'âge dans les pays en voie de développement. En revanche, les enfants qui fréquentent une garderie ou participent à des activités scolaires et parascolaires, telles que des visites dans des fermes pédagogiques, sont les plus à risque de développer une cryptosporidiose dans les pays développés. La gravité de la maladie dans ce groupe d'âge n'est en aucun cas négligeable (GRIFFITHS, 1998 ; PUTIGNANI & MENICHELLA, 2010)

2.3 Les immunodéprimés

La cryptosporidiose, en tant que maladie opportuniste, se produit habituellement chez les patients présentant moins de 150 lymphocytes CD4+/mm³ (NAVIN & JURANEK, 1984), sa durée et sa sévérité chez les immunodéprimés (malnutrition, infection par le VIH, cancer, etc.), est fonction du niveau de leur immunosuppression. Les réponses immunitaires jouent un rôle important dans la résolution et la défense contre cette infection. L'infection par *Cryptosporidium* peut devenir chronique chez les immunodéprimés, tant que l'immunodépression est maintenue (MARCOS & GOTUZZO, 2013).

Pour les personnes VIH+ et les patients transplantés d'organes solides, la cryptosporidiose se traduit généralement par des diarrhées fréquentes, aqueuses, volumineuses et sévères (corrélée au nombre de lymphocytes T CD4+) conduisant à une déshydratation très importante avec un grand risque de mortalité (MARCOS & GOTUZZO, 2013).

Dans certains cas, une dissémination de l'infection vers d'autres organes a lieu, par exemple, vers le foie, la vésicule biliaire, le pancréas et même vers l'arbre respiratoire (FAYER, *Cryptosporidium* : A water- borne zoonotic parasite, 2004)

3 Pathogénie

La pathogénicité est définie comme étant les compétences qu'un micro-organisme pourra avoir pour causer des dommages au niveau de son hôte. La virulence, quant à elle, est utilisée pour décrire la capacité de l'agent pathogène à se multiplier.

La pathogénicité et la virulence des *Cryptosporidium* sont complexes et multifactorielles, elles dépendent de l'espèce et de l'hôte infecté (KUBINA, 2021).

3.1 Pouvoir pathogène de *Cryptosporidium*

Des études récentes ont montré que *Cryptosporidium* perturberait les échanges ioniques, notamment du sodium et du chlore, au niveau de l'épithélium grêle. Une étude américaine du début de l'année 1996 montre une inhibition nette de l'absorption de l'ion sodium (Na⁺) et une augmentation importante de la sécrétion de l'ion Cl (FERRAZZI, 1996)

Il apparaît que plus l'intestin est lésé, plus la pathogénie de *Cryptosporidium parvum* est importante. Les patients n'ayant pas beaucoup de dommages au niveau de l'intestin grêle apparaissent plus résistants (FERRAZZI, 1996).

Le fort pouvoir infectieux de *Cryptosporidium* est confirmé après une étude expérimentale sur des volontaires ayant eu une primo-infection, ils ont été ré-infectés par la même souche un an plus tard les individus ont excrété moins d'oocystes par rapport à leur première infection mais les taux d'épisodes diarrhéiques ainsi que l'apparition et la durée de ces diarrhées étaient similaires (CHALMERS & DAVIES, 2010)

3.2 Facteurs de virulence

Cryptosporidium possède des caractéristiques spécifiques afin d'assurer sa survie au sein de son hôte, qui peuvent être caractérisées de facteurs de virulence. Ces facteurs peuvent affecter l'hôte à tout moment au cours de son cycle de vie, à partir du moment où le parasite rentre dans l'organisme jusqu'à ce qu'il soit tué ; ou termine son cycle et quitte l'hôte (BOUZID, et al., 2013).

3.3 Facteur de risque

Les facteurs de risque diffèrent entre *C. parvum* et *C. hominis*. Etre en contact avec les personnes déjà infecté ou bien voyager dans des zones où *Cryptosporidium* survit c'est un risque d'infection par *C. hominis*, alors qu'être infecté par *c. parvum* vient du contact avec des animaux affectés (jeunes veaux, en particulier).

Le facteur de risque d'infection pour les formes graves (personnes à VIH/SIDA) par *Cryptosporidium* est plus élevé, la susceptibilité à l'infection étant croissante avec la diminution du taux de lymphocytes CD4 sanguins (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).

4 Transmission

Cryptosporidium sp peut être transmis à l'homme par les oocystes sporulés et infectieux dès leur excrétion fécale, présents dans l'eau, sur les végétaux ou dans l'environnement par différentes voies de manière directe ou indirecte.

4.1 Transmission de l'animal à l'homme (zoonotique)

C'est le mode de transmission principal de la cryptosporidiose. Des cas de cryptosporidiose sont observés chez les éleveurs et les visiteurs de fermes, visite, professionnelles (vétérinaires...) ou récréatives pour le grand public (fermes pédagogiques) (ALLALOU & YACOUB, 2015). Le contact avec les animaux d'élevage, tels que les veaux, les porcs, les chèvres ou les moutons (principaux réservoirs du parasite) ou les animaux domestiques comme les chats, chiens et les rongeurs (moins impliqués) constitue le principal mode de contamination de l'homme (FERRAZZI, 1996).

4.2 Transmission interhumaine

L'infection peut se transmettre d'une manière imprévisible d'une personne infectée à une personne saine, Elle est illustrée par des épidémies au niveau des crèches et des orphelinats, ceci s'explique par l'hygiène limitée des enfants. Aussi au sein des institutions de soins, la cryptosporidiose se transmet de malades à médecins (risque nosocomial), cela est lié à l'excrétion fréquente d'oocystes par les patients infectés, et par la fréquence des porteurs. La transmission au sein des familles dont l'un des membres est atteint est possible (BONNIN, et al., 2006 ; CORDEL & ADDIS, 1994).

Des observations ont été rapportées chez des nouveaux nés de mères infectées, et cela est attribué à une contamination lors de l'accouchement. Mais aucun passage transplacentaire n'est prouvé (BENFERHAT & MERAHI, 2006)

4.3 Transmission hydrique

Ce mode de transmission est aujourd'hui reconnu responsable de la plupart des épidémies de cryptosporidiose humaine. A ce jour, pas moins de 165 épidémies ont été répertoriées, majoritairement dans les pays développés. Dans les pays en voie de développement où la surveillance de la qualité des eaux est absente, le nombre d'épidémies est très certainement sous-estimé (PUTIGNANI & MENICHELLA, 2010 ; TZIPORI & WIDMER, 2008), parmi elles, la plus importante en nombre de cas est l'épidémie de Milwaukee (Wisconsin).

Les oocystes de *Cryptosporidium* peuvent contaminer les sources d'eau superficielles et souterraines ainsi que les eaux de distribution publique. La résistance de ces oocystes au chlore et leur petite taille expliqueraient l'inefficacité des moyens de traitement des eaux (FERRAZZI, 1996).

Il est évident que l'eau, dans son état naturel dans l'environnement ou après avoir subi des traitements, représente un des réservoirs de *Cryptosporidium*, tous les techniques de désinfection usuelle dans les stations d'épurations des eaux en Algérie ne permettent pas l'élimination des microorganismes dans l'eau. De plus, la contamination est possible après des baignades en eaux douces récréatives (lacs) même chlorées et correctement traitées (cas des piscines) ou même par des eaux à usage domestique (BONNIN, et al., 2006).

Rose et al. En 1991 ont démontré que 55 % de 257 échantillons d'eau de surface prélevés aux États-Unis étaient contaminés, d'une moyenne de 43 oocystes/100 L. Dans une étude similaire, Le Chevallier et al. ont analysé 66 échantillons d'eau de surface servant à approvisionner des usines de production d'eau potable dans le Nord-Est étasunien, leurs résultats ont démontré que 87 % des échantillons d'eau brute étaient contaminés, avec une moyenne géométrique de 270 oocystes/100 L. Au Canada, en 1996 Wallis et al. Rapportent un taux de contamination assez faible, soit 5 % des 1 760 échantillons prélevés dans le territoire de 72 municipalités (nombre d'oocystes non précisé).

Cette contamination hydrique est devenue un problème de santé publique et sa maîtrise est devenue un grand défi pour les usines de productions d'eau potable (ALLALOU & YACOUB, 2015).

4.4 Transmission alimentaire

La contamination par tout aliment souillé est possible, soit par le lait, les jus de fruits par défaut de pasteurisation. Aussi par les fruits et légumes (surtout les crudités). Cette transmission est liée d'une manière générale à un défaut dans le traitement de l'aliment ou bien dans l'eau utilisée pour l'arrosage et le lavage, l'absence de lavage des crudités, la

mauvaise hygiène des mains au cours de la préparation / manipulation des aliments (BONNIN, et al., 2006).

4.5 Transmission aérienne

Ce mode de transmission directe joue un rôle non négligeable dans la propagation des oocystes de *C. parvum* trouver en suspension dans d'air suite à l'expectoration du sujet malade mais les cas restent sporadiques ou endémiques (MORIN, 2002).

5 Clinique

Les symptômes et la gravité de la cryptosporidiose varient selon le statut immunitaire et l'âge de chaque personne, en fonction de la nature des espèces infectantes de *Cryptosporidium*, en particulier entre *C. hominis* et *C. parvum*, le premier étant plus virulent (KUBINA, 2021). Généralement cette infection se manifeste par une diarrhée, parfois crampes abdominales, nausées, vomissements, perte de poids, fièvre, anorexie et fatigue. La petite enfance (enfants de moins de 4ans) et les personnes âgées sont les plus menacées par la cryptosporidiose. Chez les individus immunocompétents, l'infection peut être symptomatique ou non ; dans le premier cas elle s'apparente à une gastroentérite aiguë (3 à 6 selles par jours), dans l'autre cas elle est spontanément résolutive (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).

Chez les patients immunodéprimés, malnutrition, infection par le VIH ou cancer, une diminution des lymphocytes T CD4+ est associée à un risque accru de développer une cryptosporidiose. Dans cette situation, l'infection peut devenir chronique tant que l'immunodépression persiste (MARCOS & GOTUZZO, 2013).

Suite aux diarrhées aqueuses et prolongées, l'infection conduit a la déshydratation très importante de sujet immunodéficient. Des complications peuvent toucher l'appareil respiratoire provoquant une toux productive et une dyspnée, parfois les complications peuvent atteindre le pancréas, les voies biliaires entraînant une cholangiopathie, cette forme peut se caractériser par de la fièvre, des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements, des diarrhées et un ictère (MARCOS & GOTUZZO, 2013 ; HUNTER & NICHOLS, 2002).

Il a été signalé que *C. hominis* est plus souvent associé à des douleurs oculaires et articulaires, des céphalées et de la fatigue que *C. parvum* (CAMA, et al., 2007) . Des corrélations ont également été observées entre différents génotypes et sous-génotypes de *Cryptosporidium* et les manifestations cliniques (CERTAD, et al ., 2017).

6 Epidémiologie

6.1 Prévalence

La prévalence mondiale est estimée à 7,6%. La plus forte prévalence est observée au Mexique (69,9%), au Nigéria (34%), au Bangladesh (43%) et en Corée (8%) (DONG, et al., 2020). L'Europe du Nord a l'incidence la plus élevée. L'Allemagne, les Pays-Bas et le Royaume-Uni représentent 71% des cas (ECDC, 2019).

6.2 Répartition géographique

Cryptosporidium est l'un des parasites intestinaux les plus répandus dans le monde. Actuellement, plus de 95 pays du monde entier ont déclaré une infection par ce parasite sauf l'Antarctique. Sa distribution, variée selon les régions de globe (très fréquentes dans les pays chauds et humides), et selon les différents espèces (*C. hominis*, *C. parvum*) (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).

Une étude réalisée dans les pays en voie de développement sur l'origine des diarrhées létales a montré que la cryptosporidiose chez les enfants est la deuxième cause de mortalité après le rotavirus (KOTTLOFF, et al., 2013).

La prévalence de la diarrhée a été récemment reconnu comme significative, dans les pays occidentaux selon un rapport de 2012 de l'ECDC, 1 à 2 % cas de diarrhées observées dans plusieurs pays européens sont dus à une infection par *Cryptosporidium* de même aux États-Unis, 0,4 à 1 % des cas de diarrhées sont dus au même parasite (KUHL, et al., 1994).

La majorité des infections humaines dans le monde (plus de 90% des cas) sont dus à *C. parvum* et *C. hominis*. A l'exception du Pérou et de la Thaïlande, où le taux d'infection à *C. meleagridis* est aussi élevé que celui à *C. parvum*. Aux États-Unis, au Canada, en Australie et au Japon, *C. hominis* est responsable d'un plus grand nombre d'infections que *C. parvum*. L'inverse est observé en Europe (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).

6.3 Epidémies

La cryptosporidiose est responsable de 0,6 à 7,3% des maladies diarrhéiques dans les pays où les conditions sanitaires sont mauvaises. Dans les premiers, la cryptosporidiose est apparue comme la deuxième cause de mortalité par diarrhée chez les enfants africains et indiens âgés de 12 à 24 mois (KOTTLOFF, et al., 2013).

Aux États-Unis de 2009 à 2017, 444 épidémies de cryptosporidiose ont été signalées. Le nombre de foyers rapportés a augmenté en moyenne de 13% par an (CHARPURE, et al., 2019).

La plus importante épidémie fut celle de Milwaukee en 1993, dans le Wisconsin, plus de 400 000 personnes ont été touchées lors d'une épidémie d'origine hydrique, conduisant au décès d'environ de 54 personnes (MAC KENZIE, et al., 1994).

7 Diagnostic

Le diagnostic repose au départ sur une mise en évidence du *Cryptosporidium* dans les tissus intestinaux par une biopsie endoscopique. Mais depuis 1980 de nouvelles et de nombreuses méthodes de concentration, de coloration et de détection ont été développées (DELUOL, 1988), permettant l'identification d'oocystes dans les selles après élimination (3jours plus tard), cette élimination peut être intermittente, ce qui justifie la répétition des examens (trois contrôles successifs) et l'utilisation de méthodes de concentration.

Cette identification se fait de manière générale dans les selles diarrhéiques, mais on peut même les trouver dans les selles molles ou moulées, occasionnellement dans le liquide vésiculaire, les crachats, le liquide d'aspiration et très rarement dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) (FERRAZZI, 1996).

7.1 Diagnostic microscopique

7.1.1 Diagnostic direct

Le diagnostic de la cryptosporidiose est avant tout microscopique, par la mise en évidence des oocystes dans les selles. On peut également les rechercher sur des biopsies duodénales (apposition), dans le liquide biliaire (culot de centrifugation), voire dans les expectorations induites et les LBA (cyto-centrifugation) en cas de suspicion de localisation broncho-pulmonaire, (localisation exceptionnelle et en principe associé à une cryptosporidiose intestinal) (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).

7.1.2 Techniques de colorations après concentrations

7.1.2.1 Techniques de concentrations

Les méthodes de concentration FEA (Acétate D'éthyle Formol) et Ritchie permettent l'augmentation de la sensibilité des éléments parasitaires et de définir le nombre minimum d'oocystes pouvant être détectés dans les prélèvements (FERRAZZI, 1996).

7.1.2.1.1 Description de la méthode de concentration au FEA

- Prendre 4 ml d'une suspension de selles fécales fixées par le formol ou 8 ml d'une telle suspension de selles aqueuses.
- Laver par de l'eau désionisée à travers une gaze humidifiée dans des tubes coniques de centrifugation.
- Centrifuger à 500 g pendant 2 minutes.

- Récupérer le sédiment que l'on remet en suspension dans 09 ml de formol à 10% et 3 ml d'acétate d'éthyle.
- Agiter vigoureusement pendant 30 secondes.
- Centrifuger de nouveau à 500 g pendant 2 minutes.
- Récupère 4 phases qui sont de haut en bas :
 - ✚ Acétate d'éthyle
 - ✚ Débris fécaux
 - ✚ Formol
 - ✚ Sédiment
- Récupère le sédiment qui contient les oocystes concentrés (FERRAZZI, 1996).

7.1.2.1.2 Description de la méthode de Ritchie

Cette technique permet d'augmenter la sensibilité de la recherche de formes kystiques ou d'œuf

Les formes végétatives ne peuvent plus être mises en évidence après concentration (ANONYME, Technique de concentration de Ritchie).

La méthode de Ritchie présente un double avantage

- ❖ Concentration des oocystes.
- ❖ Protection du manipulateur. (FERRAZZI, 1996)

7.1.2.2 Méthodes de colorations

7.1.2.2.1 Coloration de Ziehl-Nielsen modifiée par Henriksen et Pohlenz

Cette coloration est la plus utilisée, Toutes ses étapes doivent être réalisées dans des bacs à coloration sous hotte. Les colorants doivent être changés tous les mois, l'acide sulfurique à 2 % tous les quinze (15) jours et évacués en tant que déchet dans des containers spécifiques (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012)

La lecture de la lame, s'effectue à l'objectif 40, le diagnostic est confirmé à l'objectif 100 à l'huile d'immersion. Les oocystes de cryptosporidies apparaissent en rouge sur fond vert ou bleu. Ils mesurent 5 à 6 µm de diamètre, contiennent des granulations noires et présentent souvent une vacuole qui apparaît comme une zone plus claire. Lorsque les oocystes contiennent des sporozoïtes, les oocystes n'ont plus de vacuole visible, sont plus faiblement colorés et sont ainsi moins repérables, d'où la nécessité d'effectuer la lecture à l'objectif 40. Lorsque les selles sont au préalable concentrées par une technique utilisant de l'éther, les oocystes sont plus fréquemment retrouvés en périphérie du dépôt sur la lame. Cette technique

permet aussi de diagnostiquer les oocystes de *Cyclospora sp* et d'*Isospora belli* (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).

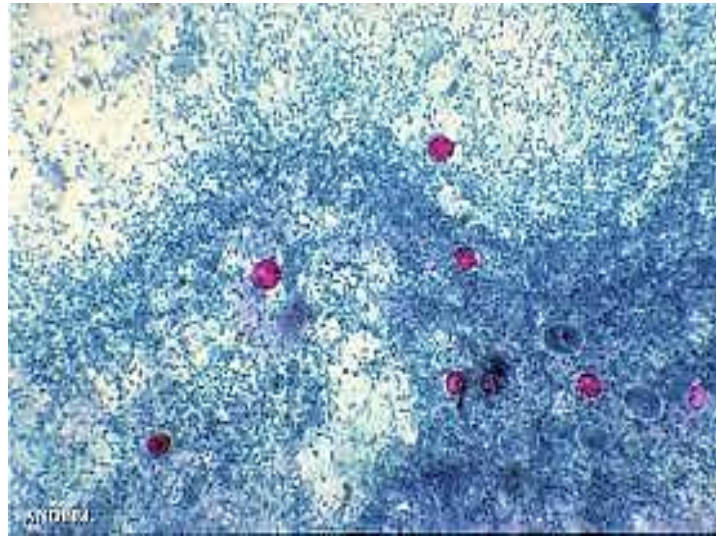


Figure 6: Oocystes de *Cryptosporidium* après coloration Ziehl-Neelsen modifiée. (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012)

7.1.2.2.2 Coloration à l'auramine phénol

La lecture des lames s'effectue en microscope à fluorescence. Cette technique est sensible, non spécifique, mais elle permet de mieux dénombrer les oocystes contenant des sporozoïtes ou des oocystes vides. La fluorescence aspécifique peut être vérifiée en recolorant la même lame avec la technique de Ziehl-Neelsen.

Cette coloration confère une fluorescence jaune-verte aux oocystes de *Cryptosporidium* sous l'effet des rayons ultraviolets, en laissant le fond noir.

L'utilisation de la technique L'auramine est limitée à cause d'utilisation de produits toxiques (auramine, phénol); elle est cependant classée dans la catégorie 2B, comme agent potentiellement cancérigène pour l'homme, de la classification du centre international de recherche sur le cancer (CIRC) (GUYOT, et al., 2012 ; ALLALOU & YACOUB, 2015).

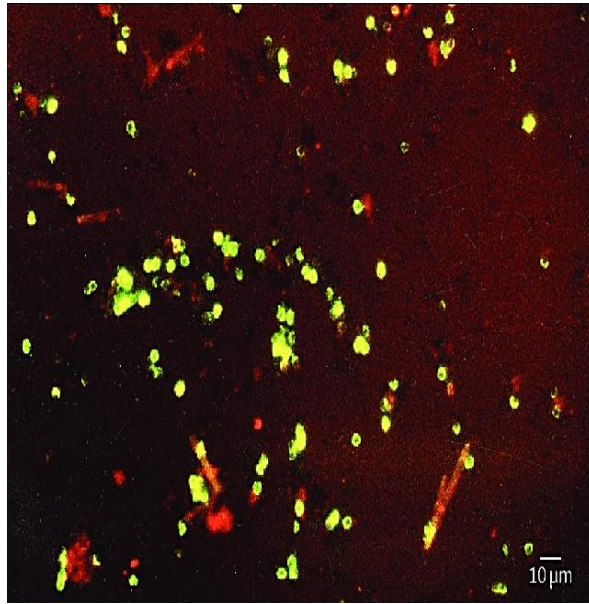


Figure 7: Oocystes de *Cryptosporidium spp* colorées à l'auramine-phénol, présentant un motif de coloration caractéristique des érythrocytes Coupe d'un champ de grossissement $400\times$ (JOHANSEN, et al., 2020).

7.1.2.2.3 Coloration de KINYOUN

C'est une coloration alternative à celle de Ziehl-Neelsen, utilisée pour la mise en évidence des mycobactéries. Les mycobactéries apparaissent roses pâles sur un fond bleu (ANONYME, Coloration de Kinyoun).

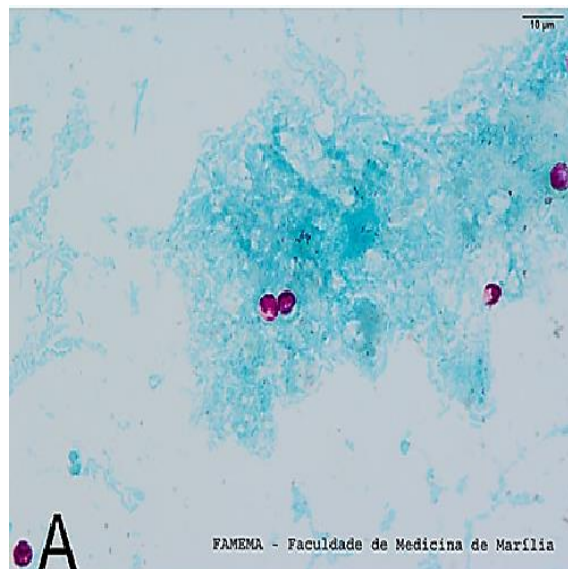


Figure 8 : Oocystes de *Cryptosporidium spp* dans les fèces, colorées par la méthode de Kinyoun. (RIBEIRO, et al., 2016)

7.1.2.2.4 Immunofluorescence

Cette technique de coloration est caractérisée par sa grande spécificité et aussi grande sensibilité, mais elle est très coûteuse, est uniquement utile dans les laboratoires faisant beaucoup de recherches de *Cryptosporidium*, nécessite l'utilisation d'un microscope à fluorescence (FERRAZZI, 1996). Elle repose sur l'identification des oocystes par un anticorps monoclonal et une révélation par la fluorescence. Ils sont pratiqués sur lame, sur un dépôt de matières fécales ou après concentration (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).

Cet anticorps monoclonal dirige contre des épitopes spécifiques de la paroi des oocystes de *Cryptosporidium* est révélé par un conjugué fluorescent donnant une fluorescence verte périphérique en cas de positivité du prélèvement (ALLALOU & YACOUB, 2015).

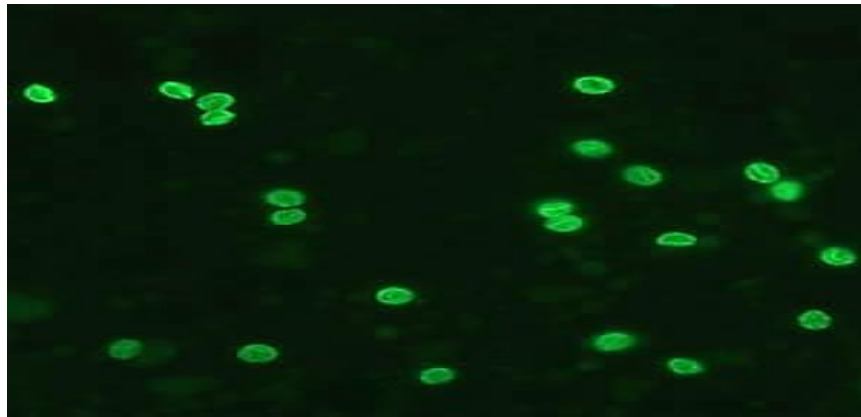


Figure 9: Oocystes de *Cryptosporidium parvum* observés par la méthode d'immunofluorescence direct (PRINT, 2019)

7.1.2.2.5 Technique de Heine

Il s'agit d'une technique plus rapide et sensible que la coloration de Ziehl-Neelsen, décrite par le Dr Heine en 1982, elle repose sur les propriétés réfringentes des oocystes, elle est cependant peu utilisée. Il consiste à :

- Mélanger sur une lame 3 µl de selles à 3 µl de fuchsine de Ziehl.
- Réaliser un frottis.
- Laisser sécher à l'air.
- Mettre de l'huile à immersion puis couvrir avec une lamelle.
- Regarder au contraste de phase à l'objectif 40.

Les oocystes apparaissent alors très réfringents, les structures internes, plus ou moins colorées en rouge, légèrement foncées. Cette technique ne permet pas l'archivage des lames ou la relecture de la lame au-delà de 15 minutes à frais et 30 minutes en présence de formol,

elle est plus souvent réservée au domaine vétérinaire (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).

7.2 Le diagnostic sérologique (la recherche de coproantigènes)

C'est une technique permettant la détection d'antigènes parasitaires dans les selles, elle repose sur un principe d'immunocapture, elle est spécifique, mais d'une faible sensibilité (de 50 et 87% pour *C. parvum* et *C. hominis* et a moins de 35% pour les autres espèces de *Cryptosporidium*) (ALLALOU & YACOUB, 2015)

Les tests ELISA sont surtout utilisés pour les enquêtes de masse et très peu dans les laboratoires d'analyses, qui traitent de petits échantillons. Pour diagnostiquer la cryptosporidiose, ces techniques ne doivent pas être utilisées en première intention (GARCIA & SHIMIZU, 1997)

7.3 Le diagnostic moléculaire

Décrite pour la première fois en 1986, il s'agit d'une technique de grande sensibilité et très complexe, elle est utilisée uniquement dans des laboratoires spécialisés ou de référence, la PCR (permet Polymérase Chain Reaction) de détecter et de rechercher l'ADN (Acide désoxyribonucléique) du *Cryptosporidium* dans les selles des patients contaminés et même l'identification de ses espèces et sous-espèces par analyse des fragments trouvés (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).

La technique de la réaction de la polymérase en chaînes (PCR) est coûteuse et prend beaucoup de temps comparativement aux autres techniques utilisées couramment (GOBET, et al., 1997).

Il est aussi possible de déterminer la viabilité des oocytes, puisque les oocystes vides ne sont pas fluorescents par la technique sensible nommé FISH (Hybridation fluorescente *in situ*) et il est aussi possible de développer et distinguer des sondes spécifiques d'espèce avec cette technique (ALLALOU & YACOUB, 2015).

8 Traitement

À l'heure actuelle, Les médicaments utilisés contre les protozoaires Apicomplexes se sont révélés inefficaces contre *Cryptosporidium*, peut être en raison de la localisation particulière du parasite dans la vacuole parasitophore. Plusieurs molécules ont une efficacité partielle, mais insuffisamment démontrée par des études contrôlées (EHRENMAN, et al., 2003).

8.1 Chez les immunocompétents

L'infection étant spontanément résolutive en moins de deux semaines chez ceux qui ne présentent pas de symptômes. Dans le cas contraire seul le traitement des symptômes est réalisé ; des antis diarrhéiques et une réhydratation (KUBINA, 2021).

8.2 Chez les immunodéprimés

Chez les immunodéprimés plusieurs molécules ont été testées comme l'azithromycine, paromomycine et nitazoxanide, ces molécules réduisent la fréquence et le volume des selles, ainsi qu'une diminution de l'excrétion d'oocystes, mais il n'élimine pas le parasite.

Chez les patients atteints de SIDA bénéficiant d'un traitement antirétroviral qui permet une reconstitution immunitaire à un effet sur le parasite, le risque de cryptosporidiose a été diminué de près de 96 % par l'utilisation d'inhibiteurs de protéase du VIH (indinavir, saquinavir et ritonavir) qui exercent une activité anticryptosporidienne (BENAMROUZ-VANNESTE, et al., 2020).

Tableau 3:Thérapeutiques décrites contre la cryptosporidiose (*CHECKLEY, et al., 2015*)

Molécules thérapeutiques	Statuts	Limites
Nitazoxanide	Approuvé pour le traitement de la cryptosporidiose du patient immunocompétent	<ul style="list-style-type: none"> • Efficacité de 56 à 96% chez l'hôte immunocompétent. • Pas efficace chez les patients atteints de SIDA à un stade avancé. • Coût élevé et disponibilité limité.
Paromomycine	Utilisation approuvé pour d'autres infections	<ul style="list-style-type: none"> • Efficacité limité chez les patients atteint de SIDA. • Aucunes données contrôlées dans les autres groupes
Azithromycine	Utilisation approuvé pour d'autres infections	<ul style="list-style-type: none"> • Pas efficace chez les patients atteints de SIDA à un stade avancé. • Peu e données d'efficacité chez les patients atteints du SIDA.

9 Prévention

9.1 Prévention individuelle

La prévention individuelle repose avant tout sur le respect de règles préventives de base (l'hygiène), plus particulièrement chez les patients immunodéprimés qui sont les personnes les plus exposées ; ces mesures permettent de réduire le risque de contamination.

- ✓ Laver les mains soigneusement avec de l'eau et de savon, la désinfection des mains avec de l'alcool ne semble pas suffisante pour lutter contre les cryptosporidies.
- ✓ Eviter la consommation des jus, du lait, du cidre de pomme non pasteurisé.
- ✓ Ne pas manger les aliments (fruits et légumes), lavés avec de l'eau souillée.
- ✓ Exclure les enfants souffrant d'une diarrhée dans les crèches jusqu'à leurs guérisons et bien désinfecter leurs jouets.
- ✓ Recommander l'utilisation de gants aux personnels travaillant dans les crèches, avant le changement des couches ou de linge ou d'objets souillés par les selles
- ✓ Eviter le contact avec les animaux (surtout les veaux âgés de moins de deux semaines) pendant les visites des fermes pédagogiques.
- ✓ Avertir les personnes exerçant certaines activités professionnelles : personnel de santé médical ou paramédical, vétérinaire, éleveur et personnel d'abattoir, du risque de contamination et d'importance des mesures d'hygiène.
- ✓ Informer les voyageurs du risque accru de diarrhée liée à la consommation d'eau non encapsulée ou d'aliment crus (huitres, moules) provenant d'une zone d'élevage non surveillée sur le plan microbiologique.
- ✓ Etre averti de la dangerosité des baignades dans des zones non surveillées (lacs, piscines, rivières)
- ✓ Donner une information sur le risque de contamination oro-fécale lors de certaines pratiques sexuelles (BONNIN, et al., 2006 ; GUYOT, et al., 2012).

9.2 Prévention collective

En vue de la grande résistance des oocystes de *Cryptosporidium*, la prévention collective se base avant tout sur le contrôle de la contamination environnementale et la protection des ressources en eau destinée à la consommation humaine.

Une surveillance microbiologique et parasitologique des ressources est nécessaire, Ceci s'appuie sur un traitement efficace des ressources d'eau (filtration des eaux de boisson) (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012).

Le système le plus efficace pour l'élimination des kystes est le filtre de robinet doté du système d'osmose inverse et signalé par la mention « 1 micron » ou encore testés et certifiés

par les standards NSF/ANSI n°53 ou 58 (FAYER & XIAO, Cryptosporidium and cryptosporidiosis, 2007).

En cas d'épidémie localisée de la maladie, les autorités sanitaires appellent habituellement la population à faire les recommandations d'hygiène individuelle (BENAOUDA & LOUKKAD, 2019).



Chapitre III
Matériel et méthodes

1 Matériel et méthodes

1.1 Présentation de cadre et lieu d'étude

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 9 ans (2014 – 2022).

1.2 Présentation des lieux de prélèvement

1.2.1 Le Centre de transfusion sanguine de Tizi-Ouzou

1.2.2 Les différents services du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou

1.2.2.1 Service de Pédiatrie

Des échantillons de selles d'enfants de moins de 7 ans qui présentent une diarrhée comme critère d'orientation.

1.2.2.2 Service des maladies infectieuses

Echantillons de selles de personnes sidéennes.

1.2.2.3 Service de gastro-entérologie

Echantillons de selles de personnes immunodéprimées traitées au niveau du service de gastro-entérologie.

1.2.2.4 Médecine interne

Des échantillons de selles ont aussi été prélevés sur des patients immunodéprimés et souffrants de diarrhée, traités au niveau du service de médecine interne.

1.3 Population de l'étude

L'ensemble de l'étude prospective comporte 56 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.

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

.

1.4 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%.

1.5 Matériel non biologique**1.5.1 Appareillage**

- ✓ Balance
- ✓ Centrifugeuse
- ✓ Microscope optique

1.5.2 Les réactifs

- ✓ Méthanol pur.
- ✓ Fuchsine basique.
- ✓ Phénol.
- ✓ Vert malachite.
- ✓ Bleu méthylène.
- ✓ Acide sulfurique.
- ✓ Éthanol absolu.
- ✓ Na Cl.
- ✓ Eau distillée.
- ✓ Formol 10%.
- ✓ Ether.

1.5.3 Autre matériel

- ✓ Verres à pieds.
- ✓ 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.
- ✓ Eprouvettes à 500ml.
- ✓ Des emboues.
- ✓ Une micro pipette Pasteur.
- ✓ Une pince.
- ✓ Boîtes de Pétrie.
- ✓ Bêcher.
- ✓ L'huile à immersion.
- ✓ Récipients propres.

1.6 Méthodes utilisées

Pour chaque selle, nous avons effectué :

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

1.6.1 Examen macroscopique

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

1.6.2 Examen microscopique

1.6.2.1 Examen directe

Cet examen à l'état frais à l'objectif 40, nous permet d'observer les éléments parasitaires présents. Mais ne nous permet pas l'identification des *Cryptosporidium* identique aux levures.

➤ Préparation de l'eau physiologique

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

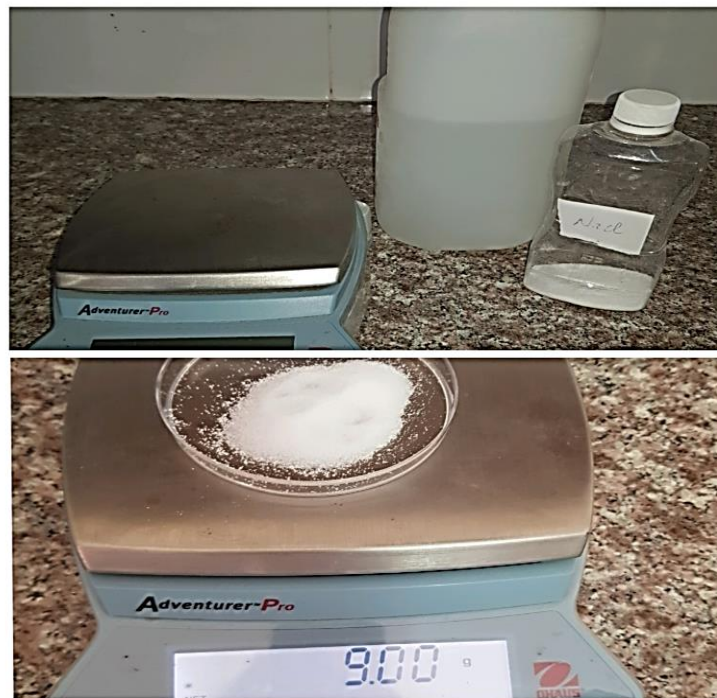


Figure 10:Préparation de l'eau physiologique (FERHAT & KHEROUS, 2023).

Examen directe :

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

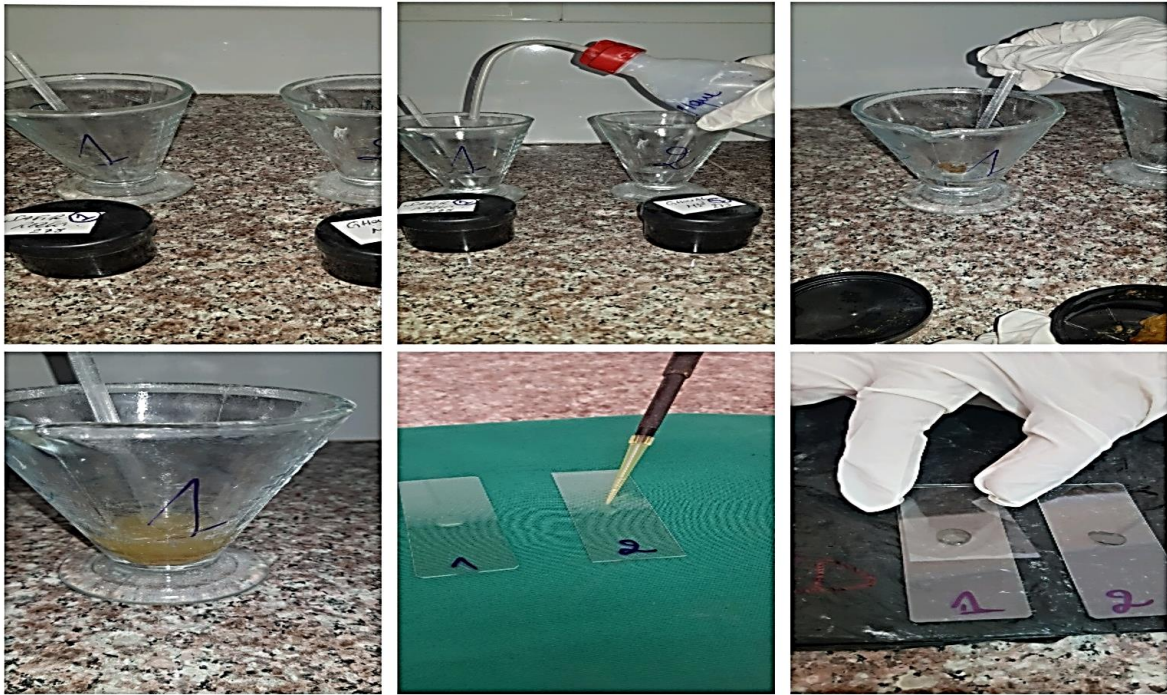


Figure 11:Étapes de l'examen direct (FERHAT & KHEROUS, 2023)

1.6.2.2 **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 Zeihl-Neelsen et Kinyoun.

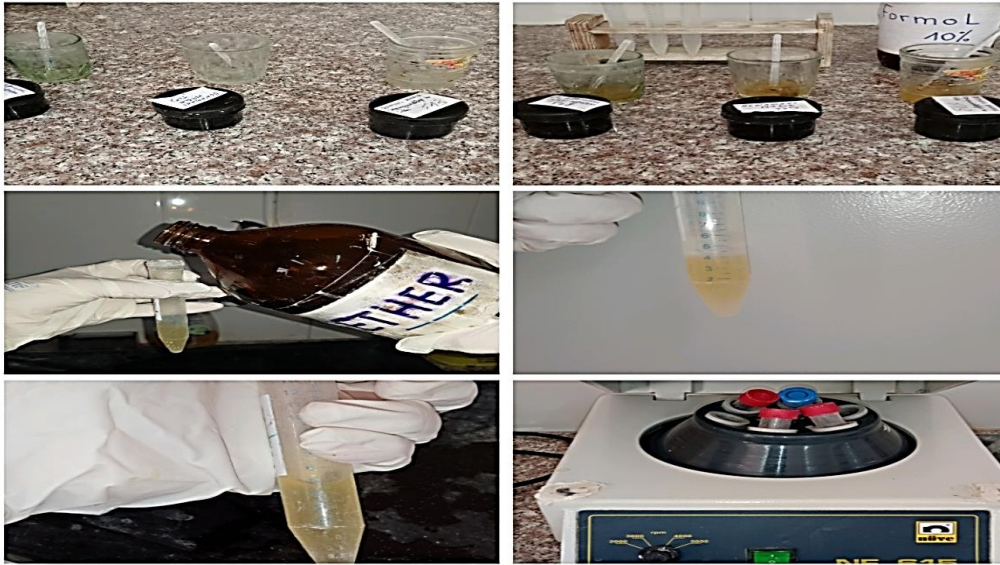


Figure 12: Etapes de la technique de concentration Ritchie (FERHAT & KHEROUS, 2023)

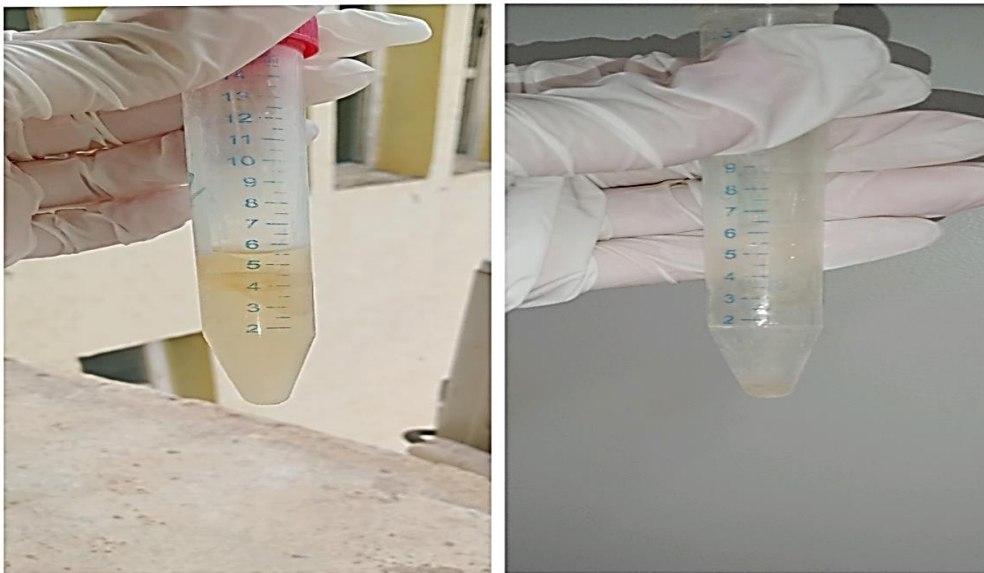


Figure 13: Les quatre phases obtenues après technique de concentration de Ritchie (FERHAT & KHEROUS, 2023)

1.6.2.3 Réalisation du frottis

- A l'aide d'une micropipette on prend une goutte du culot.
- On met cette goutte sur une lame porte objet
- A l'aide d'un embout on étale bien la goutte.
- Laisser sécher à l'air libre.
- Fixer avec le méthanol pendant 5 min.
- Sécher de nouveau

- Puis la colorer avec une coloration Ziehl-Neelsen modifiée et KINYOUN.

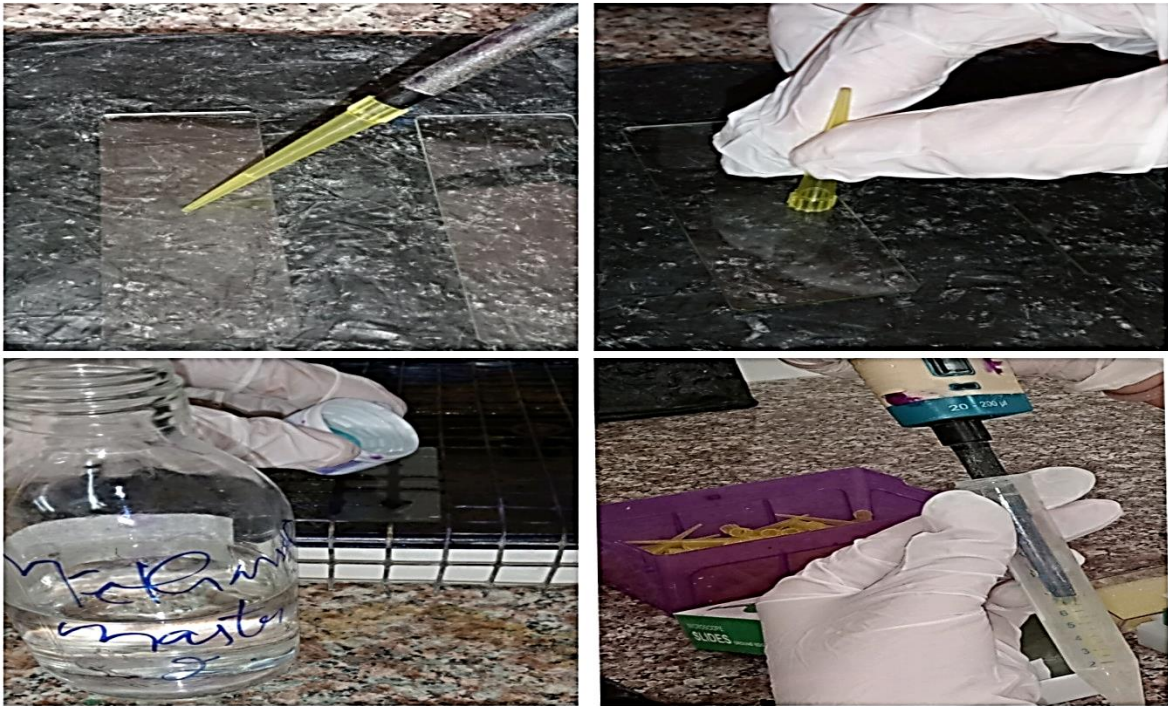


Figure 14: Etapes de réalisation d'un frottis (FERHAT & KHEROUS, 2023).

1.6.2.4 Les Colorations

1.6.2.4.1 Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz

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

- Colorer la lame fixée 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 15: Etapes de réalisation de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (FERHAT & KHEROUS, 2023).

1.6.2.4.2 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 16:Étapes de réalisation de coloration de Kinyoun (FERHAT & KHEROUS, 2023).

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% :

- 5g vert de malachite oxalate.
- 100ml d'eau distillée.

Acide sulfurique à 2% :

- Dilution de l'acide sulfurique 95%

La lecture

Le diagnostic est dit positif, quand les oocystes de *Cryptosporidium sp.* apparaissent en rouge-vif sur un fond vert (vert malachite) ou bleu (bleu de méthylène), ils se présentent sous forme d'éléments arrondis de 5 à 8 µm de diamètre et renfermant de grosses granulations noirâtre (BELKAID, et al., 1992). Il est dit négatif quand aucun oocyste n'est visualisé après observation de 100 champs microscopiques. (KHELEF, et al., 2007)

A decorative horizontal border with a scroll-like appearance, featuring rounded ends and a slight shadow effect.

Chapitre IV
Résultats et discussion

1 Résultats

1.1 Etude prospective

Tableau 4: Nombre de cas étudié selon différents services

Service	Positif	Négatif	Total
Extérieur	0	14	14
Gastro	0	6	6
Hématologie	0	3	3
Infectieux	1	10	11
MI	0	5	5
Néphrologie	0	4	4
Pédiatrie	0	13	13
Total	1	55	56

Sur 56 échantillons examinés, un seul cas de cryptosporidiose a été diagnostiqué sur un malade du service infectieux (malade VIH+).

Présentation de cas observé

Patient : Mr. H.S

Age : 29ans

Sexe : Masculin

Région : Bouira

Clinique :

- Patient sidéen.
- Présence des filaments mycéliens.
- Atteint de leishmaniose cutanée.

Symptômes :

- Diarrhées aqueuses (05 selles par jour).
- Douleurs abdominales.
- Présence de glaire dans les selles.
- Amaigrissement.

Traitement :

Traitement de la cryptosporidiose avec FLAGYL® plus une réhydratation et aucun traitement contre le SIDA.

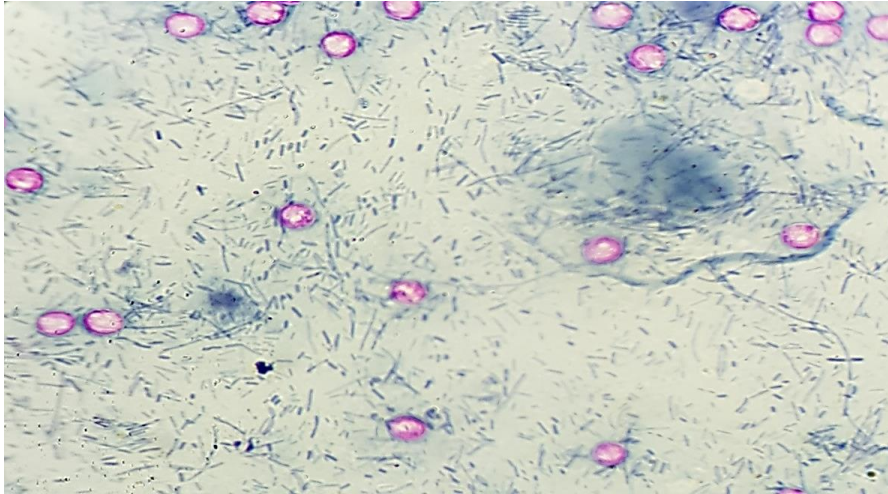


Figure 17: Les oocystes de *Cryptosporidium* sous microscope optique après la coloration de Zeihl-Neelsen modifiée au grossissement x100 (FERHAT & KHEROUS, 2023).

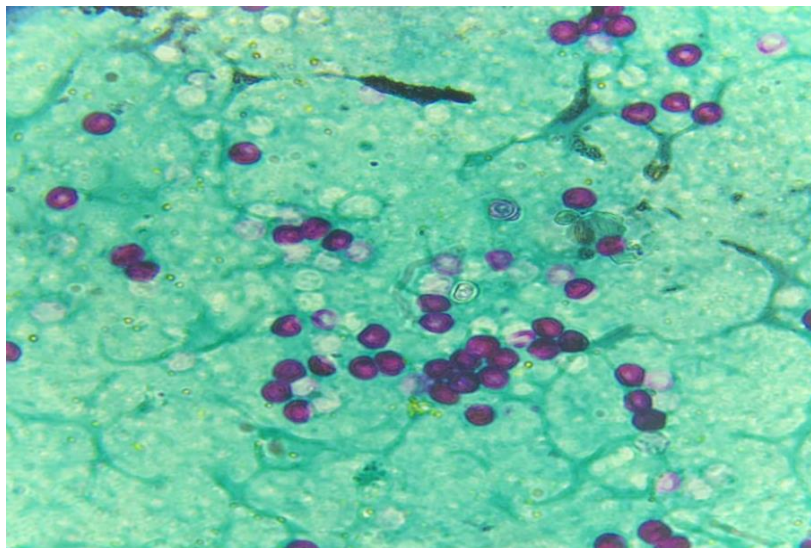


Figure 18: Oocystes de *Cryptosporidium* sous microscope optique après la coloration de Kinyoun au grossissement x100.

1.2 Etude rétrospective

Nous avons traité les dossiers de 215 patients au niveau du laboratoire de parasitologie et mycologie du CHU de Tizi-Ouzou sur une période de 9 années (2014 – 2022). 23 patients sont révélés positifs.

1.2.1 Répartition des patients selon différents services

Tableau 5: Répartition des patients étudiés selon les services.

Services	Positif	Négatif	Total
Externe	1	41	42
Gastro	1	2	3
Hématologie	0	15	15
Infectieux	10	46	56
MI	6	51	57
Néphrologie	1	9	10
Pédiatrie	4	25	29
Réanimation	0	3	3
Total	23	192	215

La répartition de l'ensemble des patients infectés par la cryptosporidiose selon les différents services est représentée dans la figure ci-dessous (fig. 19) :

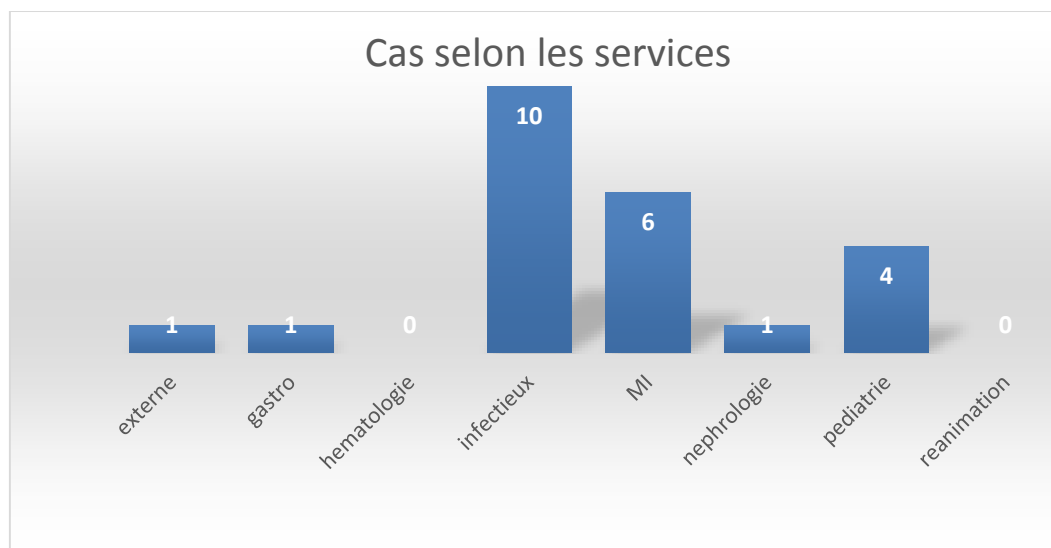


Figure 19: Répartition de *Cryptosporidium* selon les services.

On peut constater que c'est le service des maladies infectieuses qui présente le plus grand nombre malade parasités par *Cryptosporidium* avec 10 cas d'infection, les services les moins touchés sont ceux de gastro-entérologie, et de néphrologie. Pour les patients externes, un seul cas positif sur 42 examinés. Tandis que les deux services réanimation et hématologie ne présente aucun cas (fig. 19).

1.2.2 Distribution des cas de cryptosporidiose selon le sexe

La répartition des cas de cryptosporidiose selon leur sexe est de 11.6% pour les patients de sexe masculin et 8.8% pour les patients de sexe féminin, cette différence n'est pas statistiquement significative ($p = 0.6$). (Tableau 6).

Tableau 6: Les taux des cas selon le sexe

Sexe	Positif	Négatif	Total	Taux de +
Homme	17	130	147	11,6%
Femme	6	62	68	8,8%
Total	23	192	215	10,7%

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

La distribution des cas de cryptosporidiose est consignée dans le tableau 7 et la figure 20 ci-dessous.

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

Classes d'âge	Positif	Négatif	Total	Taux+
classe 0-10	4	30	34	11,8%
classe 10-20	0	8	8	0,0%
classe 20-30	0	9	9	0,0%
classe 30-40	1	16	17	5,9%
classe 40-50	14	116	130	10,8%
>50	4	13	17	23,5%
Total	23	192	215	10,7%

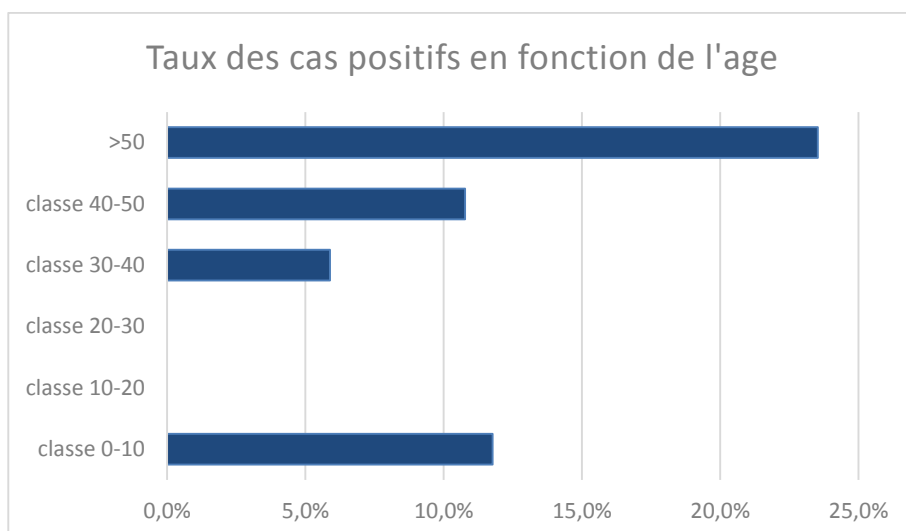


Figure 20 :Distribution des cas étudiés selon les tranches d'âge

Nous constatons d'après la figure 20 et le tableau 7 que la cryptosporidiose touche essentiellement les âges extrêmes : les enfants de moins de 10 ans et les personnes de plus de 50 ans.

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

Tableau 8: Frequence des cas étudiés de *Cryptosporidium* durant 9 ans depuis 2014

Année	Positif	Négatif	Total
2014	2	12	14
2015	6	24	30
2016	3	33	36
2017	2	66	68
2018	3	7	10
2019	2	14	16
2020	3	7	10
2021	0	14	14
2022	2	15	17
Total	23	192	215

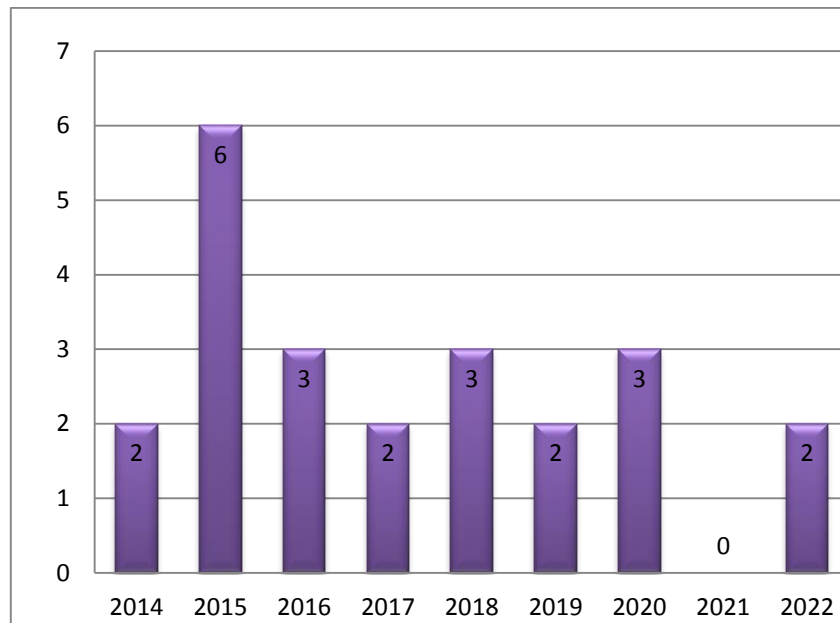


Figure 21:Fréquence de *Cryptosporidium* durant 9 ans depuis 2014 jusqu'à 2022

L'étude du tableau 8 et de la figure 21 ont démontrées que sur 23 cas de cryptosporidiose ont été enregistrés dans le laboratoire de mycologie-parasitologie depuis le 01 janvier 2014 jusqu'au 31 décembre 2022. L'atteinte maximale a été enregistrée en 2015 (6cas), tandis que l'atteinte minimale a été enregistrée en 2021(aucun cas).

2 Discussion

L'insuffisance de statistiques probantes et récentes, des données épidémiologiques concernant la prévalence et la distribution de la cryptosporidiose en Algérie, nous a incités à réaliser une enquête épidémiologique et clinique sur cette affection parasitaire au niveau du CHU de Tizi-Ouzou.

Malgré l'amélioration des mesures d'hygiène notamment après la pandémie de COVID19 (lavage des crudités, lavage et désinfection des mains) aucune diminution de cas de *Cryptosporidium* n'a été documentée durant ces dernières années.

Dans nos deux études prospective et rétrospective de 56 cas et de 215 cas respectivement, un seul cas positif a été diagnostiqué dans l'étude prospective soit un pourcentage de 1,78%. Ce taux relativement faible peut être aligné sur les taux observés dans les pays industrialisés où la prévalence est estimée entre 0,5 et 2% (GUYOT, SARFATI, & DEROUIN, 2012), par contre, comparé à ceux des autres pays en voie de développement notre résultat est inférieur au taux de 16,4% observé en Tunisie par exemple (AISSA, et al., 2009). Pour l'étude rétrospective, des cas enregistrés de 2014 jusqu'à 2022, 23 cas sont révélés positifs infectés par la cryptosporidiose, soit un pourcentage de 10,7%, qui est presque égal à celui du Bénin, avec 10,8% (LOKO, YEDOMON, & ZOHOUN, 2008). Comparé au Nigéria (34%) notre résultat est beaucoup inférieur (DONG, et al., 2020).

Variation selon les tranches d'âge et le statut immunitaire

De fait que les réponses immunitaires jouent un rôle essentiel dans la protection et la résolution de l'infection par *Cryptosporidium* qui est un parasite opportuniste, notre étude a montré que deux pics distincts de parasitisme par *Cryptosporidium*, sont en premier les personnes âgées plus de 50 ans, soit d'un taux de 23,5%, surtout pour ceux qui souffrent de quelques maladies chroniques. Le deuxième pic, les enfants de l'âge de 0-10 ans, surtout ceux qui fréquentent les écoles et les garderies, période durant laquelle les conditions favorisent la contamination tel que le contact avec la terre souillée par les oocystes de *Cryptosporidium*. Le taux d'infection chez cette catégorie est de 11,8%, supérieur au taux observé chez les enfants libanais qui est de 10,4% (OSMAN, et al., 2016), par contre la prévalence que nous avons observé est inférieure à celle qui est enregistrée chez les enfants Bangladais vivants dans des bidonvilles: 77% (DONG, et al., 2020). Statistiquement, nous ne pouvons pas affirmer qu'il y a une différence de prévalence de la cryptosporidiose liée à la classe d'âge.

Un seul cas d'infection par la cryptosporidiose est enregistré pour les personnes âgées entre 20 et 40 ans. Dans l'étude prospective le cas cryptosporidiose observé concerne un jeune homme de 29 ans, dont le système immunitaire est affaibli par le SIDA et plusieurs affections opportunistes, telles que les mycoses, la leishmaniose cutanée. La cryptosporidiose est une parasitose opportuniste qui survient lorsque la personne présente un taux de CD4 inférieur 200 éléments/mm³.

Variation selon le sexe

Nous avons recensé dans notre étude 6 cas positifs des femmes soit un taux de 8,8% et 17 cas des hommes étudiés d'un taux de 11,6%, il n'y a aucune différence significative qui peut être rattachée au sexe des patients.

Variation selon les années

Les statistiques de notre étude rétrospective depuis 2014 et prospective, ont démontré que la cryptosporidiose est presque stable durant ces 10 ans derniers, le nombre de cas est minime variant entre 0 à 6 cas. Le maximum des cas est observé en 2015, le minimum en 2021 au il n'y a aucun cas enregistré. Pour les années 2014, 2017, 2019, 2022, la cryptosporidiose a resté stable (2 cas), 1 cas pour l'année 2023 et 3 cas pour les années 2016, 2018 et 2020.

Variation selon les services

Dans notre étude des cas positif selon les services, nous avons constaté que le service des maladies infectieuses comporte le plus grand nombre de cas (10 cas), puis viens le service de médecine interne en deuxième position (6 cas infectés), puis service de pédiatrie (4 cas), les services gastro-entérologie, néphrologie et patients externes sont moins touchés (1 cas) et enfin service de réanimation et service d'hématologie ne présentent aucun cas d'infection par *Cryptosporidium*. Il n'y a aucune différence significative qui peut être liée aux services.

Les colorations utilisées

Dans notre étude prospective de 56 cas, nous avons utilisé deux techniques de colorations, coloration de Zeihl-Neelsen modifiée (fig.17) et coloration de Kinyoun (fig.18) pour chaque prélèvement de selle. Nous avons utilisé la coloration de Kinyoun pour son important avantage de donner un résultat plus rapide, dans 10 min contrairement à celle de Zeihl-Neelsen modifiée qui prend plus d'une heure. Mais la coloration de Kinyoun reste une coloration non spécifique aux parasites (coloration bactériologique) et ses résultats restent non confirmé, il nécessite la vérification avec la coloration spécifique des *Cryptosporidium* Ziehl-Neelsen qui reste la seule à fournir régulièrement des bons résultats.



Conclusion

Cryptosporidium sp est un parasite pathogène agressif surtout chez l'enfant et l'immunodéprimé, la gravité des signes cliniques chez ces catégories de patients, l'absence de traitement efficace et la grande résistance des oocystes dans l'environnement et aux désinfectants usuelle font que la cryptosporidiose reste préoccupante, ce qui oblige le responsable de secteur sanitaire aussi bien humain que vétérinaire de suivre les mesure préventives et sanitaires nécessaires, afin de préserver les eaux de surface de bonne qualité.

C'est dans ce contexte que nous avons mené cette étude transversal de l'année 2023 et une étude longitudinale sur 9 années (2014-2022) avec comme objectif de déterminer la prévalence de cryptosporidiose et ses variations selon les tranches d'âge, le sexe et les services les plus touchés au niveau de laboratoire parasitologie mycologie CHU Tizi-Ouzou, les résultats de notre étude ont permis de ressortir l'implication de *Cryptosporidium* comme étant un agent associé à l'affaiblissement du système immunitaire, d'après les résultats documentés les personnes plus de 40 ans et les moins de 10 ans sont les plus affectés.

La recherche de *Cryptosporidium* n'est pas systématique au cours de L'examen parasitologique des selles mais est effectué uniquement sur demande de clinicien et surtout en cas d'immunodépression, Les techniques de coprologie utilisées pour la recherche des oocystes de ce parasite étaient la concentration de Ritchie puis les colorations utilisées au laboratoire, la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée et la coloration de Kinyoun.

Actuellement, la cryptosporidiose est probablement sous-estimée dans la région de Tizi-Ouzou, et donc il est difficile de dire que cette parasitose est fréquente ou non dans cette région.

Références bibliographiques

- AISSA, S., ABDELMALEK, R., ESSID, R., KANOUN, F., TIOURI BEN ISSA, H., BOURATBINE, A., & BEN CHAABENE, T. (2009, Juin). La cryptosporidiose intestinale chez les patients infectés par le VIH à Tunis. *Medecine et Maladies Infectieuses*. Rabat, Service des Maladies Infectieuses, Hopital la rabta, Tunisie.
- ALLALOU, H., & YACOUB, F. (2015, Juin 11). La cryptosporidiose chez les patients hospitalisés au CHU de Tizi-Ouzou. *Memoire en vue d'obtention de titre de master2*. Tizi-Ouzou, Biologie Animal et Vegetale, Algerie.
- Anonyme. (2011, Janvier). *Fiche de description de danger microbien transmissible par les aliments/ Cryptosporidium spp.* Consulté le Mai 2023, sur Anses: www.anses.fr
- ANONYME. (s.d.). *Coloration de Kinyoun*. Consulté le 2023, sur Memo bio: www.memobio.fr
- ANONYME. (s.d.). *Technique de concentration de Ritchie*. Consulté le 2023, sur MemoBio: www.memobio.fr
- BALDURSSON, S., & KARANIS, P. (2011). Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks-An update 2004-2010. *Water Research*, pp. 45 : 6603-14.
- BELKAID, M. (1991, janvier 2). Les cryptosporidies. *Maladies tropicale*, pp. 123-136.
- BELKAID, M., TABET, D., ZENAIDI, & HAMRIOUI. (1992). Cours De Parasitologie (Tome Protozooses). *Office des publications universitaires*. Alger.
- BENAMROUZ-VANNESTE, S., SAWANT, M., BENAMROUZ, S., CHABE, M., GUYOT, K., COSTA, D., . . . CERTAD, G. (2020). LA cryptosporidiose et son impact en santé public. *Revue de biologie médicale*, p. 10.
- BENAOUDA, S., & LOUKKAD, E. (2019). Les parasitoses digestive: cas de la Cryptosporidiose chez les sujets immunodéprimés au sein de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé en Transplantation d'Organe et Tissu (EHS TOT) . *mémoire de Master*. Blida, Biologie des populations et organismes , Algérie.
- BENFERHAT, M., & MERAHI, F. (2006). Etude epidimiologique et histologique de la cryptosporidiose chez le poulet. *Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplome dedocteur vétérinaire*. Blida, des science vétérinaire, Algerie.
- BENOUIS, A., BEKKOUCHE, Z., & BENMANSOUR, Z. (2013). Epidemiological study of human intestinal parasitosis in the Hospital of Oran (Algeria). *International Journal of Innovation and Applied Studies*.

- BONNIN, A., DALLE, F., VALOT, S., DAUTIN, G., & PALMA, D. M. (2006). Infection à cryptosporidies et à cyclospora. *EMC*, pp. 4-6.
- BOUZID, M., HUNTER, P. R., CHALMERS, R. M., & TYLER, K. M. (2013, Janvier). Cryptosporidium pathogenicite and virulence . *Clinical Microbiology Reviews*, pp. 26(1):115-134.
- CAMA, V. A., ROSS, M. J., CRAWFORD, S., KAWAI, V., VALDEZ, C. R., VARGAS, D., . . . XIAO, L. (2007, Sptembre 01). *J Infect Dis*, pp. 196(5):684-691.
- CERTAD, G., VISCOGLIOSI, E., CHABE, M., & CACCIOM, S. (2017, juillet). Pathogenic mechanisms of Cryptosporidium and Giardia. *Trends In Parasitology*, pp. 561-576.
- CHALMERS, R. M., & DAVIES, A. P. (2010, Janvier). Minireview :Clinical cryptosporidiosis. *Exp Parasitol* , pp. 124(1):138-146.
- CHARPURE, R., PEREZ, A., MILLER, D. A., WIKSWO, M. O., SLIVER, R., & HLAVSA, C. M. (2019). *Cryptosporidiosis Outbreaks*. United States: Morbidity and Mortality Weekly Report(MMWR).
- CHECKLEY, W., WHITE, A. C., JAGANATH, D., ARROWOOD, M. J., CHALMERS, R. M., CHEN, X. M., . . . HOUP, E. R. (2015). A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for Cryptosporidium. *Lancet Infect.Dis*, pp. 15,85-94.
- CHEN, Z., MI, R., YU, H., CHI, Y., HUANG, Y., CHEN, J. Y., . . . LIN, J. (2011). Prevalence of Cryptosporidium spp. in pigs in Shanghai, China. *Veterinary parasitology*, pp. 181(2-4), 113–9.
- CORDEL, R., & ADDIS, D. (1994, Avril). Cryptosporidiosis in child care settings: a reviews of the literature and recommendation for prevention and control. *Pediatr Infect Dis J*, pp. 13(4):310-317.
- DELUOL, A. M. (1988). *Cryptosporidium. ATLAS DE PARASITOLOGIE :Guide Pratique du diagnostic au microscope. Flagellés, infusoires et coccidies:parasites des intestins et trichomonas vaginalis*. Varia 1988.
- DEROUIN, F., ELIASZEWICZ, M., POUILLOT, R., & ROZE, S. (2020). *Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau: "Evaluation scientifique des risques associés à Cryptosporidium sp*. Paris: AFSA.
- DONG, S., YANG, Y. A., WANG, Y., YANG, D., YANG, Y. U., SHI, Y., . . . ZHOU, Y. (2020). Prevalence of Cryptosporidium infection in the global population: A systematic Review and Meta-analysis. *Acta Parasitologica*, pp. 65,882-889.
- ECDC. (2019). *Cryptosporidiosis- Annual Epidemiological Report for 2017*.

- EHRENMAN, K., WANIYIRI, W. J., BHAT, N., WARD, H., & COPPENS, I. (2003, Juillet). Cryptosporidium parvum scavenges LDL-derived cholesterol and micellarcholesterol internalized into enterocytes. *Cell Microbiology*, pp. 15(7):1182-97.
- FAIK, A. (2000). La cryptosporidiose au cours de l'infection par le VIH (à propos de 35 cas). *Thèse N° 99*. CHU Ibn Rochd, Casablanca.
- FAYER, R. (2004). Cryptosporidium : A water- borne zoonotic parasite. *Vet Parasitol*, pp. 126, 37-56.
- FAYER, R., & UNGAR, B. P. (1986, Decembre). Cryptosporidium spp.and cryptosporidiosis. *Microbiological Reviews*, pp. 50 (4), 458-483.
- FAYER, R., & XIAO, L. (2007). *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. France: CRC Press.
- FERHAT, S., & KHEROUS, L. (2023). Etude de la cryptosporidiose cas de CHU Tizi-Ouzou. *Obtention de diplôme Master*. Tizi Ouzou, Biologie, Algérie.
- FERRAZZI, P. (1996, Octobre 30). Cryptosporidiose : aspects actuels : cryptosporidiose et sida: Etude de 30 cas . *Thèse pour obtenir le grade de : Docteur en pharmacie*. Grenoble, France.
- GARCIA, L. S., & SHIMIZU, R. Y. (1997, juin). Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of Giardia lamblia and Cryptosporidium parvum in human fecal specimens. *J Clin Microbiol*, pp. 35(6):1526-1529.
- GOBET, P., BUISSON, C. J., VAGNER, O., NACIRI, M., GRAPPIN, M., COMPAROT, S., . . . BONNIN, A. (1997). Detection of Cryptosporidium parvum DNA in formed human feces by sensitive PCR-Based Assay Including Uracil-N-Glycosylase Inactivation . *Journal of clinical microbiology*, 254-256.
- GRIFFITHS, J. K. (1998). Human Cryptosporidiosis: Epidemiology, Transmission, Clinical Disease, Traitment and Diagnosis. *Advances In Parasitology*, pp. 40, 37-49.
- GUYOT, K., SARFATI, C., & DEROUIN, F. (2012, Janvier). Actualités sur l'épidémiologie et le diagnostic de la cryptosporidiose. *Feuillets de Biologie* , LIII(304).
- HUNTER, P. R., & NICHOLS, G. (2002). Epidimiology and clinical features of Cryptosporidium infection in immunocompromised patient. *Clinical Microbiology Review*, pp. 15:145-154.
- Jenkins, M. B., Eaglesham, B. S., Anthony, L. C., Kachlany, S. C., Bowman, D. D., Ghiorse, W. C., & William, C. (2010, Mars). Significance of wall structure, macromolecolar composition, and surface polymers to the survival and transport of Cryptosporidium parvum oocysts. *Appl Environ Microbiol*, pp. 76(6):1926-1934.
- JOHANSEN, H. O., ABSIDA, A., ZANGENBERG, M., MEKONNEN, Z., ESHETU, B., BJORANG, O., . . . HANEVIK, K. (2020, Décembre). Performance and operational

- feasibility of two diagnostic tests for cryptosporidiosis in children (CRYPTO-POC): a clinical, prospective, diagnostic accuracy study. *The Lancet Maladies infectieuses*, p. 21(5).
- KHELAIFAI, S., LABIED, M., & RAHIM, N. (2020, Septembre). Etude de la cryptosporidiose dans les eaux de la région de Guelma. *Memoire en vue d'obtention du diplome de master*. Guelma, Biologie, Algerie.
- KHELEF, D., SAIB, Z., AKAM, A., KAIDI, R., CHERILA, V., COZMA, V., & ADJOU, K. T. (2007). Epidémiologie de la Cryptosporidiose chez les bovins en Algérie . *Revue méd.Vét*, pp. 260-264.
- KHELLEF, D. (2007, Octobre 10). Enquête épidémiologique sur les diarrhées neonatales du veau dans certains élevages du centre et de l'est de l'Algérie et essai de prophylaxie. *thèse de doctorat d'ETAT ES-SCIENCES*. El Herrach, Institut National d'Agronomie, Algerie.
- KOTTLOFF, K. L., NATARO, J. P., BLACKWELDER, W. C., NASRIN, D., FARAG, T. H., PANCHALINGAM, S., . . . LEVINE, M. M. (2013, juillet). Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multisenter Study, GEMS): a prospective case-control study. *THE Lancet* , pp. 209-222.
- KUBINA, S. (2021, Octobre 08). Etude de la survie et de l'adhérence des oocystes de *Cryptosporidium Parvum* sur une matrice alimentaire végétale:la mache. *Thèse de doctorat*. Rouen, Normandie, France: NBISE.
- KUHLS, T. L., MOSIER, A. D., CRAWFORD, L., & GRIFFIS, J. (1994, Mai). Seroprevalence of Cryptosporidial antibodies during infancy, childhood, and adolescence . *Clinical Infectious Diseases*, pp. 731-735.
- LEITCH, G. J., & HE, Q. (2011). Cryptosporidiosis-an overview. *The Journal Of Biomedical Research*, 25(1):1-16.
- LENDNER, M., & DAUGSCHIES, A. (2014, Février). Cryptosporidium infection : molecular advances. *Parasitology*, pp. 141,1511-32.
- LOKO, F., YEDOMON, H., & ZOHOUN, I. (2008). Prévalence de la cryptosporidiose chez les sujets séropositifs au VIH au Bénin. *Journal des sciences* , pp. 8(2):17-20.
- MAC KENZIE, W. R., HOXIE, N. J., PROCTORE, M. E., GRADUS, M. S., BLAIR, K. A., PETERSON, D. E., . . . DAVIS, J. P. (1994). A massive outbreak in Milwaukee of cryptosporidium infection transmitted through the public water supply. *The New England Journal Of Medicine*, pp. 331,161-167.
- MARCOS, L. A., & GOTUZZO, E. (2013). Intestinal protozoan infections in the immunocompromised host. *Curr Opin Infect Dis*, pp. 26 : 295-301.

- MEISEL, J. L., PERARA, D. R., MELIGRO, C., & RUBIN, C. E. (1976). Overwhelming watery diarrhea associated with cryptosporidium in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology*, pp. 70,1156-60.
- MORGAN, U. M., & THOMPSON, R. C. (1998, Décembre). PCR detection of Cryptosporidium :the way forward? *Parasitology Today*, pp. 14(6): 241-245.
- MORIN, R. (2002). *Lutte contre l'infection à Cryptosporidium parvum: application à la cryptosporidiose bovine*. Nantes.
- NACIRI, M. (1992). La cryptosporidiose. Importance de la contamination de l'eau. *INRAE PRODUCTIONS ANIMALES* , pp. 5 (5), pp.319-327.
- NAVIN, T. R., & JURANEK, D. D. (1984, Mai 01). Cryptosporidiosis: clinical, epidemiologic and Parasitologis Review. *Reviewws Of Infectious Diseases*, pp. 6 : 313-327.
- O'DONOGHUE. (1995). Cryptosporidium and cryptosporidiosis in man and animals. *International journal of parasitology*, 25(2):139-95.
- OSMAN, M., EL SAFADI, D., CIAN, A., BENAMROUZ, S., NOURRISSON, C., POIRIER, P., . . . CERTAD, G. (2016). Prevalence and risk factors for intestinal Protozoan infections with Cryptosporidium, Giardia, Blastocystis and Dientamoeba among Schoolchildren in Tripoli, Lebanon. *Plos Negl Tros Dis*, p. 10(3):e0004496.
- PRINT. (2019, mai 20). *Cryptosporidiosium spp*. Consulté le JUIN 2023, sur Centers of Disease Control and Prévention: www.cdc.gov
- PUTIGNANI, L., & MENICHELLA, D. (2010, Juillet 14). Global Distribution, Public Health and Clinical Impact Of the Protozoan Pathogen Cryptosporidium. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, pp. 1-39.
- RAMDANI, K. (2008). Cryptosporidium parvum: résultats d'une enquête menée à l'hôpital d'enfant du Rabat de décembre 2006 à juin 2007. *Thèse pharmacie* . faculté de médecine et de pharmacie , Rabat.
- RIBEIRO, A. C., REINA, T. F., ARAUJO, R., MATTE, H. M., PIRES CASTANHO, E. R., TANAKA, I. I., . . . MARTINS, L. (2016, Mars). INTESTINAL and PULMONARY INFECTION BY Cryptosporidium parvum IN TWO PATIENTS WITH HIV/AIDS. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao PAULO*, p. 58.
- SLAPETA, J. (2009, Février 25). Centenary of the genus Cryptosporidium: from morphological to molecular species identification. (S. G.Ortega-Pierres, Éd.) *Giardia and Cryptosporidium: From molecules to disease*, pp. 31-50.
- TETLEY, L., BROWN, S. A., COOMBS, G. H., & MC DONALD, V. (1998). Ultrastructural analysis of the sporozoite of Cryptosporidium parvum. *Microbiology* , pp. 144,3249-3255.

TZIPORI, S., & WIDMER, G. (2008). A hundred -year retrospective on cryptosporidiosis. *Trends Parasitol*, 24:184-9.

VALIGUROVA, A., JIRKU, M., KOUDELA, B., GELNAR, M., MODRY, D., & SLAPETA, J. (2008). Cryptosporidia : epicellular parasites embraced by the host cell membrane. *International journal of parasitol*, 38(8-9):913-22.

Résumé

La cryptosporidiose est une zoonose opportuniste cosmopolite due à *Cryptosporidium*, responsable de diarrhées spontanément résolutive chez les patients immunocompétents, notamment les enfants, et de diarrhées chroniques graves chez les malades immunodéprimés. L'infection humaine résulte d'une propagation zoonotique ou anthroponotique du parasite, dont la transmission est facilitée par sa résistance aux divers désinfectants couramment utilisés, le diagnostic de la cryptosporidiose repose sur la mise en évidence des oocystes dans les selles. Les mesures de prévention et de contrôle de l'infection sont essentielles pour la protection des groupes vulnérables car les options de traitement de ce genre de coccidie restent encore limitées.

L'objectif de ce travail est de recueillir des données épidémiologiques afin de déterminer la prévalence et la place de la cryptosporidiose au niveau de la région d'étude (Centre hospitalier Universitaire CHU de Tizi-Ouzou). Notre présente étude s'agit d'une étude rétrospective portant sur 09 ans (2014-2022) et une autre étude prospective de l'année 2023. Au total de 24 cas, les classes d'âges les plus touchées sont la petite enfance de 0-10 ans et les très >50 ans.

Summary

Cryptosporidiosis is an opportunistic zoonosis due to *Cryptosporidium*, responsible for spontaneously resolving diarrhea in immunocompetent patients, especially children, and serious chronic diarrhea immunocompromised patients. Human infection results from zoonotic or anthropological spread of the parasite, whose transmission is facilitated by its resistance to various commonly used disinfectants. The diagnosis of cryptosporidiosis is based on the detection of oocysts in the stool. Infection prevention and control measures are essential for the protection of vulnerable groups as treatment options for this kind of coccidia are still limited.

The objective of this work is to collect epidemiological data in order to determine the prevalence and place of cryptosporidiosis in the study region (Tizi-Ouzou University Hospital Center UHC). Our present study is retrospective study covering 9 years (2014-2022) and another prospective study in the year 2023. A total of 24 cases, the most affected age groups are early childhood from 0-10 years and those very over 50 years old.