

# Premières données sur la cryptosporidiose chez l'espèce *Oryctolagus cuniculus domesticus* en Algérie

L. MEZALI<sup>1</sup>, F. MEBKHOUT<sup>2</sup>, D. SAIDJ<sup>1</sup>, S. MERAH<sup>3</sup>, H. RAZALI<sup>3</sup>, B. LARBI<sup>2</sup>, L. ABDESSALEM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, BP 161 El-Harrach, Alger, Algérie

<sup>2</sup>Institut Techniques des Elevages, BP 03 Baba Ali, Alger, Algérie

<sup>3</sup>Faculté des sciences agro-vétérinaires et biologiques, université Saâd Dahlab, Blida, Algérie

**Résumé** - Une enquête préliminaire a été initiée à la ferme expérimentale de l'Institut Technique des Elevages de Baba Ali afin de fournir quelques données sur l'infection cryptosporidienne dans l'espèce *Oryctolagus cuniculus domesticus* en Algérie. Au total, 102 échantillons de matières fécales ont été prélevés sur 42 lapins sevrés destinés à l'engraissement. La recherche des oocystes de *Cryptosporidium* a été réalisée selon la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981). Les résultats obtenus révèlent une prévalence très élevée. Le facteur sexe semble n'avoir aucun effet sur l'apparition de l'infection ( $P > 0.05$ ) alors que le degré d'infestation varie inversement avec l'âge. Les dimensions oocystales se situent dans la fourchette des données de référence OIE (2005) et correspondent aux mensurations de *C. parvum*. Cette étude a montré la fréquence de la cryptosporidiose dans l'espèce cunicole, ce qui prône le dépistage systématique du parasite lors d'exams de contrôle de routine.

**Abstract - First report on cryptosporidiosis in *Oryctolagus cuniculus domesticus* in Algeria.** A preliminary investigation was initiated at the experimental farm of the Institut Technique des Elevages of Baba Ali in order to provide some data on cryptosporidiosis in *Oryctolagus cuniculus domesticus* in Algeria. A total of 102 fecal samples were collected from 42 weaned rabbits. The staining of *Cryptosporidium* oocysts was performed according to the Ziehl-Neelsen technique modified by Henriksen and Pohlenz (1981). The results show a very high prevalence. The sex factor seems to have no effect on the appearance of the infection ( $P > 0.05$ ) while the infestation degree varies inversely with the age. Oocyst dimensions are into the range of OIE reference data (2005) and correspond to the measurements of *C. parvum*. This study showed the frequency of cryptosporidiosis in rabbit, which advocates a systematic screening of the parasite during the routine controls.

## Introduction

La cryptosporidiose est une parasitose émergente opportuniste. Le plus souvent asymptomatique, elle peut parfois se manifester cliniquement par des troubles digestifs chez les sujets immunodéprimés en présence d'affections intercurrentes. L'agent causal est un protozoaire intracellulaire de la famille des coccidies appartenant au genre *Cryptosporidium* (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1990). Plusieurs espèces ont pu être isolées d'un grand nombre de vertébrés, y compris l'homme chez lequel l'intérêt porté à ce parasite est directement lié à la survenue d'épidémies dès les années 80. Plus de 90% des 165 épidémies liées à l'eau contaminée sont survenues aux USA et en Europe parmi lesquelles celles de Milwaukee (USA, 1993), de Sète (France, 1998), de Dracy-le-Fort (France, 2001) et de Divonne-les-Bains (France, 2003) (Derouin, 2010). L'épidémie la plus récente ayant incriminé le génotype du lapin a eu lieu au Royaume Uni en 2008. Cet épisode souligne que le risque zoonotique dû à la contamination du réseau d'eau de boisson ne doit pas être négligé (Robinson et Chalmers, 2009). Plusieurs espèces animales ont fait l'objet d'investigations limitées à l'Europe, à l'Amérique du nord et à l'Australie (Nolan et al.,

2010). A notre connaissance, aucune étude n'a porté sur la cryptosporidiose chez les lagomorphes en Algérie. Certes, la bibliographie nationale a été enrichie ces dernières années de quelques travaux de recherche sur la cryptosporidiose mais uniquement chez les espèces bovine, aviaire et dernièrement équine. De ce fait, la présente étude expose les premières données sur l'infection cryptosporidienne dans l'espèce cunicole en Algérie.

## 1. Matériel et méthodes

### 1.1. Protocole expérimental

Dix lapines reproductrices de souche synthétique décrite par Gacem et al. (2009) appartenant à l'espèce *Oryctolagus cuniculus domesticus*, ont mis bas à 4 jours d'intervalle (entre le 26 et le 29 juin 2012). Pour chaque portée, entre 3 et 5 lapereaux sevrés à 4 semaines d'âge ont été pris aléatoirement, sans distinction de sexe, et placés dans 10 cages différentes préalablement numérotées de 1 à 10 et dotées de moustiquaires pour faciliter la collecte des matières fécales. Ainsi, 42 sujets (24 mâles et 18 femelles) ont été recrutés pour la recherche de *Cryptosporidium* sp. Au total, 102 échantillons ont été prélevés parmi lesquels 60 à partir de matières fécales de groupe de

sujets vivants, à raison d'une collecte par cage et par semaine pendant 6 semaines, de S<sub>5</sub> à S<sub>10</sub>, et 42 en raclant le contenu du côlon des lapins sacrifiés à S<sub>11</sub>. Les échantillons, diarrhéiques et non diarrhéiques ont été conservés dans du bichromate de potassium (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) à +4°C.

### 1.2. Mise en évidence des cryptosporidies

La recherche des oocystes de *Cryptosporidium* a été réalisée en utilisant la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981). Pour les prélèvements de matières fécales de groupe, une étape préalable d'enrichissement par la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (Achir, 2001), a été nécessaire.

### 1.3. Examen microscopique et interprétation

La lecture a été faite au microscope photonique à l'objectif ×40 puis à l'objectif ×100. Les oocystes de *Cryptosporidium* sont des éléments ronds à ovoïdes de 4-6µm de diamètre, colorés en rouge vif parfois en rose ; le corps résiduel apparaît plus foncé. La lame est considérée positive lorsqu'elle comprend au moins un oocyste. Le calcul du degré d'infestation a été effectué selon la méthode semi-quantitative de Henriksen et Krogh (1985) modifiée : infestation faible +1 (1 à 4 oocystes par champs d'observation à l'objectif ×40) ; infestation modérée +2 (5 à 10 oocystes) ; infestation massive +3 (plus de 10 oocystes).

### 1.4. Mesure de l'oocyste et détermination de l'espèce

Seules trente lames positives caractérisées par une infestation massive ou modérée ont fait l'objet d'une mesure des dimensions oocystales en utilisant un micromètre oculaire. En se référant au manuel de l'OIE (2005), les valeurs obtenues ont permis de définir l'échelle ou la fourchette de dimensions dans laquelle sont incluses ces mesures et de proposer ainsi l'espèce de *Cryptosporidium* correspondante.

### 1.5. Analyses statistiques

L'analyse des données a été réalisée grâce au logiciel Excel et au logiciel R version 3.1.2 (2014-10-31). Le test Chi<sup>2</sup> a été utilisé pour évaluer l'effet du sexe sur la prévalence de la parasitose étudiée. L'étude de la régression indique l'effet du sexe sur l'infection. Les valeurs de P < 0.05 (P-value) ont été utilisées pour indiquer la signification statistique.

## 2. Résultats

### 2.1. Prévalence de *Cryptosporidium*

Sur les 102 prélèvements examinés, l'ensemble des échantillons de matières fécales de groupe sont positifs aux cryptosporidies, représentant ainsi une prévalence de 100%. Sur les 42 frottis de côlon, 35 sont positifs, soit une prévalence de 83,33%.

Le taux d'infestation est de 87,5% chez les mâles contre 77,78% chez les femelles et n'est pas

significativement différent entre les deux sexes (P>0.05, tableau 1).

**Tableau 1 : Prévalence de *Cryptosporidium* en fonction du type de prélèvement et du sexe.**

Type de prélèvement	n	n positifs	Pr (%)	p
MFG	60	60	100	NS
CC	42	35	83,33	NS
Sexe				
Mâle	24	21	87,5	NS
Femelle	18	14	77,78	

CC : contenus de côlon ; MFG : matières fécales de groupe ; n : nombre de prélèvements ; Pr : prévalence ; N.S : non significatif

### 2.2. Evolution de l'infestation cryptosporidienne

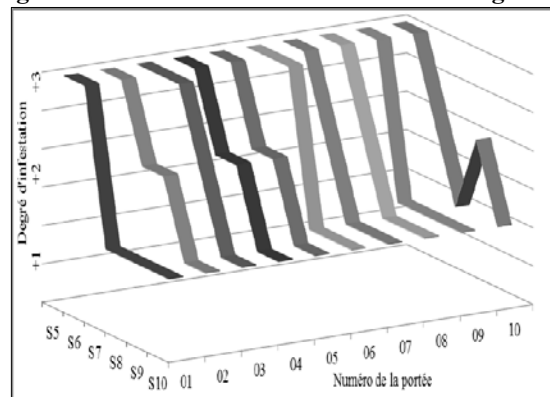
Le degré d'infestation a été déterminé pour chaque portée en examinant les prélèvements des 6 collectes hebdomadaires de matières fécales de groupe (tableau 2). La figure 1 permet de suivre l'évolution de cette infestation avec l'âge des lapins. Globalement, elle paraît massive entre S<sub>5</sub> et S<sub>6</sub>, commence à décroître à partir de S<sub>7</sub> pour s'atténuer et devenir faible entre S<sub>9</sub> et S<sub>10</sub>, et ce, pour l'ensemble des 10 portées.

**Tableau 2 : Degré d'infestation.**

N°	n°/ âge (semaines)					
	1/S <sub>5</sub>	2/S <sub>6</sub>	3/S <sub>7</sub>	4/S <sub>8</sub>	5/S <sub>9</sub>	6/S <sub>10</sub>
01	+3	+3	+1	+1	+1	+1
02	+3	+3	+2	+2	+1	+1
03	+3	+3	+3	+2	+1	+1
04	+3	+3	+2	+2	+1	+1
05	+3	+3	+2	+2	+1	+1
06	+3	+3	+3	+1	+1	+1
07	+3	+3	+2	+1	+1	+1
08	+3	+3	+2	+1	+1	+1
09	+3	+3	+1	+1	+1	+1
10	+3	+3	+2	+1	+2	+1

N° : numéro de la portée ; n° : numéro de la collecte

**Figure 1 : Evolution de l'infestation avec l'âge.**



### 2.3. Dimensions oocystales et proposition d'espèce

Les résultats de mesure de 30 lames positives révèlent des oocystes de dimensions petites sur 15 lames avec

un rapport longueur/largeur égal à 1,33, moyennes sur 13 lames avec un rapport de 1,37 et grandes pour 2 lames avec un rapport évalué à 1,39. Toutes ces valeurs sont comprises dans la fourchette des mesures

de référence et correspondent aux dimensions oocystales de *C. parvum* isolé des mammifères (tableau 3).

**Tableau 3 : Mensurations des oocystes de *Cryptosporidium* isolés et espèce proposée chez le lapin.**

Nombre de lames	Mesures de l'oocyste (µm)	Longueur/Largeur	Fourchette correspondante OIE (µm)	Espèce proposée
15	4,0 x 3,0	1,33		
30	13	4,8 x 3,5	1,37	
2	5,0 x 3,6	1,39	3,8-6,0 x 3,0-5,3	<i>C. parvum</i>

### 3. Discussion

Nous avons pu mettre en évidence des cryptosporidies à partir de la totalité des frottis fécaux de prélèvements de groupe (n=60). Bien que d'autres organes (intestin grêle et cæcum) n'aient pu être explorés au profit de cette recherche, 83,33% (n=35) des prélèvements individuels de contenus de côlon étaient positifs à *Cryptosporidium* (tableau 1). À l'instar des espèces bovine (Akam et al., 2002, Akam et al., 2007 ; Baroudi et al., 2010 ; Ouakli, 2011 ; Ouchène et al., 2012), aviaire (Guechtouli, 2011 ; Goucem, 2013) et équine (Laatamna et al., 2013) étudiées à l'échelle nationale, et dans lesquelles les prévalences variaient respectivement, de 22,08% à 47,80%, de 41,1% à 52,5% et de 2,9%, le taux d'infestation élevé que nous avons relevé démontre la fréquence de la maladie dans l'espèce cunicole également. Elle serait la conséquence des mauvaises conditions d'élevage et de la défaillance des protocoles de désinfection, mais aussi au climat algérois chaud et relativement humide en été, favorable à la survie des oocystes. Parallèlement, le parasitisme serait maintenu par la présence de sujets adultes infectés, porteurs asymptomatiques (Darabus et al., 2001 ; Akam et al., 2007) représentés dans notre étude par les lapines mères qui ont été prélevées pour des raisons de discussion uniquement et analysées positives. En Europe, les prévalences enregistrées chez le lapin, qu'il soit domestique ou sauvage, sont moins importantes en raison probablement de la différence de climat et du respect des normes d'élevage. En Allemagne, les 232 échantillons prélevés étaient négatifs (Epe et al., 2004) alors qu'au Royaume-Uni, une prévalence de 0,9% a été enregistrée sur un total de 109 prélèvements traités (Chalmers, 1996). En Roumanie, un résultat négatif a été obtenu suite aux analyses coprologiques effectuées sur 33 lapins bien que des enquêtes antérieures ont révélé des prévalences variant de 16 à 50% (Darabus et al., 2001). Par ailleurs, en Australie, *Cryptosporidium* a été détecté dans 12 (6,8%) sur 176 prélèvements individuels de matières fécales (Nolan et al., 2010). Ces grandes fluctuations dans les données chiffrées de prévalences dépendraient vraisemblablement de la région et de l'espèce ciblées, de la taille et du mode d'échantillonnage, des méthodes utilisées pour la recherche du parasite et des

facteurs de risque tels que l'âge, l'état immunitaire et le mode d'élevage.

Aucune différence significative n'a été notée entre les taux d'infestation des mâles et des femelles (tableau 1). De même, les prévalences enregistrées à l'échelle nationale, sont également comparables pour les deux sexes dans l'espèce bovine (Akam et al., 2002, Akam et al., 2007) et équine (Laatamna et al., 2013) ; elles sont expliquées par le parage collectif et dense des animaux permettant la contamination massive et continue de l'espace environnant. Même si le rôle du facteur sexe n'apparaît pas non plus dans les études étrangères (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1990), Akam et al. (2007) suggèrent de vérifier l'influence de ce facteur sur l'infestation pour des effectifs plus grands.

Concernant l'évolution de l'infestation, l'excrétion du parasite ne s'est pas interrompue durant toute la durée de vie *post* sevrage des lapins (tableau 2 et figure 1) ; *Cryptosporidium* sp a été isolé de toutes les portées et à partir de tous les prélèvements. Nous constatons, néanmoins, une diminution progressive de l'intensité de l'infestation avec l'âge : massive entre S<sub>5</sub> et S<sub>6</sub>, elle s'atténue à partir de S<sub>7</sub> pour la majorité des portées pour devenir faible entre S<sub>9</sub> et S<sub>10</sub>. Par conséquent, nos résultats viennent appuyer le fait que la cryptosporidiose est une maladie du jeune animal. Cela pourrait s'expliquer d'une part, par la grande sensibilité des jeunes animaux à l'infection cryptosporidienne en présence d'un système immunitaire encore immature (Morin, 2002) et par la résistance d'âge et l'immunité acquise à la suite du contact permanent et renouvelé avec le parasite, d'autre part (Darabus et al., 2001). Nous signalons que l'unique étude qui a révélé un résultat contraire est celle réalisée par Laatamna et al. (2013) chez l'espèce équine ; alors que 5,5% des sujets adultes ont été analysés positifs, aucun jeune animal ne l'était.

Par ailleurs, les valeurs obtenues après mesure des dimensions oocystales (tableau 3) sont dans l'intervalle des données de référence OIE (2005) pour *C. parvum*, espèce pathogène pour l'homme. En l'absence de spécificité d'hôte, *C. parvum* semble avoir l'éventail d'hôtes le plus large ; il aurait été retrouvé chez 152 espèces de mammifères (Carey et al., 2004) dans trois sites de prédilection qui sont l'intestin grêle, le cæcum et le côlon. Seul ou en association avec des agents bactériens ou viraux, il

engendre des diarrhées très liquides et un retard de croissance et serait le plus couramment incriminé dans la plupart des infections de l'homme et du bétail caractérisées par une forte morbidité et/ou mortalité (OIE, 2005). Néanmoins, notre résultat demeure une proposition car les dimensions et la forme des oocystes de plusieurs espèces de *Cryptosporidium* sont similaires, ce qui rend très difficile, voire impossible, l'identification spécifique sur la seule base de l'examen morphométrique au microscope optique et en raison aussi du chevauchement de ces dimensions. En effet, ni les méthodes de coloration ni celles de fluorescence ne peuvent déterminer les espèces de cryptosporidies, notamment si les mesures des oocystes sont comprises entre 4 et 6 µm (OIE 2005). Au Royaume-Uni, les méthodes moléculaires ont permis d'identifier des génotypes de *Cryptosporidium* sp isolés des lapins identiques à ceux caractérisés chez des patients humains présentant des symptômes de cryptosporidiose et connus depuis sous l'appellation de *C. cuniculus* (Nolan et al., 2010). Par conséquent, il serait plus prudent à l'heure actuelle de ne pas écarter le rôle du lapin lors de zoonoses à *Cryptosporidium* sp.

### Conclusions

Au terme de cette enquête, des taux d'infestation élevés chez des lapins appartenant à l'espèce *Oryctolagus cuniculus domesticus* ont été enregistrés et *C. parvum* a été suggérée sur la base de l'appréciation des propriétés morphométriques. En dépit de l'espèce animale ciblée, nos résultats corroborent ceux obtenus par plusieurs auteurs, en terme de prévalence, de l'effet des facteurs sexe et âge dans la dissémination de cette parasitose. Par ailleurs, tous les auteurs s'accordent à dire que la cryptosporidiose, très fréquente dans les différents élevages étudiés, occasionne des pertes économiques considérables et constitue une menace zoonotique réelle. C'est pourquoi et compte tenu de l'absence de traitements spécifiques et de la grande résistance des oocystes dans le milieu extérieur, il est recommandé, outre l'amélioration impérative des conditions d'hygiène et d'élevage, d'instaurer un dépistage systématique aussi bien dans les cas pathologiques que lors d'examen de routine. En complément à l'étude que nous venons de conduire, d'autres travaux peuvent être envisagés, pour de plus grands effectifs, dans lesquels des techniques d'histopathologie et de biologie moléculaire seraient utilisées et dans lesquels aussi seront pris en considération d'autres facteurs tels que la race, la période néonatale *ante* sevrage et l'âge adulte en incluant les reproducteurs, les particularités physiologiques de l'espèce ainsi que les paramètres zootechniques et ceux de la conduite de l'élevage.

### Remerciements

Les auteurs tiennent particulièrement à remercier le personnel de la ferme expérimentale de l'Itelv.

### Références

- ACHIR I., 2001. La coprologie parasitaire. Grand cours, Institut Pasteur d'Algérie. Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Mustapha Bacha, Alger.
- AKAM A., KHELEF D., KAIDI R., ABDULHUSSAIN M.S., SUTEU E., COZMA V., 2002. Epidémiologie de la Cryptosporidiose bovine dans une région de Mitidja de l'Algérie. *Scientia Parasitologica*, 2 : 22-27.
- AKAM A., LAFRI M., KHELEF D., KAIDI R., BOUCHENE Z., COZMA V., SUTEU E., 2007. Cryptosporidiose bovine dans la région de la Mitidja (Algérie). *Bulletin USAMV-CN*, 64 : 344-350.
- BAROUDI D., KHELEF D., BELMADANI S., AZEROUAL S., XIAO L., BACHI F., 2010. Prévalence de trois protozoaires pathogènes chez le veau et impact sur l'état de santé. *Rev. Prat. Vet.*, n° avril 2010 : 17-23.
- CAREY C.M., LEE H., TREVORS J.T., 2004. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Res.*, 38 : 818-862.
- CHALMERS R.M., 1996. The distribution of *Cryptosporidium* in livestock and wild animal populations on Warwickshire farm. Ph. D. Thesis. Coventry university, England.
- CHERMETTE R. ET BOUFASSA-OUZROUT S., 1990. Cryptosporidiosis -A Cosmopolitan Disease in Animals and Man. *Vet. Parasitology*, 35 : 179-182.
- DARABUS G.H., COSOROABA I., OPRESCU I., MORARIU S., 2001. Epidémiologie de la cryptosporidiose chez les animaux dans l'ouest de la Roumanie. *Rev. Med., Vet.*, 152 (5) : 399-404.
- DEROUIN F. 15<sup>ème</sup> Colloque sur le Contrôle Epidémiologique des Maladies Infectieuses "eau et maladies infectieuses: enjeux pour le 21<sup>ème</sup> siècle" Paris, 17-18 Mai 2010.
- EPE C., COATI N., SCHNEIDER T., 2004. Results of parasitological examinations of fecal samples from horses, ruminants, pigs, dogs, cats, hedgehogs and rabbits between 1998 and 2002. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, 111 : 243-247.
- GACEM M., ZERROUKI N., LEBAS F., BOLET G. Comparaison des performances de production d'une souche synthétique de lapins avec deux populations locales disponibles en Algérie. 13<sup>èmes</sup> Journ. De Rech. Cunicole Fr, Le Mans 17-18 novembre 2009.
- GOUCEM R., 2013. Prévalence de l'infection à *Cryptosporidium* spp. dans quelques élevages de poulets de chair et de dindes dans les régions de Boumerdès et Alger. Mémoire de magistère. ENSV d'Alger, Algérie.
- GUECHTOULI S., 2011. Etude de la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium* spp. chez le poulet de chair et la dinde chair dans quelques élevages de la wilaya de Boumerdès. Mémoire de magistère. ENSV d'Alger, Algérie.
- HENRIKSEN S.A ET KROGH H.V., 1985. Bovine cryptosporidiosis in Denmark. Prevalence, age distribution and seasonal variation. *Nord. Vet. Med.*, 37 : 34-41.
- HENRIKSEN S.A., 1981. Staining of *cryptosporidia* by modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta. Vet. Scand.*, 22 : 594-596.
- LAATAMNA A., WAGNEROVA P., SAK B., KVETONOVA D., AISSI M., ROST M., KVIC M., 2013. Equine cryptosporidial infection associated with *Cryptosporidium* hedgehog genotype in Algeria. *Vet. Parasitology*, 197 : 350-353.
- MORIN R., 2002. Lutte contre l'infection à *Cryptosporidium parvum* : application à la cryptosporidiose bovine. Thèse de doctorat. ENV de Nantes, France.
- NOLAN M.J., JEX A.R., HAYDON S.R., STEVENS M.A., GASSER R.B., 2010. Molecular detection of *Cryptosporidium cuniculus* in rabbits in Australia. *Infect. Genet. Evol.*, 10 : 1179-1187.
- OIE. 2005. Cryptosporidiose. Manuel terrestre, chapitre 2.9.4. : 1307-1331.
- OUAKLI N., 2011. Prévalence de la cryptosporidiose chez le veau et les facteurs de risque dans la wilaya de Bliida. Mémoire de magistère. Université Saâd Dahlab, Bliida, Algérie.
- ROBINSON G., CHALMERS R.M., 2009. The European Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), a source of zoonotic cryptosporidiosis. *Zoonoses Public Health*, 57 : 7-8.