



HAL
open science

Relations entre cryptosporidiose et microbiote intestinal : pistes de recherche pour des thérapies alternatives

Séléna Steinkampf-Pellecuer

► **To cite this version:**

Séléna Steinkampf-Pellecuer. Relations entre cryptosporidiose et microbiote intestinal : pistes de recherche pour des thérapies alternatives. Médecine vétérinaire et santé animale. 2023. dumas-04303342

HAL Id: dumas-04303342

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04303342v1>

Submitted on 23 Nov 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Année 2023

RELATIONS ENTRE CRYPTOSPORIDIOSE ET MICROBIOTE INTESTINAL : PISTES DE RECHERCHE POUR DES THÉRAPIES ALTERNATIVES

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE
présentée et soutenue publiquement devant
la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)
le 20 Octobre 2023

par

Séléna, Sylvie STEINKAMPF--PELLECUER

sous la direction de

Karim ADJOU

JURY

Président du jury :	M. Andrew PONTER	Professeur à l'EnvA
Directeur de thèse :	M. Karim ADJOU	Professeur à l'EnvA
Examinatrice :	Mme Delphine LE ROUX	Maître de Conférences HDR à l'EnvA

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



Version juillet 2023

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigié	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Radu	Professeur	DSBP
M	Blot	Stéphane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Dasquibet	Loïc	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Federighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Professeur	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences HDR	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guéneç	Christelle	Professeur	DEPEC
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP
Mme	Pilot-Storck	Fanny	Professeur	DSBP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Amé	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barbarino	Alix	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Benckroun	Ghita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Lelia	Maître de conférences	DEPEC
M	Bolnot	Francois	Maître de conférences	DPASP
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Faivre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Coudry	Virginie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences	DSBP
M	Crozet	Guillaume	Maître de conférences	DPASP
Mme	De Paula Reis	Alline	Maître de conférences	DPASP
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences	DPASP
Mme	Denis	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guérin	Virginie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Guétin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Kurtz	Maxime	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagrée	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Dudal	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conférences associé	DSBP
M	Mammeri	Mohamed	Maître de conférences	DSBP
Mme	Manguin	Estelle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
Mme	Marotto	Stéphanie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Maurice	Emeline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mespoules-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
M	Nudemann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Quéré	Émilie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Ravary-Plumioën	Bérandère	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conférences associé	DSBP
M	Tanquerel	Ludovic	Maître de conférences	DEPEC

Remerciements

Au Président du Jury de cette thèse, Professeur à l'EnvA M. Andrew Ponter,

Pour avoir accepté la présidence de cette thèse avec un grand enthousiasme.
Remerciements respectueux.

À M. Karim Adjou, Professeur à l'EnvA,

Pour sa confiance bienveillante et ses conseils précieux. Sincères remerciements.

À Mme Delphine Le Roux, Maître de conférences HDR à l'EnvA,

Pour avoir accepté d'être examinatrice de mon jury de thèse. Remerciements chaleureux.

Aux vétérinaires qui m'ont accueillie et accompagnée, Mathilde, Dr Chen, Gilles, Stéphanie,
merci pour tout.

À mes amis, pour votre présence attentionnée.

À ma famille, avec tout mon amour.

À Bibi-Chat, et Pouic, pour vous.

Table des matières

Liste des figures.....	4
Liste des tableaux	5
Liste des abréviations.....	6
Introduction	7
Première partie : Cryptosporidies et cryptosporidiose	9
1. Le parasite	9
A. Cycle parasitaire	9
B. Espèces et hôtes.....	11
2. Voies de transmission, enjeu <i>One Health</i>	15
3. Réponse immunitaire à l'infection.....	16
4. Pathogénicité	17
5. Expression chez l'Homme	19
6. Expression chez les ruminants	20
7. Impacts en élevages	21
8. Prise en charge actuelle	21
A. Mesures d'hygiène préconisées	21
B. Traitements symptomatiques	22
C. Traitements spécifiques	22
a. Lactate d'halofuginone	23
b. Sulfate de paromomycine	24
c. Nitazoxanide	25
d. Enjeux actuels.....	25
D. Vaccination.....	26
a. Vaccination active des veaux.....	26
b. Vaccination passive des veaux, vaccination des mères, notion de colostrum hyper immuns	27
Deuxième partie : Microbiote, notions et outils d'études	28
1. Définition	28
2. Microbiote intestinal.....	29
3. Microbiote intestinal et santé	30
A. Microbiote et maladies infectieuses	30
B. Maladie intestinale et maladies chroniques	32
a. Le microbiote intestinal comme agent causatif transférable.....	32
b. Impact de l'environnement	33
• Alimentation	33
• Notion de communauté.....	34
C. Microbiote et développement cérébral : l'axe intestin-cerveau.....	34
4. Mise en place et développement	35
A. Colonisation et chronologie.....	35
B. Impact de l'alimentation	36
C. Impact des modes d'élevage	37
D. Impact de la génétique.....	37
E. Dysbiose et stabilité du microbiote intestinal	38
5. Outils d'étude	39
A. Diversité alpha	39
a. Définition	39
b. Indice de diversité de Shannon	40
B. Diversité Bêta.....	40

a. Définition	40
b. Distances Uni-Frac.....	40
C. <i>Notion d'OTU</i>	40
D. <i>Limites actuelles des études</i>	41
a. Outils d'analyse.....	41
b. Niveaux de description.....	41
c. Pluralité des microbiotes, méthodes d'échantillonnage.....	42
Troisième partie : Données actuelles sur les interactions entre microbiote intestinal et <i>Cryptosporidium parvum</i>	44
1. Impact de la présence du parasite sur le microbiote.....	44
A. <i>La présence du parasite altère la composition du microbiote</i>	44
a. Impact sur la diversité Alpha	44
b. Impact sur la diversité Bêta	44
c. Impact sur les réseaux bactériens.....	45
B. <i>La présence du parasite impacte le développement normal du microbiote chez le jeune</i>	45
a. Impact sur la diversité alpha	45
b. Impact sur la diversité Bêta	45
C. <i>Signature dysbiotique, chronologie des perturbations</i>	46
a. Caractérisation de la dysbiose induite.....	46
b. Signature dysbiotique.....	47
c. Evolution de la dysbiose au cours du temps	47
2. Impact de la présence d'un microbiote sur le développement parasitaire	48
A. <i>Microbiote et résistance à l'infection</i>	48
B. <i>Composition du microbiote et sensibilité à l'infection</i>	50
C. <i>Composition du microbiote et sévérité de l'infection</i>	50
3. Exploration des interactions	51
A. <i>Infections à <i>C. parvum</i> et dysbiose intestinale induite</i>	51
a. Hypothèses principales concernant les mécanismes sous jacents	51
• Diarrhées et transit intestinal	51
• Atteinte de l'épithélium intestinal et Interactions avec le système immunitaire local	52
b. Conséquences de la dysbiose induite : impact sur les voies de biosynthèse des acides gras à chaîne courte.....	52
B. <i>Rôles du microbiote intestinal au cours de l'infection</i>	53
a. Interactions avec le système immunitaire local	53
b. Microbiote et métabolites	54
• Cycle de Krebs	54
• Indole.....	54
• Acide gras à chaîne courte	54
□ Homéostasie intestinale	54
□ Résistance à <i>C. parvum</i>	56
• Autres acides gras	57
□ Acide gras à chaîne moyenne.....	58
□ Acide gras non saturé à chaîne longue.....	58
Quatrième partie : Pistes thérapeutiques alternatives	60
1. Probiotique.....	60
A. <i>Définition et généralités</i>	60
B. <i>Usage de probiotiques dans la prise en charge des diarrhées chez le jeune ruminant</i>	62
a. Revue de quelques probiotiques.....	62
• Lactobacillus	62
□ <i>Lactobacillus acidophilus</i>	62
□ <i>Lactobacillus reuteri</i>	63
□ <i>Lactobacillus casei</i>	64
• Bifidobacterium	64
□ <i>Bifidobacterium longum</i>	64

□	<i>Bifidobacterium breve</i>	64
•	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	65
b.	Mécanismes d'action.....	66
•	Peptides antimicrobiens et autres métabolites.....	66
•	Renforcement et protection de la barrière épithéliale.....	67
•	Compétition avec les entéropathogènes.....	68
•	Système immunitaire et modulation de l'inflammation	69
2.	Prébiotique.....	70
A.	<i>Définition et généralités</i>	70
B.	<i>Revue de divers prébiotiques, données actuelles dans le cadre de la prise en charge des diarrhées chez le jeune ruminant</i>	71
a.	Fructo-oligosaccharides	71
b.	Galacto-oligosaccharide.....	72
c.	Mannan-oligosaccharide	73
d.	Bêta-glucane.....	73
e.	Cyclodextrine	74
•	Bêta-cyclodextrine	74
•	Alpha-cyclodextrine.....	75
f.	Chitosan et chito-oligosaccharides.....	75
3.	Focus sur la transplantation fécale	78
	Conclusion	81
	Liste des références bibliographiques	85
	Annexes	96

Liste des figures

Figure 1 : Vacuoles parasitophores. D'après (Thomson et al., 2017)&(Petry, 2004).....	9
Figure 2 : Invasion d'un entérocyte par un sporozoïte. D'après (Thomson et al., 2017).....	9
Figure 3 : Cycle parasitaire de <i>Cryptosporidium</i> . D'après(Bouزيد et al., 2013)	10
Figure 4 : Fluidothérapie chez des veaux atteints de diarrhées. D'après K. Adjou, et source personnelle.....	22
Figure 5 : Diarrhée à <i>C. parvum</i> chez un veau Holstein. D'après (Witola, 2021).....	22
Figure 6 : Microbiote, métagénome, microbiome : définitions. D'après (Whiteside et al., 2015).....	28
Figure 7 : Relations entre communautés bactériennes au sein du microbiote intestinal et homéostasie intestinale. D'après (Ignacio et al., 2019).....	31
Figure 8 : ARN16S, régions variables (V, grises) et régions conservées (oranges). D'après (Schutz, 2016).....	41
Figure 9 : Structure moléculaire des Fructo-oligosaccharides. D'après (Berezovskaya et al., 2020).	71
Figure 10 : Structure moléculaire des Galacto-oligosaccharides. D'après (Berezovskaya et al., 2020).....	72
Figure 11 : Structure moléculaire des Mannan-oligosaccharides. D'après (Laboratoire Elicityl, s. d.).....	73
Figure 12 : Structure moléculaire des Bêta- cyclodextrine. D'après (Bruschi, 2015).	74
Figure 13 : Structure moléculaire des Alpha-cyclodextrine. D'après (Bruschi, 2015).	75
Figure 14 : Structure moléculaire du Chitosan. D'après (Teixeira-Costa et Andrade, 2021).	76
Figure 15 : Structure moléculaire des Chito-oligosaccharides. D'après (Kim et Senevirathne, 2011).	76

Liste des tableaux

Tableau 1 : Espèces valides de <i>Cryptosporidium</i> (modifié d'après Ryan et al, 2021)	13
Tableau 2 : Espèces ou génotypes de <i>Cryptosporidium</i> identifiés en France entre 2006 et 2009 chez 310 patients. D'après (Guyot et al., 2012).....	14
Tableau 3 : Modifications des populations bactériennes au sein du microbiote fécal au cours de l'infection à <i>C. parvum</i> chez les lémuriens Sifakas de Coquerel. D'après (McKenney et al., 2017)97	
Tableau 4 : Modifications des populations bactériennes au sein du microbiote intestinal au cours de l'infection à <i>C. parvum</i> chez des souris nouveau-nées. D'après (Mammeri et al., 2019).....	98
Tableau 5 : Modifications des populations bactériennes au sein du microbiote fécal au cours de l'infection à <i>C. parvum</i> chez des souris adultes. D'après (Ras et. al, 2015)	98
Tableau 6 : Modification des populations bactériennes au sein du microbiote fécal au cours de l'infection à <i>C. parvum</i> chez l'Homme. D'après (Chappell et al., 2016).....	99

Liste des abréviations

ARN : Acide RiboNucléique

ARNr : Acide RiboNucléique ribosomal

DHA : *DocosaHexaénoïcAcid*

EHEC : *Escherichia coli* entero-hémorragique

FDA : *Food and Drug Administration*

IDO : indoléamine 2-3 dioxygénase 1

IFN : Interféron

LTCD4+ : Lymphocytes T CD4+

La : *Linoleic Acid*

LnA : *Linolenic Acid*

MetaHIT : *MetAgenomics of the Human Intestinal Tract*

NFkB : *Nuclear Factor-kappa B*

NK : *Natural Killer*

OTU : *Operational Taxonomic Unit*

PRR : *Pattern Recognition Receptor*

SCID : *Severe Combined ImmunoDeficiency*

SIDA : Syndrome de l'ImmunoDéfianceAcquise

SNP : *Single Nucleotide Polymorphism*

TLR : *Toll-Like Receptor*

TNF : *Tumor Necrosis Factor*

Introduction

La cryptosporidiose est une maladie parasitaire zoonotique cosmopolite causée par un protozoaire du genre *Cryptosporidium*, parasite intracellulaire extra cytoplasmique, décrit pour la première fois chez la souris en 1907 par Ernest Edward Tyzzer. A ce jour, il existe 44 espèces de *Cryptosporidium*, et plus de 120 génotypes qui seront potentiellement reconnus comme espèces valides dans les années à venir.

La cryptosporidiose est à l'origine de diarrhées pouvant être graves chez les jeunes ruminants non sevrés, et les êtres humains, adultes immunodéprimés et jeunes enfants.

Les cryptosporidies n'ont été reconnues que relativement récemment comme agent potentiel d'entérite chez l'Homme et l'animal compte tenu de leur découverte au début du XXème siècle. *Cryptosporidium* est suspecté à l'origine de diarrhées chez la dinde en 1955, chez le veau dans les années 1970, et chez l'Homme dans les années 1980 dans le contexte de la crise mondiale du Syndrome de l'Immunodéficience acquise (SIDA). Malgré les efforts de la recherche, les traitements actuellement disponibles se montrent peu efficaces à guérir l'infection à *Cryptosporidium*, alors que la maladie reste à ce jour un enjeu de santé comme a pu le montrer l'infection récente de 31 personnes dans les Alpes-Maritimes en France en juin 2023, à partir du réseau d'eau potable (Agence regionale de sante provence-alpes-cote d'azur, 2023).

Par ailleurs, dans la compréhension des maladies à tropisme entéritique notamment infectieuses comme la cryptosporidiose, la recherche s'oriente de plus en plus vers l'exploration des interactions qui s'établissent entre l'agent infectieux, et les communautés microbiennes qui colonisent le tractus digestif de l'hôte. Caractériser ces populations, leurs dynamiques, les modifications affectant ces interactions au cours de l'infection dans l'optique de mieux les comprendre et éventuellement de les résoudre apparaît comme un enjeu majeur, riche de découvertes.

Dans une première partie, nous chercherons donc à décrire les connaissances que nous avons à ce jour sur le parasite en lui-même, la maladie qu'il cause, les traitements disponibles afin de comprendre les différents enjeux qui s'articulent autour de sa prise en charge et la nécessité de développer des thérapies dans une vision « One Health » au sein de laquelle la médecine vétérinaire tient un rôle premier.

Dans une seconde partie nous explorerons la notion de microbiote intestinal, sa mise en place, son développement, les liens qui s'établissent entre ses communautés et son hôte localement mais également au niveau systémique, ainsi que les outils disponibles pour l'étudier.

Notre troisième partie s'intéressera plus précisément aux dynamiques qui se mettent en place au cours de l'infection à *Cryptosporidium* : quels impacts le parasite exerce sur le microbiote intestinal et quels rôles ce dernier revêt au cours de l'infection.

Enfin, nous verrons dans un dernier temps les moyens disponibles pour moduler le microbiote intestinal : par l'administration de souches vivantes de microorganismes d'une part, isolées ou au sein de communautés complexes organisées, ou de nutriments, supports de fermentation pour ces microorganismes d'autre part, dont l'usage confère à l'hôte des bénéfices pour sa santé. Nous tenterons ainsi de décrire les mécanismes sous jacents à ces bénéfices et d'évaluer la pertinence

de l'usage de ces thérapies alternatives, probiotiques et prébiotiques dans le cadre de l'infection parasitaire à *Cryptosporidium*.

Première partie : Cryptosporidies et cryptosporidiose

1. Le parasite

A. Cycle parasitaire

Les protozoaires du genre *Cryptosporidium* sont des protozoaires intracellulaires obligatoires appartenant au phylum des *Apicomplexa*, caractérisé par la présence d'un organe appelé apicomplexe au pôle apical de leur unique cellule.

Le cycle parasitaire de *Cryptosporidium* s'articule autour d'une réplication sexuée et d'une réplication asexuée. L'intégralité du cycle se réalise dans un individu hôte unique, au sein de l'intestin grêle (Figure 3).

Un oocyste de *Cryptosporidium* contient quatre sporozoïtes et un corps résiduel composé d'une vacuole lipidique, source d'énergie pour ces sporozoïtes. A une température de 37°C, à pH bas, et sous l'action de sels biliaires et de protéases, ainsi que de molécules propres au parasite, les sporozoïtes sont excystés dans l'intestin grêle (Petry, 2004).

Les sporozoïtes s'attachent à leur cellule cible, l'entérocyte, par leur pôle apical permettant ainsi la libération dans la cellule du contenu des nombreuses organelles composant l'apicomplexe (Figure 2).

L'invasion parasitaire aboutit en la formation de la vacuole parasitophore (Figure 1). Celle-ci isole les stades de développement ultérieurs du cytoplasme de la cellule. Sa formation implique des remodelages importants des membranes cellulaires et de l'hôte et du parasite (Petry, 2004). Si la formation d'une vacuole parasitophore est commune aux apicomplexes, sa position extracytoplasmique au pôle apical des cellules épithéliales, au sein de la bordure en brosse, est unique aux cryptosporidies (O'Hara et Chen, 2011)(Naciri, 2007).

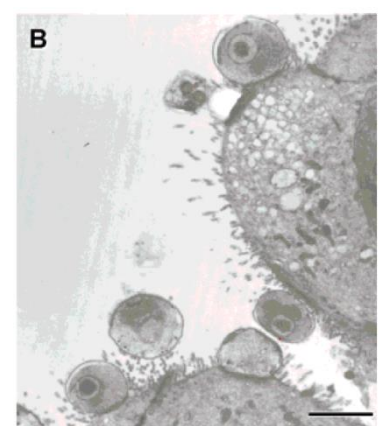
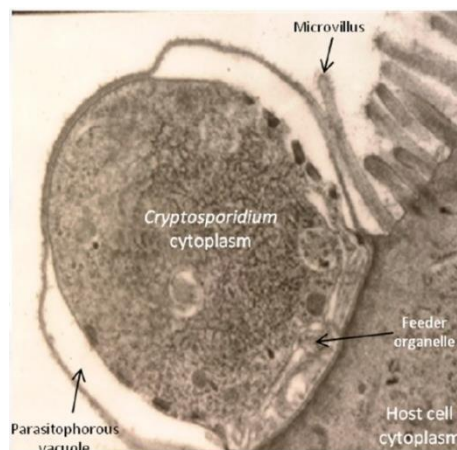
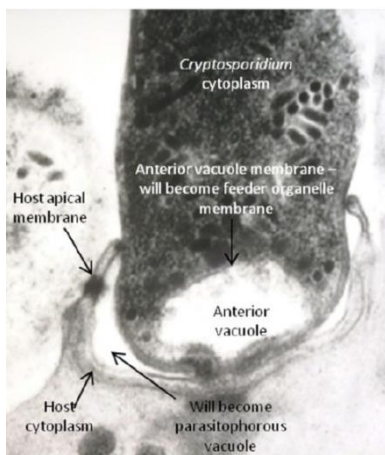


Figure 2 : Invasion d'un entérocyte par un sporozoïte. D'après (Thomson et al., 2017)

Figure 1 : Vacuoles parasitophores. D'après (Thomson et al., 2017)&(Petry, 2004)

A l'interface entre la vacuole parasitophore et le cytoplasme de la cellule hôte, se trouve une organelle de nutrition qui permet au parasite d'obtenir ses nutriments de la cellule tout en échappant, au moins partiellement, à la réponse immunitaire de l'hôte (Thomson *et al.*, 2017). En effet, des analyses génomiques ont mis en évidence l'absence d'un certain nombre d'enzymes du cycle de Krebs chez les cryptosporidies. Elles seraient ainsi dépendantes de la glycolyse, et leur incapacité à synthétiser *de novo* acides aminés, acides gras et nucléosides les rend largement dépendantes de la cellule hôte (O'Hara et Chen, 2011).

Le sporozoïte à l'abri dans la vacuole parasitophore se transforme en trophozoïte.

Le trophozoïte évolue par la suite en méronte de type I.

Les mérontes de type I produisent huit mérozoïtes capables à leur tour d'infecter les cellules de l'hôte directement voisines de leur cellule d'origine. Ces mérozoïtes ont une très courte viabilité. C'est la réplication asexuée. En culture, elle est à l'origine de la formation de zones de cluster de cellules infectées.

Ces mérozoïtes peuvent également évoluer en mérontes de type II et produire alors quatre mérozoïtes capables au sein de la cellule hôte de se différencier en micro-gamontes et macro-gamontes. Les micro-gamontes vont donner des micro-gamètes. Ces dernières libérées de la cellule infectée vont fusionner avec les macro-gamontes. C'est la réplication sexuée. La formation d'un zygote au sein duquel se développe par sporogonie, processus semblable à la méiose, un oocyste contenant quatre sporozoïtes en est l'issue (Figure 3) (Petry, 2004).

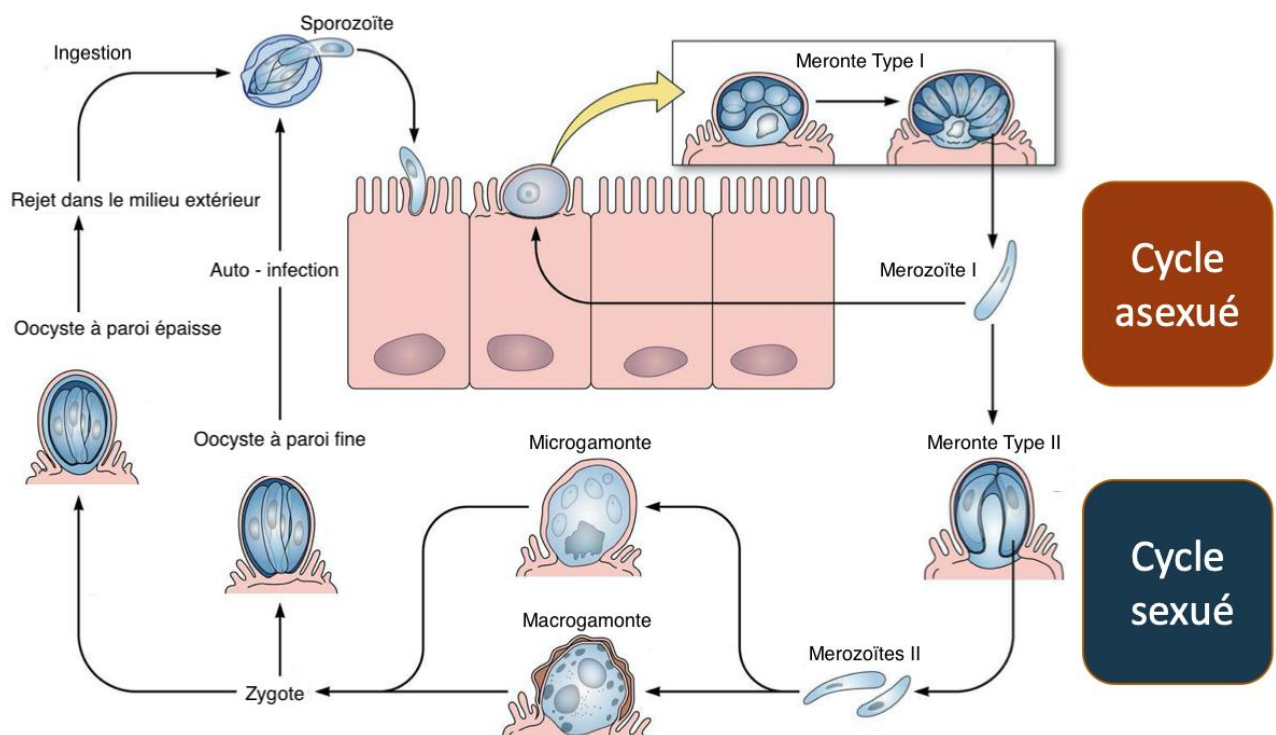


Figure 3 : Cycle parasitaire de *Cryptosporidium*. D'après (Bouزيد *et al.*, 2013)

Il existe deux types d'oocystes. Les oocystes à parois épaisses sont excrétés dans les fèces de l'hôte infecté. Ces oocystes sont capables de résister plusieurs mois dans l'environnement et notamment dans l'eau, à des températures comprises entre 4°C et 20°C. Ils sont sensibles aux

températures extrêmes, inférieures à -20°C et supérieures à 60°C, et à la dessiccation (Thomson *et al.*, 2017).

Les oocystes à parois fines sont auto-infectieux et participent à l'entretien de l'infection chez l'individu hôte (Petry, 2004).

Mérozoïtes et oocystes à parois fines explicitent ainsi au moins pour partie l'efficacité du cycle de reproduction de *Cryptosporidium* et sa capacités à être auto-infectieux : des veaux atteints excrètent ainsi jusqu'à 10¹⁰ oocystes par jour (Thomson *et al.*, 2017) et bien que la quantité d'oocystes requise pour initier une infection varie en fonction de l'isolat et de l'hôte, une dizaine peut être suffisante (O'Hara et Chen, 2011)(Naciri, 2007). Des études menées sur des souris adultes immunodéprimées montrent même qu'un oocyste unique peut initier une infection (Certad *et al.*, 2017).

Longtemps apparentés aux coccidies, le genre *Cryptosporidium* s'en éloigne pourtant par l'absence de sporocystes entourant ses sporozoïtes, ce qui lui vaut d'ailleurs son nom, qui n'ont pas nécessité à sporuler.

Par ailleurs la description de deux stades extra-cellulaires (autres que les sporozoïtes et les mérozoïtes) dépourvus de pointe apicale et s'apparentant aux trophozoïtes et gamontes de protozoaires d'invertébrés à apicomplexes, les grégarines, a fait évoluer la classification de *Cryptosporidium*.

L'inefficacité des molécules anti-coccidiennes, des analyses de l'ARN ribosomal et la réactivité d'un oocyste de grégarine à un anticorps monoclonal anti-cryptosporidium, viennent renforcer cette classification récente (Petry, 2004)(Naciri, 2007)(Tzipori et Widmer, 2008).

B. Espèces et hôtes

La première description de *Cryptosporidium* est réalisée par Ernest Edward Tyzzer, chez la souris en 1907 et fait l'objet de publications en 1910 et 1912 (Tzipori et Widmer, 2008). Depuis, les protozoaires du genre *Cryptosporidium* ont été décrits chez 152 espèces de vertébrés différentes, incluant mammifères, oiseaux et poissons. L'utilisation d'outils moléculaires a permis de dénombrer 44 espèces, et 50 génotypes encore incomplètement décrits (Tableau 1) (Thomson *et al.*, 2017)(Petry, 2004)(Zahedi et Ryan, 2020).

Espèces	Hôte	Rapporté chez les humains	Auteur
<i>C. muris</i>	Rongeurs	Souvent	Tyzzer (1907)
<i>C. parvum</i>	Ruminants	2eme espèce la plus rencontrée	Tyzzer (1912)
<i>C. meleagridis</i>	Oiseaux	Très souvent	Slavin (1955)
<i>C. wrairi</i>	Cochon d'Inde	Non	Vetterling <i>et al.</i> , (1971)
<i>C. felis</i>	Chat	Nombreux	Iseki (1979)

<i>C. serpentis</i>	Serpents et lézard	Non	Levine (1980)
<i>C. baileyi</i>	Oiseaux	Non	Currentet al (1986)
<i>C. varanii</i>	Lézards	Non	Pavlasiket al (1995)
<i>C. andersoni</i>	Bovins	Quelques cas	Lindsay et al (2000)
<i>C. canis</i>	Chiens	Nombreux	Fayeret al (2001)
<i>C. hominis</i>	Humains	1 ^{ère} espèce la plus rencontrée	Morgan-Ryan et al (2002)
<i>C. molnari</i>	Poissons	Non	Alvarez-Pellitero et Sitja-Bobadilla (2002)
<i>C. galli</i>	Oiseaux	Non	Palvasek (1999) ; Ryan et al (2003)
<i>C. suis</i>	Cochons	Quelques cas	Ryan et al (2004)
<i>C. bovis</i>	Bovins	Quelques cas	Fayeret al (2005)
<i>C. ryanae</i>	Bovins	Non	Fayeret al (2008)
<i>C. fragile</i>	Crapauds	Non	Jirkuet al (2008)
<i>C. macropodum</i>	Marsupiaux	Non	Power and Ryan (2008)
<i>C. fayeri</i>	Marsupiaux	Rares cas	Ryan et al (2008)
<i>C. xiaoi</i>	Petits ruminants	Quelques cas	Fayer and Santin (2009)
<i>C. cuniculus</i>	Lapins	Nombreux	Inman et Takeuchi (1979) ; Robinson et al (2010)
<i>C. ubiquitum</i>	Ruminants, rongeurs, primates	Nombreux	Fayer et al (2010)
<i>C. tyzzeri</i>	Rongeurs	Quelques cas	Ren et al (2012)
<i>C. viatorum</i>	Humains	Nombreux	Elwinet al (2012)
<i>C. scrofarum</i>	Cochons	Rares cas	Kvac et al (2013)
<i>C. erimacei</i>	Herissons et chevaux	Quelques cas	Kvacet al (2014)
<i>C. huwi</i>	Poissons	Non	Ryan et al (2015)
<i>C. rubeyi</i>	Rongeurs	Non	Li et al., (2015)
<i>C. proliferans</i>	Rongeurs	Non	Kvácet al., (2016)
<i>C. avium</i>	Oiseaux	Non	Holubová et al., (2016)
<i>C. ducismarci</i>	Reptiles	Non	Traversa, (2010) Jezková et al., (2016)

<i>C. testudinis</i>	Reptiles	Non	Jezková <i>et al.</i> , (2016)
<i>C. homai</i>	Cochon d'Inde	Non	Zahediet <i>al.</i> , (2017)
<i>C. ditrichi</i>	Rongeurs	Rares cas	Condlová <i>et al.</i> , (2018)
<i>C. apodemi</i>	Rongeurs	Non	Condlová <i>et al.</i> , (2018)
<i>C. occultus</i>	Rongeurs	Rares cas	Kvácet <i>al.</i> , (2018)
<i>C. alticolis</i>	Rongeurs	Non	Horcicková <i>et al.</i> , (2019)
<i>C. microti</i>	Rongeurs	Non	Horcicková <i>et al.</i> , (2019)
<i>C. proventriculi</i>	Oiseaux	Non	Holubová <i>et al.</i> , (2019)
<i>C. ornithophilus</i>	Oiseaux	Non	Holubová <i>et al.</i> , (2019)
<i>C. bollandi</i>	Poissons	Non	Bolland <i>et al.</i> , (2020)
<i>C. rattii</i>	Rongeurs	Non	Jezková <i>et al.</i> , (2021)
<i>C. abrahamseni</i>	Poissons	Non	Zahediet <i>al.</i> , (202)
<i>C. myocastoris</i>	Rongeurs	Non	Jezková <i>et al.</i> , (2021)

Tableau 1 : Espèces valides de *Cryptosporidium* (modifié d'après Ryan et al, 2021)

Chez l'Homme, la majorité des cas rapportés sont dus à *Cryptosporidium parvum* et *Cryptosporidium hominis*. Ces deux espèces représentent plus de 90% des cas humains à l'échelle mondiale (Tableau 2) (Thomson *et al.*, 2017). *Cryptosporidium meleagridis* étant la troisième espèce la plus représentée.

Des cas humains liés à *C. andersoni*, *C. bovis*, *C. canis*, *C. cuniculus*, *C. ditrichi*, *C. erinacei*, *C. fayeri*, *C. felis*, *C. muris*, *C. scrofarum*, *C. suis*, *C. tyzzeri*, *C. ubiquitum*, *C. viatorum*, *C. xiaoi*, *Cryptosporidium chipmunk genotype I*, *Cryptosporidium skunk genotype*, *Cryptosporidium horse genotype* et *Cryptosporidium mink genotype* sont également décrits (Zahedi et Ryan, 2020)(Ryan *et al.*, 2021).

Malgré une description précoce, ce n'est que dans les années 1970-1980, notamment dans le contexte de la crise mondiale du SIDA, que *Cryptosporidium* apparaît comme un agent d'entérites chez l'Homme, majeur et non négligeable (Tzipori et Widmer, 2008).

Espèces ou génotype	Nombre de patients				
	2006	2007	2008	2009	Total
<i>C. parvum</i>	32	33	51	52	168
<i>C. hominis</i>	30	22	14	47	113
<i>C. felis</i>	7	2	3	3	15
<i>C. meleagridis</i>	2	0	1	1	4
<i>C. canis</i>	1	0	1	2	4
<i>C. cuniculus</i>	0	0	0	1	1
Génotype tamia	0	0	1	0	1
Autres génotypes	1	0	2	1	4
Total	73	57	73	107	310

Tableau 2 : Espèces ou génotypes de *Cryptosporidium* identifiés en France entre 2006 et 2009 chez 310 patients. D'après (Guyot *et al.*, 2012).

La première description d'un cas de cryptosporidiose bovine date des années 1970. Ce n'est qu'en 1983 qu'est montrée expérimentalement la capacité de *C. parvum* à induire des diarrhées néonatales chez le veau, en tant que seul agent infectieux (Thomson *et al.*, 2017).

Dans l'espèce bovine, *C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* et *C. andersoni* sont les principales espèces retrouvées, mais *C. felis*, *C. hominis*, *C. suis*, *C. scrofarum*, *C. meleagridis*, *C. tyzzeri*, *C. serpentis*, et *C. suis-like* ont également été retrouvées.

Cryptosporidium parvum est prévalent à l'échelle mondiale chez le veau non sevré sauf en Chine où *Cryptosporidium bovis* est majoritairement retrouvé (Zahedi et Ryan, 2020).

Diverses études se sont intéressées à la prévalence de *C. parvum* chez le veau nouveau-né : elle est ainsi estimée de 28% à 80% au Royaume-Uni, et jusqu'à 96,6% dans certaines fermes des Etats-Unis d'Amérique (Thomson *et al.*, 2017).

Chez les animaux sevrés, *C. bovis* et *C. ryanae* dominent, tandis que *Cryptosporidium andersoni* est majoritairement retrouvé chez les individus adultes (Zahedi et Ryan, 2020).

Chez les moutons et les chèvres, *C. parvum*, *C. ubiquitum* et *C. xiaoi* sont les espèces majoritairement identifiées. *C. bovis*, *C. hominis*, *C. andersoni*, *C. suis*, *C. fayeri*, *C. baileyi*, *C. ryanae*, *C. scrofarum*, *C. canis*, et *Cryptosporidium sheep genotype I* ont également été décrits chez les moutons, et *C. hominis*, *C. andersoni*, et *rat genotype II* chez les chèvres.

A titre indicatif, des analyses par séquençage menées sur *C. parvum*, *C. bovis* et *C. ryanae* montrent que ces dernières présentent une grande similarité génétique avec *C. parvum* mais semblent avoir perdu des déterminants de pathogénicité notamment sécrétoires, ce qui pourrait expliquer leur diversité d'hôte réduite et leur moindre pathogénicité (Zahedi et Ryan, 2020).

2. Voies de transmission, enjeu *One Health*

La cryptosporidiose est une zoonose. La contamination est principalement oro-fécale et *Cryptosporidium* représente une cause majeure d'épidémies humaines d'origine hydrique et alimentaire à l'échelle mondiale (Zahedi et Ryan, 2020).

Chez l'Homme, la transmission du protozoaire peut se réaliser par contact direct avec un individu humain ou animal infecté excréteur. Néanmoins, l'essentiel de la transmission se réalise par contact-consommation d'eau souillée : par des excréments issus d'individus humains ou animaux infectés. La petite taille des oocystes de l'ordre de 5 µm et leur capacité à résister aux traitements à la chlorure et à l'ozone en font de leur gestion un enjeu majeur de l'industrie du traitement de l'eau (Petry, 2004)(Zahedi et Ryan, 2020). Le protozoaire peut également se transmettre par consommation d'aliments souillés par de l'eau contaminée (Zahedi et Ryan, 2020).

Entre 2019 et 2017, plus de 444 épidémies humaines de cryptosporidiose d'origine hydrique ont été rapportées (Zahedi et Ryan, 2020).

C. hominis est l'espèce la plus fréquemment retrouvée (72,2% sur une période de dix ans) dans les épidémies humaines de cryptosporidiose d'origine hydrique. Les eaux incriminées sont celles à usage récréationnel comme les eaux de piscines et de fontaines, plus que les eaux de boisson (Zahedi et Ryan, 2020)(Ramirez *et al.*, 2004).

C. parvum est l'espèce la plus fréquemment retrouvée (96,5% sur une période de dix ans) dans les épidémies humaines de cryptosporidiose d'origine alimentaire, les sous-types identifiés étant majoritairement retrouvés chez les animaux de production. La traçabilité des épidémies d'origine alimentaire est plus complexe, mais l'utilisation de fertilisants agricoles issus de matières d'origine animale, la consommation de lait non pasteurisé, de cidre de pommes non pasteurisé ou encore de salades sont les plus souvent impliquées. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) rapporte 8,6 millions de cas de cryptosporidioses d'origine alimentaire, et plus de 3000 morts en 2010 (Zahedi et Ryan, 2020).

Les animaux d'élevage représentent ainsi une source de contamination et un réservoir majeur pour les populations humaines. L'amélioration des pratiques d'élevage et de la gestion et de la prise en charge de la cryptosporidiose animale constitue un enjeu *One Health*, intégrant enjeux environnementaux, santé humaine, santé animale, où la médecine vétérinaire occupe un rôle central premier.

Chez les bovins en élevage, la source de contamination pose encore question. Elle pourrait être assurée principalement par les adultes asymptomatiques avec une augmentation de l'excrétion d'oocystes en *peri-partum*, mais également par la faune sauvage comme les rongeurs et les oiseaux (Zahedi et Ryan, 2020)(Ramirez *et al.*, 2004). En élevages notamment allaitants où les

vêlages groupés sont fréquents, les premiers veaux atteints deviennent ensuite multiplicateurs et principaux contaminants de l'environnement (Naciri, 2007).

3. Réponse immunitaire à l'infection

La plupart des études visant à comprendre la réponse immunitaire à *C.parvum* ont été menées chez la souris. Chez les bovins, mais également chez l'Homme, peu de données sont disponibles.

Plus de 200 gènes, associés aux voies de l'apoptose, de l'inflammation ou des dynamiques du cytosquelette voient leur expression modifiée au cours de l'infection (O'Hara et Chen, 2011).

Les récepteurs *Toll-like* (TLR) constituent une famille importante de *pathogen recognition receptor* (PRR), récepteurs portés par des cellules de l'immunité résidants dans les tissus et impliqués dans la reconnaissance de signaux pathogéniques exprimés par des organismes pathogènes, comme les lipopolysaccharides des bactéries Gram négatif par exemple (Davoust-Nataf, 2021). Sur une culture de cellules épithéliales intestinales bovines, l'infection par *C. parvum* se traduit par une augmentation des niveaux d'expression des ARN messagers des TLR2 et TLR4, résultant en l'activation du facteur de transcription NFκB et en la production en conséquence de cytokines telles que TNF alpha et IL-8 (Thomson *et al.*, 2017).

NFκB est également un facteur de transcription clé dans la régulation de la voie de l'apoptose. Son activation induit la mise en place de mécanismes anti-apoptotiques. L'infection par *C. parvum* tend ainsi à limiter la mort des cellules hôtes parasitées via l'activation de NFκB, favorable au cycle parasitaire (O'Hara et Chen, 2011).

L'activation de NFκB par les TLR admet ainsi des conséquences duelles durant l'infection : elle facilite la propagation précoce du parasite, par la mise en place de mécanismes anti-apoptotiques, et par ailleurs promeut l'élimination du parasite en participant à la régulation positive des médiateurs de l'inflammation nécessaire au recrutement des cellules immunitaires (O'Hara et Chen, 2011).

La réponse immunitaire à *Cryptosporidium* est complexe et fait intervenir de multiples acteurs notamment cellulaires tels que

- Les cellules *Natural Killer* (NK), recrutées par des cytokines telles que TNF alpha, et elles-mêmes productrices de diverses cytokines telles que l'IFN-γ, mais aussi de perforine et granulysine, molécules cytotoxiques. Leur nombre est augmenté suite à l'infection par *C. parvum* chez des agneaux. Leur absence chez la souris résulte en une excrétion fécale d'oocystes plus importante, et la mort de ces dernières (Thomson *et al.*, 2017).
- Les γ-delta-lymphocytes T, qui représentent 60% des lymphocytes T circulants chez le veau de moins de 6 mois, et sont particulièrement présents au sein de la muqueuse intestinale. Ils seraient impliqués dans le contrôle initial de l'infection à *C. parvum* (Thomson *et al.*, 2017).
- Les cellules dendritiques, productrices de cytokines pro-inflammatoires (TNF alpha, IL-12, IL-6) suite à l'activation de la voie de signalisation TLR4 au cours de la cryptosporidiose murine. Elles seraient impliquées dans la résistance initiale à l'infection (Thomson *et al.*, 2017).

- Les macrophages, producteurs d'IFN- γ tout comme les cellules NK, en réponse entre autre à IL-18 (Thomson *et al.*, 2017).

A noter que IL-12 et l'IFN- γ permettent le développement de la réponse immunitaire LT CD4 + Th1, particulièrement importante dans la protection contre des pathogènes intracellulaires. Par la production d'IL-4 induisant l'expression d'IL-12 et d'IFN- γ , la réponse immunitaire LTCD4+ Th2 vient renforcer la voie Th1 au cours de la cryptosporidiose murine (Thomson *et al.*, 2017).

Des immunodéficiences affectant les lymphocytes T sont associées à des formes graves, et chroniques de cryptosporidiose. La cryptosporidiose fait ainsi partie de la liste des maladies définissant le stade clinique du SIDA (Ramirez *et al.*, 2004). Les thérapies antirétrovirales visant à restaurer le nombre de lymphocytes LTCD4+ chez des individus atteints du SIDA permettent une résolution des cas de cryptosporidioses chroniques chez les individus séropositifs infectés par *C. parvum* (Certad *et al.*, 2017).

Par ailleurs, il semblerait que les lymphocytes B ne soient pas nécessaires à la résistance initiale à *C. parvum*, ou à la résolution de l'infection, chez la souris (Thomson *et al.*, 2017). Des immunodéficiences affectant les fonctions des lymphocytes B ne sont en effet pas associées avec une sévérité plus importante des formes cliniques de cryptosporidiose (Certad *et al.*, 2017).

Enfin, il a également été montré que l'infection par *C. parvum* stimule la production locale par les cellules épithéliales intestinales bovines et humaines de peptides antimicrobiens tels que la B défensine qui semble avoir un effet cytopathique sur les formes extracellulaires du parasite (O'Hara et Chen, 2011), avec des niveaux en ARN messagers de B défensine augmentés dans les tissus intestinaux de veaux atteints, par rapport aux veaux contrôles (Thomson *et al.*, 2017).

Chez des cellules épithéliales biliaires humaines l'infection par *C. parvum* induit également le recrutement des TLR2 et TLR4 : leur inhibition est à l'origine d'une réduction de production de Béta-défensine (Thomson *et al.*, 2017).

La réponse immunitaire à *Cryptosporidium* s'articule ainsi à plusieurs niveaux en faisant intervenir les cellules épithéliales infectées ainsi que des acteurs cellulaires divers de l'immunité innée dans une réponse essentiellement à médiation cellulaire, notamment *via* la stimulation de récepteurs TLR.

Enfin, il peut être intéressant de noter que d'un point de vue immunologique l'individu jeune non sevré, notamment le veau, peut être qualifié d'immuno-incompétant. L'activité de certaines cellules comme les polynucléaires neutrophiles est en effet réduite pendant les 10 premiers jours de vie, ses lymphocytes sont immatures jusqu'à trois semaines d'âge, et les protéines du complément ainsi que ses globulines ne sont présentes qu'en faibles concentrations (Naciri, 2007).

4. Pathogénicité

Les mécanismes de pathogénicité de *Cryptosporidium* sont complexes et pourraient faire intervenir des toxines parasitaires impliquées notamment dans l'adhésion et l'entrée dans les cellules cibles. Comme un certain nombre d'autres parasites protozoaires tels que les leishmanies, les cryptosporidies transportent des petits virus comme le Cryptovirus de type 1 (CSpV1) qui

pourraient également jouer un rôle, néanmoins encore inconnu, dans la virulence (Certad *et al.*, 2017)(Bouzid *et al.*, 2013)(Adjou *et al.*, 2023).

Le tropisme de *Cryptosporidium* pour les cellules épithéliales en fait un parasite essentiellement gastro-intestinal avec un développement préférentiel au niveau de la portion distale du jéjunum, et de l'iléon. Il existe une relation dose-dépendante entre la quantité d'oocystes ingérés et la sévérité des signes cliniques présentés (Naciri, 2007). Plus la charge parasitaire est importante, plus les signes cliniques sont marqués. Chez les veaux, une étude a mis en évidence une association significative entre le nombre d'oocystes élevé et l'occurrence de la diarrhée (Ichikawa-Seki *et al.*, 2019).

L'infection à *Cryptosporidium*, notamment de par son cycle intracellulaire, induit une réorganisation importante du cytosquelette des cellules parasitées. Cette réorganisation, associée à la réponse inflammatoire locale perturbe les jonctions serrées qui existent entre les cellules épithéliales et assurent leur cohésion (O'Hara et Chen, 2011). Dans une culture de cellules Caco-2, lignée cellulaire immortelle issue d'un adénocarcinome colique humain utilisée comme modèle de la barrière épithéliale intestinale, l'infection à *C. parvum* diminue par ailleurs les niveaux d'occludine et de claudine 4, protéines des jonctions serrées (Charania *et al.*, 2020)(Lea, 2015).

La réponse inflammatoire à *Cryptosporidium* met en jeu une élévation locale de l'expression du neuropeptide Substance P, ce qui stimule la sécrétion d'ion chlorure Cl⁻ par les cellules épithéliales notamment chez des sujets humains expérimentalement infectés (O'Hara et Chen, 2011). La sécrétion de prostaglandines produites par les cellules épithéliales infectées et les cellules inflammatoires viennent renforcer cette sécrétion accrue de Cl⁻ qui s'accompagne d'une inhibition de l'absorption de sodium Na⁺ (Naciri, 2007).

L'altération de la perméabilité intestinale et la modification des flux ioniques sont ainsi à l'origine de diarrhées par hypersécrétions.

Le développement propre des parasites au sein de la bordure en brosse est à l'origine de la destruction des microvillosités intestinales, de l'atrophie et de la fusion des villosités intestinales, réduisant ainsi la surface d'échange disponible. La muqueuse intestinale altérée n'est plus en capacité d'assurer pleinement ses fonctions d'absorption d'eau, d'électrolytes et de nutriments, et de synthèses enzymatiques. Des molécules hypertoniques telles que le lactose se retrouvent non dégradées à leur entrée dans le côlon, ce qui favorise la croissance bactérienne et modifie la pression osmotique, se manifestant par des diarrhées osmotiques (Naciri, 2007).

L'inflammation généralisée de l'épithélium intestinal et la destruction des villosités favoriseraient par ailleurs l'établissement d'autres agents pathogènes à l'origine d'entérites néonatales chez les jeunes ruminants tels que des rotavirus, coronavirus, ou des bactéries comme *Escherichia coli* (Harp, 2003).

L'ensemble de ce tableau est responsable des signes cliniques observés chez les différentes espèces.

Histologiquement, on retrouve chez les individus atteints, une inflammation généralisée de l'épithélium intestinal caractérisée par une hyperplasie des cryptes et une destruction des villosités intestinales (Harp, 2003).

5. Expression chez l'Homme

La cryptosporidiose est aujourd'hui l'une des principales causes de diarrhées parasitaires humaines à travers le monde (Benamrouz-Vanneste *et al.*, 2020). *Cryptosporidium* a été isolé dans 95 pays, sur tous les continents (Guyot *et al.*, 2012). À l'échelle mondiale, la prévalence de *Cryptosporidium* est estimée à 7,6 %, avec une prévalence moyenne de 4,3 % dans les pays développés et de 10,4 % dans les pays en développement, notamment ceux fortement touchés par le SIDA. Des prévalences allant jusqu'à 69,6 % ont été signalées comme au Mexique (Dong *et al.*, 2020).

Chez l'Homme, les enfants de moins de 5 ans sont les plus sensibles à l'infection (McKenney *et al.*, 2017). À l'échelle mondiale, la cryptosporidiose représente la seconde cause de diarrhée chez les enfants de moins d'un an, la troisième cause chez les enfants de moins de 2 ans (Lemieux *et al.*, 2017).

Des études menées sur des cohortes d'enfants indiens et péruviens ont montré un ralentissement de la croissance s'exprimant par une taille et un poids significativement inférieur chez les enfants ayant contracté une cryptosporidiose dans leurs premières années de vie par rapport aux enfants sains. Néanmoins, sur le long terme, après l'âge de trois ans, il n'y avait plus de différence significative entre ces deux populations (Thomson *et al.*, 2017). Des cas d'atteintes des fonctions cognitives ont cependant également été rapportés (Lemieux *et al.*, 2017).

Chez l'Homme adulte l'infection à *Cryptosporidium* peut être asymptomatique.

Elle se traduit néanmoins plus communément par une atteinte limitée à l'intestin grêle se manifestant par des diarrhées aqueuses aiguës auto-résolutives, pouvant contenir du mucus et plus rarement du sang. Elles peuvent être accompagnées de nausées, de vomissements, de crampes abdominales et de fièvre modérée (O'Hara et Chen, 2011). Des cas en Irlande et en Suède ont cependant également été rapportés avec une persistance de l'expression de symptômes gastro-intestinaux et articulaires jusqu'à deux ans après l'infection initiale (Zahedi et Ryan, 2020).

La souche parasitaire, le statut nutritionnel de l'hôte, la composition de son microbiote intestinal, la co-infection avec d'autres pathogènes entériques, ainsi que les variations de réponse immunitaire notamment muco-sale, pourraient être différents facteurs expliquant la variabilité des tableaux cliniques chez l'Homme (Certad *et al.*, 2017).

Chez les individus immunodéprimés, comme nous l'avons vu, l'infection peut revêtir un caractère chronique sévère se manifestant par des diarrhées aqueuses pouvant évoluer pendant plusieurs mois, s'accompagnant de déshydratation et de malnutrition. La cryptosporidiose peut également s'étendre au tractus biliaire, se manifestant alors par un ictère post-hépatique par obstruction des voies biliaires, et au tractus pancréatique, à l'origine de pancréatites. Une colonisation des voies respiratoires peut également survenir. Chez les individus immunodéprimés, la cryptosporidiose peut entraîner la mort (Petry, 2004)(Zahedi et Ryan, 2020)(Ramirez *et al.*, 2004)(Certad *et al.*, 2017). La durée même et la gravité des signes cliniques dépendent du statut immunitaire de l'individu, et de sa quantité de lymphocytes LTCD4+ (O'Hara et Chen, 2011).

Chez l'Homme, le développement de signes cliniques suite à l'exposition au protozoaire ne

prévient pas du développement de futures infections. Ainsi, une exposition un an après une exposition primaire à *C. parvum* chez des volontaires se traduit par une expression clinique aussi fréquente mais moins sévère (de Graaf *et al.*, 1999).

6. Expression chez les ruminants

Comme évoqué précédemment, *C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae*, et *C. andersoni* sont les espèces de *Cryptosporidium* les plus rencontrées dans l'espèce bovine.

Cryptosporidium parvum est l'espèce principale à l'origine d'une expression clinique chez les veaux non sevrés : entre 2007 et 2011, la cryptosporidiose a ainsi représenté la première cause d'entérite chez les veaux au Royaume-Uni (Thomson *et al.*, 2017). Le pic de prévalence est estimé à deux semaines de vie, avec une période pré patente comprise entre 5 et 7 jours. L'excrétion fécale dure environ deux semaines (Zahedi et Ryan, 2020).

Plus le veau est âgé au moment de l'infection, plus la période prépatente est longue et la période patente brève (Naciri, 2007).

Chez le veau non sevré l'entérite se manifeste par une diarrhée profuse aqueuse, pouvant être muqueuse, jaunâtre à verdâtre mais non sanglante associée à de la déshydratation et de la malnutrition (Figure 5). Une perte d'appétit, des douleurs abdominales sont également rapportées (Naciri, 2007).

Chez le veau sevré, *C. bovis* et *C. ryanae* sont les espèces majoritaires mais leur infection reste le plus souvent asymptomatique chez ces individus qui restent néanmoins excréteurs (Zahedi et Ryan, 2020). Une étude suédoise a toutefois souligné le potentiel pathogénique de *Cryptosporidium bovis* à induire de la diarrhée chez des veaux de plus de 21 jours d'âge (Thomson *et al.*, 2017).

Chez le bovin adulte, *Cryptosporidium andersoni* et *Cryptosporidium muris* peuvent coloniser l'abomasum et être à l'origine de gastrites, d'une diminution de la production laitière ainsi que d'un retard dans la prise de poids (Thomson *et al.*, 2017)(Zahedi et Ryan, 2020)(Ramirez *et al.*, 2004).

Chez les ovins et les caprins, la cryptosporidiose clinique est une infection du jeune non sevré : après le sevrage les individus sont asymptomatiques. L'infection à *C. parvum* se traduit par des diarrhées profuses, ainsi qu'un retard de croissance. 65% des diarrhées chez les agneaux sont dues à *C. parvum*, 40% chez les chevreaux. Un retard de croissance est la seule manifestation d'une infection à *C. xiaoi* chez le chevreau (Zahedi et Ryan, 2020)(de Graaf *et al.*, 1999).

Chez les ruminants, la cryptosporidiose concerne ainsi essentiellement les animaux jeunes. Suite à une première exposition relativement continue dans un contexte de réservoir environnemental, les ruminants deviennent résistants. Des animaux plus âgés élevés à l'isolement et qui n'auraient pas eu de contact avec le protozoaire, restent sensibles à l'infection mais présentent un tableau clinique moins marqué (de Graaf *et al.*, 1999).

7. Impacts en élevages

En élevage, les impacts sont essentiellement économiques. Les pertes concernent aussi bien les soins vétérinaires engagés et les traitements à prodiguer, que des pertes plus directes liées à des surmortalités, à des défauts de croissance engendrant un plus faible poids des carcasses ou à la nécessité d'apports nutritionnels supplémentaires pour pallier ce retard de croissance.

Une perte de production pouvant aller jusqu'à 34 kg à 6 mois d'âge est ainsi rapportée entre des veaux atteints de cryptosporidiose et des veaux sains (Zahedi et Ryan, 2020)(Brainard *et al.*, 2021). A noter, une absence de différence significative de poids entre des veaux sévèrement infectés et des veaux présentant des formes cliniques.

Une étude menée par le *Scottish Agricultural College* estimait à 34 livres anglaises le coût par veau associé à la gestion d'une diarrhée néonatale, toute cause confondue (Thomson *et al.*, 2017). Une autre étude estime le coût associé à la gestion d'une diarrhée à *Cryptosporidium* être compris entre 100 et 200 livres anglaises, avec une perte par individu estimée à 128 livres anglaises selon les prix du marché en 2018, du fait de la perte de poids pouvant être importante (Brainard *et al.*, 2021).

Des études menées en Australie mettent en évidence une perte de poids de 1,65 kg à 2,6 kg au moment de l'abattage entre des agneaux ayant été positifs à la cryptosporidiose et des individus sains (Thomson *et al.*, 2017).

Chez les chevreaux, le retard de croissance peut se manifester par une différence de 3,45 kg à 25 jours post infection par rapport à un groupe contrôle (Mammeri *et al.*, 2020).

8. Prise en charge actuelle

A. Mesures d'hygiène préconisées

Des mesures d'hygiène adaptées restent un moyen efficace de diminuer la pression d'infection pour les animaux d'élevage.

Pour les soins aux veaux, il est conseillé d'administrer du colostrum le plus précocement possible aux nouveau-nés, d'isoler les individus diarrhéiques jusqu'à 7* jours après résolution de la diarrhée, de séparer individus non sevrés et sevrés et de veiller à limiter la densité animale. La mise en place d'une marche en avant au moment des soins aux veaux est également nécessaire. Enfin, une gestion des vêlages groupés sur une courte période pourrait également être envisagée afin de limiter l'effet incubateur.

Pour les mesures de nettoyage, le nettoyage fréquent notamment des zones de vêlages et des outils, à l'aide de désinfectants à base de peroxyde d'hydrogène, de vapeur, ou d'eau à haute température afin de détruire les oocystes présents dans l'environnement est préconisé. Un vide sanitaire pourra être réalisé en cas d'infection importante d'un lot.

Enfin, il peut être conseillé de restreindre l'utilisation des fumiers ou tout du moins de mettre en place des mesures de compostage préalable afin de tuer par la chaleur les oocystes ainsi présents

et d'éviter ainsi la contamination des sols et de l'eau sur les pâtures (Zahedi et Ryan, 2020)(Ramirez *et al.*, 2004)(Brainard *et al.*, 2021).

B. Traitements symptomatiques

La gestion des diarrhées néonatales chez le veau, dont celles à *Cryptosporidium* nécessite outre la prise en charge par des traitements spécifiques de l'agent infectieux incriminé, une prise en charge symptomatique de soutien afin de gérer les diarrhées et leurs conséquences.

La déshydratation et la perte d'électrolytes secondaires aux diarrhées nécessite ainsi l'administration de liquide et d'électrolytes par voie orale voire par fluidothérapie, en parentérale si l'état de l'animal le justifie (Figure 4). L'administration de pansements intestinaux tels que des argiles (kaolin), pectate, charbon actif, permettent également de protéger la muqueuse intestinale, et de limiter les pertes d'électrolytes.

L'aliment, lait maternel ou lactoremplacé, doit être proposé en petites quantités en plusieurs repas afin de favoriser sa digestion, et la lutte contre la perte de poids (Witola, 2021)(Watarai *et al.*, 2008).

Les mesures de nursing sont également importantes pour le bon rétablissement du veau.



Figure 5 : Diarrhée à *C. parvum* chez un veau Holstein. D'après (Witola, 2021)



Figure 4 : Fluidothérapie chez des veaux atteints de diarrhées. D'après K. Adjou, et source personnelle.



C. Traitements spécifiques

Très peu de molécules actives contre *Cryptosporidium* bénéficient d'une autorisation de mise sur le marché en Europe : le lactate d'halofuginone, est longtemps été la seule molécule autorisée en France, pour la prévention de la diarrhée et la réduction de la diarrhée due à une infection à *Cryptosporidium* chez le veau (Anses, 2020). Son usage chez d'autres espèces de ruminants entre dans la cascade.

Depuis juin 2022, le sulfate de paromomycine est autorisé en France pour le traitement des infections causées par *Cryptosporidium parvum* après confirmation de la présence d'oocystes dans leurs fèces : son usage en prophylaxie ou en métaphylaxie n'est pas autorisé, en plus de

sonancien usage dans le traitement des infections gastro-intestinales causées par *Escherichia coli* sensibles à la paromomycine chez le bovin pré ruminant et le porc (Anses, 2022). Son usage chez d'autres espèces de ruminants entrerait dans la cascade.

Chez l'Homme, le nitazoxanide est la seule molécule autorisée pour la prise en charge de la cryptosporidiose. Son usage en France peut être autorisé par autorisation d'accès compassionnel (Ansm, 2022).

a. Lactate d'halofuginone

Le lactate d'halofuginone est une quinazolinone identifiée dans les années 1990 et utilisée pour la prévention des diarrhées à cryptosporidiose chez les veaux, notamment en Europe, depuis 1999. Son usage n'a pas reçu d'autorisation aux Etats-Unis, ou chez d'autres espèces (Zahedi et Ryan, 2020)(Thomson *et al.*, 2017).

Son mécanisme d'action est peu compris mais cible des processus intracellulaires : il inhibe notamment l'ARNt synthétase ATP dépendante, empêchant la croissance et réduisant la viabilité de l'organisme ciblé. *In vitro*, une dose de 4 µg/ml supprime la croissance de *C. parvum* de 90% tandis qu'une dose de 25µg/ml inhibe 98,05% des sporozoïtes 27 heures après leur exposition (Brainard *et al.*, 2021).

Une méta-analyse réalisée en 2021 sur 18 articles décrivant 25 groupes comparés s'est intéressée aux effets prophylactiques et thérapeutiques du lactate d'halofuginone dans la gestion de la cryptosporidiose bovine sur : l'excrétion fécale d'oocystes, la sévérité de la diarrhée, la mortalité associée ainsi que le gain de poids. Les doses utilisées étaient comprises entre 100 et 150 µg/kg/ jour. Une précédente analyse des données disponibles issues de la recherche, avait été réalisée en 2009 sur la base de six articles mais n'avait pas permis d'obtenir des résultats concluants (Brainard *et al.*, 2021).

Chez le veau, l'utilisation prophylactique du lactate d'halofuginone, c'est-à-dire avant 5 jours d'âge, permet une réduction significative de l'excrétion fécale d'oocystes sur l'ensemble des études incluses.

Concernant la diarrhée, certaines études concluent à une sévérité significativement moindre, d'autres à l'absence de significativité. Les différentes données sont jugées statistiquement hétérogènes, indiquant un manque de cohérence dans les différents résultats rapportés.

Sur les quatre études s'intéressant à la mortalité, les résultats obtenus sont peu hétérogènes et indiquent une mortalité significativement moindre pour les individus traités.

Enfin, vis-à-vis du gain de poids, la méta-analyse ne rapporte pas d'effets bénéfiques. L'hétérogénéité statistique des résultats analysés est modérée, et par ailleurs le gain de poids est évalué à court terme sur des périodes de suivi n'excédant pas 33 jours (Brainard *et al.*, 2021). Parmi ces études, l'étude de Niine *et al.* rapporte une association négative avec le gain de poids (Zahedi et Ryan, 2020).

Par rapport à des veaux contrôles, des veaux recevant du lactate d'halofuginone présentent un gain de poids quotidien moyen significativement moins important au cours des trois premières semaines de vie. Au bout de neuf semaines, le gain de poids quotidien moyen était discrètement plus bas, mais non significativement, par rapport au groupe contrôle (Vélez *et al.*, 2019).

Chez le veau, l'utilisation thérapeutique du lactate d'halofuginone, c'est-à-dire après 5 jours d'âge est peu documentée, ce qui ne permet pas d'obtenir des conclusions robustes. L'excrétion fécale d'oocystes semblerait significativement diminuée ainsi que les scores de diarrhées. La mortalité semble également diminuée mais non significativement. Le gain de poids n'est pas étudié (Brainard *et al.*, 2021).

De manière plus générale, l'efficacité du lactate d'halofuginone est moindre en usage thérapeutique que prophylactique (Brainard *et al.*, 2021).

La méta-analyse souligne l'absence de données sur les bénéfices et coûts de son utilisation en élevage, et sur son effet environnemental (Brainard *et al.*, 2021).

Le lactate d'halofuginone est contre-indiqué chez les veaux en diarrhée depuis plus de 24 heures, les individus faibles ou déshydratés. Son utilisation nécessite de peser les animaux car des effets toxiques sont rapportés à deux fois la dose recommandée (Brainard *et al.*, 2021). Aux doses thérapeutiques, il est rapporté des lésions gastro-intestinales inflammatoires pouvant être nécrotiques, cependant réversibles, qui pourraient expliquer son impact sur le gain de poids quotidien moyen (Vélez *et al.*, 2019).

Ainsi le lactate d'halofuginone ne permet pas de prévenir efficacement la cryptosporidiose ni de la traiter, toutefois il permet une réduction de l'excrétion fécale d'oocystes chez le veau, ainsi que de la mortalité chez les moutons et les chèvres (Zahedi et Ryan, 2020)(Thomson *et al.*, 2017).

b. Sulfate de paromomycine

La paromomycine est un antibiotique aminoglycoside autorisé dans plusieurs pays d'Europe et plus récemment en France, pour le traitement de la cryptosporidiose chez le veau.

Son usage est déconseillé chez des veaux à jeun et par ailleurs son administration à 5 fois la dose recommandée peut provoquer des gastro-entérites sévères et des cystites nécrosantes (Anses, 2022)

Elle permet de réduire l'excrétion des oocystes et de la diarrhée, ainsi que de la mortalité mais n'est pas dénuée de toxicité, comme d'autres aminoglycosides, envers la sphère auditive et les reins notamment (Zahedi et Ryan, 2020).

En conditions expérimentales, l'administration de 100mg/kg pendant 11 jours de paromomycine chez des veaux expérimentalement infectés suite à un challenge unique permet une excrétion fécale très faible à nulle d'oocystes. A demi-dose et quart de dose, une excrétion fécale est observée après 7 jours de traitement. La durée et la gravité de la diarrhée sont diminuées pour les trois groupes par rapport aux animaux non traités (Fayer et Ellis, 1993).

Une étude de terrain menée chez des veaux naturellement infectés traités avec 100 mg/kg de paromomycine une fois par jour pendant 10 jours, a permis de prévenir l'apparition de diarrhées chez les veaux traités pendant la durée du traitement, tandis que les veaux contrôles ont présenté de la diarrhée après 7 jours. L'ensemble des veaux a présenté une excrétion fécale d'oocystes

mais cette dernière était significativement plus tardive chez les veaux traités (Thomson *et al.*, 2017).

A noter, que l'administration de paromomycine altère la composition du microbiote murin : cette altération se traduit par une augmentation de l'abondance relative en lactobacilles, bactéries du phylum des firmicutes impliquées dans la synthèse d'acides gras à chaîne courte. La charge bactérienne totale semble diminuée mais la diversité bactérienne du microbiote n'apparaît pas impactée (Charania *et al.*, 2020).

Chez l'Homme, la paromomycine n'aurait un effet que placebo dans la gestion de la cryptosporidiose (Harp, 2003).

Il est important de mentionner que la paromomycine est également autorisée et utilisée en médecine humaine dans la prise en charge de la leishmaniose viscérale. A ce titre elle appartient à la liste des médicaments essentiels établis par l'Organisation Mondiale de la Santé (Pokharel *et al.*, 2021) (« WHO Model List of Essential Medicines - 23rd list, 2023 », s. d.).

Par ailleurs, si à ce jour il n'a pas été décrit de résistance des cryptosporidies à la paromomycine, son usage sélectionne pendant à haute fréquence des résistances bactériennes et favorise l'apparition de résistances croisées à d'autres aminoglycosides comme la néomycine, chez les entérobactéries de la flore intestinale. Cette classe d'antibiotique appartient aux antibiotiques d'importance critique en médecine humaine et de fait leur usage en première intention en médecine vétérinaire est déconseillé. Par ailleurs, la paromomycine persiste dans l'environnement (Anses, 2022). Ces différentes données engagent à un usage réfléchi de cette molécule.

c. Nitazoxanide

Le nitazoxanide est un dérivé nitro-imidazolé autorisé par la *Food and Drug Administration* (FDA) aux Etats-Unis, pour le traitement de la cryptosporidiose humaine. Néanmoins, ce traitement n'est que partiellement efficace. Ainsi, il n'est efficace que chez 38% des individus immunocompétents, et inefficaces chez les individus immunodéprimés (Zahedi et Ryan, 2020). En France, il n'est utilisable chez l'Homme que sous réserve de l'obtention d'une autorisation temporaire d'utilisation nominative par autorisation d'accès compassionnel (Divoux *et al.*, 2006)

Chez le veau, son efficacité reste peu claire. Selon les études, des effets bénéfiques ont été rapportés chez des veaux nouveaux nés infectés expérimentalement. D'autres ne rapportent aucun intérêt thérapeutique ou prophylactique (Ichikawa-Seki *et al.*, 2019).

d. Enjeux actuels

De par son potentiel zoonotique important, et ses impacts forts en santé publique mondiale et économiques dans les filières élevages, la mise au point de mesures thérapeutiques efficaces sûres reste un enjeu de taille dans le contrôle de cette maladie parasitaire.

Les difficultés de la recherche à établir de nouveaux traitements sont multiples et largement dues aux caractéristiques uniques de *Cryptosporidium* que nous avons pu mentionner précédemment.

- L'organelle de nutrition présent entre la vacuole parasitophore et le cytoplasme de la cellule hôte agit comme une barrière, isolant les stades intra cellulaire des molécules agissant par voie systémique se retrouvant dans le cytoplasme des cellules. L'incapacité des molécules

développées à franchir l'organelle pourrait expliquer la différence de résultats observée entre les étapes *in vitro* et *in vivo* (Zhu *et al.*, 2021).

- Leur position intracellulaire dans la vacuole les isole également des molécules à délivrance locale dans la lumière intestinale, et dans un contexte de diarrhées il peut être difficile d'atteindre une concentration temps dépendante suffisante à l'action d'une telle molécule (Zhu *et al.*, 2021).
- Par ailleurs, si l'obtention d'un nombre important d'oocystes de *C. parvum* est facilité par l'excrétion massive de veaux touchés par la cryptosporidiose, les stades oocystes et sporozoïtes sont les seuls obtenables purs, et du fait du cycle de développement du parasite, sa croissance *in vitro* est compliquée et limitée aux stades asexués jusqu'à l'obtention de macro et micro gamontes qui ne sont pas capables de se fertiliser. Le maintien d'un isolat par culture continue n'est pas possible. Le développement de nouveaux outils comme des plateformes de cellules souches pourraient permettre de résoudre cette difficulté (Zhu *et al.*, 2021).
- Enfin, le développement même de cibles thérapeutiques représente un défi du fait de l'absence chez *Cryptosporidium* de nombreuses voies de biosynthèse *de novo* de composés métaboliques, contrairement aux autres apicomplexes (Zhu *et al.*, 2021).

Ainsi, rien qu'au début des années 2000, plus de 150 agents antimicrobiens différents ont été étudiés (Ramirez *et al.*, 2004), et si certains permettent de réduire l'importance des symptômes, à ce jour aucun traitement à l'étude ne permet d'éliminer complètement la maladie et aucun n'a été approuvé.

Les enjeux actuels se concentrent ainsi autour de deux stratégies complémentaires : une action directe sur le parasite afin d'interrompre son cycle de développement, et une action plus indirecte visant à renforcer la réponse immunitaire de l'hôte (Gaillard-Martini, 2020).

D. Vaccination

Face au manque de solutions thérapeutiques efficaces, la question de l'obtention d'un vaccin dans la gestion de la cryptosporidiose s'est rapidement posée. Deux populations cibles pourraient ainsi être concernées, les enfants en bas âge des pays en développement où la transmission du parasite ne peut être contrôlée et les moyens de purification de l'eau complexes à mettre en place, et les ruminants nouveau-nés, particulièrement exposés (de Graaf *et al.*, 1999).

Néanmoins, comme le souligne les différents auteurs, et comme cela peut être le cas pour les traitements, au vu de l'infectiosité de *Cryptosporidium*, l'objectif poursuivi par la vaccination n'est pas tant d'obtenir une protection stérile, mais bien une réduction des signes cliniques et ainsi des pertes de production associée à l'infection parasitaire, et une réduction de la contamination de l'environnement.

a. Vaccination active des veaux

En conditions expérimentales, un vaccin issu d'oocystes de *Cryptosporidium parvum* tués par irradiation et lyophilisés, administré par voie orale a permis d'immuniser les veaux receveurs, réduisant l'excrétion fécale d'oocystes chez ces individus ainsi que la durée moyenne de la diarrhée. Testé en conditions de terrains, ce vaccin ne s'est pas montré efficace (Harp et Goff, 1998).

Du fait de l'exposition des jeunes ruminants dès la naissance et du cycle de reproduction relativement rapide du protozoaire, l'efficacité d'une vaccination active contre *Cryptosporidium* repose sur la capacité à obtenir une réponse immunitaire protectrice rapide.

La maîtrise des moyens d'hygiène reste ainsi essentielle afin de réduire la pression infectieuse dans le milieu, et permettre la mise en place à temps d'une telle réaction (Harp et Goff, 1998).

Enfin, dans l'élaboration d'un tel vaccin à destination des veaux, il est important de choisir une cible antigénique afin que cette dernière ne soit pas neutralisée par les anticorps maternels contenus dans le colostrum.

b. Vaccination passive des veaux, vaccination des mères, notion de colostrum hyper immuns

Du fait de la précocité de l'infection et à l'instar d'autres agents pathogènes à l'origine d'entérite néonatales chez le veau, la vaccination des mères afin d'assurer la production d'anticorps colostraux «anti-cryptosporidium» a également été étudiée. Le colostrum issu de ces mères vaccinées est enrichi en anticorps mais également en cellules immunitaires telles que des lymphocytes, neutrophiles, macrophages, et en cytokines et autres molécules impliqués dans les mécanismes de l'immunité, tout comme les colostrums non hyper-immuns (Naciri, 2007).

L'action locale des immunoglobulines spécifiques sur les stades libres de *Cryptosporidium* apportées par le colostrum maternel est brève et estimée entre 36-48h. Leur présence ne permet pas de couvrir la durée du cycle parasitaire (Naciri, 2007). L'administration de colostrum non-hyper immun ne permet pas d'apporter une protection contre *Cryptosporidium* (de Graaf *et al.*, 1999).

Plusieurs études rapportent des résultats prometteurs quant à l'utilisation de colostrum hyper-immuns dans la gestion de la cryptosporidiose néonatale bovine.

Chez des vaches en fin de gestation, l'administration d'une protéine recombinante contenant une séquence d'une protéine de surface P23 du stade sporozoïte, a permis d'obtenir après challenge chez les veaux issus de ces mères, une diminution significative de l'excrétion fécale d'oocystes. Par ailleurs, aucun de ces veaux n'a présenté de diarrhée (de Graaf *et al.*, 1999).

Chez des chèvres, la vaccination des mères à l'aide d'une protéine de surface CP15 du stade sporozoïte, a permis d'obtenir une excrétion fécale significativement moindre d'oocystes, et une excrétion fécale plus courte chez les chevreaux issus de ces mères. Par ailleurs, l'infection à *C. parvum* chez ces chevreaux ne s'est pas traduite par une atteinte sévère, matérialisée par le gain de poids journalier, contrairement aux chevreaux des mères n'ayant pas été vaccinées (de Graaf *et al.*, 1999).

Ainsi en permettant une diminution significative de l'excrétion fécale d'oocystes, et une diminution de la sévérité des diarrhées, la mise au point d'un vaccin efficace aurait un impact important sur la santé et le bien être des animaux, et significatif sur la contamination de l'environnement et ainsi en santé publique.

Deuxième partie : Microbiote, notions et outils d'études

1. Définition

Le terme de microbiote (ou flore intestinale) est un terme parapluie qui regroupe en réalité plusieurs notions distinctes. Un microbiote est une communauté complexe de bactéries, archées, eucaryotes qui habite, considérant le microbiote gastro-intestinal, l'ensemble du tractus gastro-intestinal d'un animal.

Un microbiome se compose d'un microbiote et de son métagénome : gènes et génomes des communautés le composant, ainsi que l'ensemble des molécules issues du métabolisme de ces communautés (Figure 6) (McKenney *et al.*, 2017)(« Microbiote ou microbiome ? », 2021).

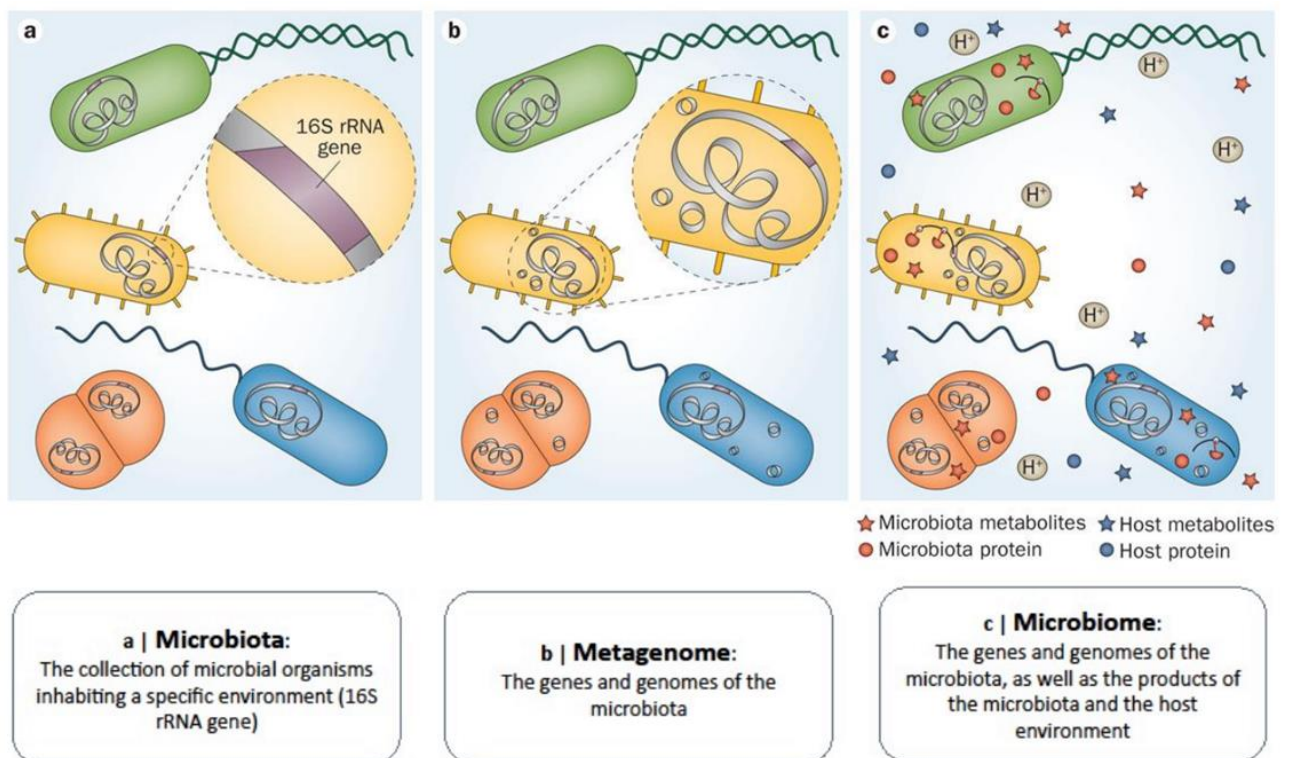


Figure 6 : Microbiote, métagénome, microbiome : définitions. D'après (Whiteside *et al.*, 2015)

Par soucis de simplification et parce que la distinction n'est pas toujours réalisée dans les articles étudiés, le terme microbiote sera préférentiellement utilisé dans ce travail.

Le microbiote le plus décrit et étudié, et celui auquel nous nous intéresserons essentiellement, est le microbiote intestinal. Néanmoins, la notion de communauté complexe de micro-organismes vivant dans un environnement spécifique s'étend également au tractus uro-génital, à la peau, aux voies respiratoires supérieures jusqu'aux poumons, ainsi qu'hors du règne animal, aux plantes,

chez lesquelles le phytobiotique joue des rôles cruciaux, à l'interface entre environnement et hôte (Gauguier, 2021)(Brachi, 2022).

2. Microbiote intestinal

Au sein du microbiote intestinal, les bactéries essentiellement anaérobies constituent le règne majeur des populations des microbiotes intestinaux. Plus difficilement étudiables, archées, virus, champignons et protozoaires constituent néanmoins des populations également importantes par les différentes interactions qui s'établissent entre elles (Sadanand, 2019).

Ainsi il existe des interactions complexes entre populations bactériennes et mycologiques entériques présentant des fonctions redondantes de protection et de tolérance dans un contexte de régulation de la réponse immunitaire. Néanmoins, chez l'Homme, dans des contextes de maladies inflammatoires intestinales, le mycobiome peut jouer un rôle dans la progression de ces maladies en s'enrichissant au détriment des bactéries (Sadanand, 2019).

Au sein de l'archéome, les archées méthanogènes représentent les microorganismes les plus abondants dans l'intestin humain (Sadanand, 2019).

Considérant le virome, la plupart des séquences mises en évidence dès 2003 chez l'Homme, sont issues de phages tempérés intégrés dans le génome bactérien de bactéries essentiellement Gram positives (Sadanand, 2019). Intégrés au génome bactérien, ils peuvent avoir un impact sur l'expression de ce dernier (Gauguier, 2021).

L'expansion de certains bactériophages a été corrélée à l'évolution de la maladie de Crohn (Sadanand, 2019).

Localement le microbiote intestinal est impliqué dans la digestion, la production de nutriments et interagit avec le système immunitaire. Ses populations produisent également des substances appelées bactériocines, séquestrent des ressources nécessaires à la croissance d'organismes potentiellement pathogènes et occupent un espace qui n'est pas disponible pour ces populations : c'est la résistance à la colonisation (McKenney *et al.*, 2017)(« Microbiote ou microbiome ? », 2021)(Fehervari, 2019).

A l'échelle de l'organisme, des associations ont été mises en évidence entre microbiote intestinal et maladies intestinales comme la maladie de Crohn (Sadanand, 2019), maladies chroniques : obésité, diabète, cardiopathies, désordres auto-immuns, développement de certains types de cancer en lien avec le régime alimentaire (Bucci, 2019). Des liens ont également été établis avec le développement cérébral, des troubles neurodégénératifs comme la maladie de Parkinson, ou encore des troubles psychiatriques comme l'anxiété (Bray, 2019)(Gauguier, 2021). Enfin, le microbiote joue un rôle dans la métabolisation de médicaments, que ce soit en termes d'activation, de toxicité ou d'efficacité (Brunello, 2019).

Bien que la toute première description de microorganismes en association avec l'Humain remonte au 17^{ème} siècle, et s'est par la suite poursuivie avec l'avènement de la microbiologie durant la seconde moitié du 19^{ème} siècle (Pariente, 2019), ce n'est que grâce au développement récent d'outils computationnels, l'amélioration des techniques de séquençage, le développement d'importantes bibliothèques de données, ainsi que l'obtention de résultats aux implications

multiples en matière de santé et de physiologie que l'étude du microbiote s'est réellement développée.

3. Microbiote intestinal et santé

A. Microbiote et maladies infectieuses

L'impact majeur de la présence d'un microbiote intestinal vis-à-vis des affections infectieuses intestinales se traduit par la notion de résistance de colonisation, et les mécanismes qui y sont associés.

La résistance de colonisation réfère à la capacité d'un microbiote à limiter l'introduction et l'établissement de microorganismes exogènes (Ignacio *et al.*, 2019).

Ainsi, des souris dont le microbiote est appauvri suite à un traitement antibiotique sont bien plus sensibles à un challenge oral par des souches peu pathogènes de *Salmonella* et d'*E. coli* que des souris contrôles (Fehervari, 2019).

Cette résistance s'établit notamment par une compétition passive pour l'espace et les ressources trophiques.

Des micro-organismes occupant une même niche écologique présentent des besoins nutritionnels en acides organiques, acides aminés, sucres et autres nutriments similaires. Leur consommation par les populations de la flore commensale restreint donc leur disponibilité pour les populations exogènes susceptibles d'être pathogènes. Chez la souris la bactérie *Bacteroides thetaiotaomicron* limite par exemple la croissance de l'agent infectieux *Citrobacter rodentium* par compétition pour les glucides (Ignacio *et al.*, 2019).

Par ailleurs, la disponibilité des nutriments joue un rôle clé dans l'expression des gènes de virulence et la croissance de pathogènes comme *E. coli* ou *C. difficile* (Tungland, 2018a). Il est concevable de penser qu'une compétition pour ces derniers entre populations commensales et exogènes pourrait ainsi moduler l'expression de ces gènes.

Le métabolisme même des populations microbiennes du microbiote intestinal participe au contrôle des différentes populations, par la modulation de la teneur en oxygène ainsi que du pH notamment par la production d'acides gras à chaîne courte issus de la fermentation des glucides par les communautés microbiennes (Figure 7) (Ignacio *et al.*, 2019).

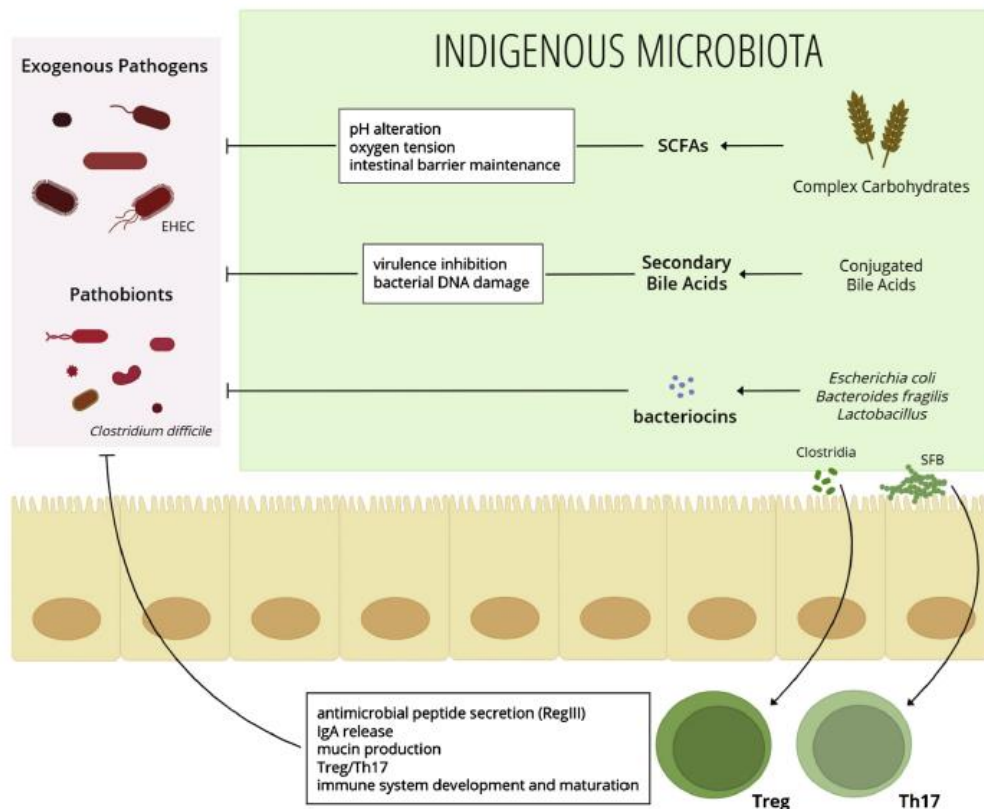


Figure 7 : Relations entre communautés bactériennes au sein du microbiote intestinal et homéostasie intestinale. D'après (Ignacio et al., 2019)

Par ailleurs, certaines populations bactériennes sont capables de produire des substances à spectres étroits limitant la croissance d'individus de la même espèce ou d'espèces apparentées. Observées dès 1921 dans une co-culture d'*Escherichia coli*, certaines souches commensales d'*E. coli* produisent ces bactériocines inhibant la croissance d'*E. coli* entérohémorragique EHEC (Figure 7) (Ignacio et al., 2019)(Fehervari, 2019). Les souches probiotiques de *Lactobacillus salivarius* UCC118 produisent de même, la nacteriocine Apb118 capable de protéger des souris contre une infection à *Listeria monocytogenes* (Fehervari, 2019).

Les acides gras à chaîne courte issus du métabolisme des micro-organismes et notamment le butyrate, peuvent réguler négativement l'expression de gènes de virulence comme le système de sécrétion de type 3 chez *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* et *Typhimurium* (Ignacio et al., 2019).

La métabolisation des acides biliaires en acides biliaires secondaires par *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacteria spp.*, *Enterobacter spp.*, *Bacteroides spp.*, ou *Clostridium spp.* régule également l'expression de facteurs de virulence, altère les membranes bactériennes, la conformation spatiale des protéines et induit des dommages à l'ADN (Ignacio et al., 2019).

Enfin, le microbiote intestinal joue un rôle clé dans l'induction, le développement et la fonction du système immunitaire local de l'hôte mais aussi systémique.

Ainsi l'activation des cellules de Paneth au sein de l'épithélium intestinal induit la production de protéines antimicrobiennes comme la *regenerating islet-derived protein-3*, *Reg3-γ*, en réponse à la stimulation des TLR par la flore commensale.

Chez les rongeurs, l'interaction de bactéries commensales comme les clostridies ou les bactéries segmentées filamenteuse (SFB) avec l'épithélium intestinal participe à la différenciation des lymphocytes intestinaux : les clostridies induisent l'accumulation de lymphocytes LTCD4+ régulateur spécifiquement, et les SFB de LTCD4+ Th17 impliqués dans le maintien de la barrière intestinale et la réponse immunitaire locale (Ignacio *et al.*, 2019).

Malgré la pluralité des mécanismes impliqués dans la résistance de colonisation, ces derniers peuvent être contournés par les entéropathogènes.

L'inflammation intestinale peut altérer la composition du microbiote, le rendant plus sensible à la colonisation de bactéries invasives (Fehervari, 2019).

Certains pathogènes comme *C. difficile* ou *S. typhimurium* peuvent également utiliser comme source d'énergie des substrats issus du métabolisme des bactéries commensales comme certains sucres issus de *B. thetaiotaomicron* (Ignacio *et al.*, 2019).

Enfin, certaines *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) orientent leur métabolisme pour se soustraire à la compétition pour les nutriments imposée par les organismes commensaux (Ignacio *et al.*, 2019).

Néanmoins, des animaux préalablement colonisés par trois souches d'*E. coli* commensales différentes présentant des besoins nutritionnels différents sont résistants à la colonisation par les EHEC tandis qu'ils deviennent sensibles s'ils n'ont été colonisés qu'avec une seule souche (Ignacio *et al.*, 2019).

La diversité du microbiote apparaît ainsi comme un élément clé comme support de ses bénéfiques pour la santé de l'hôte, par la création d'un effet tampon face à d'éventuelles perturbations (McKenney *et al.*, 2017).

B. Maladie intestinale et maladies chroniques

a. Le microbiote intestinal comme agent causatif transférable

L'utilisation dès les années 1960 d'animaux élevés dans des environnements stériles, et donc exempts de microbiote a permis de nombreuses avancées dans la compréhension des dynamiques s'établissant entre ces derniers et leur hôte.

Ces animaux dits « germ-free » ont une espérance de vie similaire à celle d'animaux normaux mais leur croissance est ralentie et ils présentent des différences anatomiques et physiologiques par rapport à des animaux normaux. Leur caecum est ainsi élargi, ils présentent une motricité digestive ralentie, une différenciation des cellules de la paroi intestinale inachevée, un réseau immunitaire local moins dense par rapport à des animaux normaux (Gauguier, 2021)(Brunello, 2019).

Le transfert chez ces animaux de communautés microbiennes issues d'un individu par transplantation fécale permet l'établissement de ces communautés et l'obtention d'un microbiote semblable en nombre de souches microbiennes et en localisation de ces souches à celui de l'individu donneur (Brunello, 2019).

Il est ainsi possible de transférer chez des animaux « germ-free » des communautés microbiennes associées à des maladies humaines et ce faisant, transférer le phénotype associé à ces maladies, à ces animaux. De nombreuses recherches ont été réalisées afin d'établir les relations causales

qui peuvent exister entre des communautés microbiennes et des maladies notamment chroniques, comme l'obésité (Pariente, 2019).

A l'inverse, le transfert d'un microbiote d'un individu sain à un individu malade peut permettre la résolution de son affection. La transplantation fécale peut ainsi permettre de résoudre des diarrhées débilitantes récidivantes à *Clostridium difficile* en normalisant la diversité microbienne et la structure des différentes communautés dans le côlon (Stone, 2019). Elle permet également chez des individus souffrant de syndrome métabolique, ensemble de troubles physiologiques et biochimiques associé à une obésité abdominale (Fédération Française de Cardiologie, 2016), d'augmenter la diversité microbienne au sein du microbiote intestinal, de restaurer une sensibilité à l'insuline ainsi que la métabolisation des acides gras à chaîne courte impliqués dans la réduction des maladies métaboliques et promouvant la santé (Bucci, 2019)(White, 2019).

b. Impact de l'environnement

- *Alimentation*

Le microbiote intestinal, s'il est en relation avec l'organisme hôte, l'est également avec l'environnement de ce dernier et notamment son alimentation.

Le régime alimentaire modifie le microbiote intestinal.

Chez des souris portant la mutation Kras impliquée dans le cancer colorectal humain, un régime enrichi en gras (*High Fat Diet*) induit des tumeurs intestinales. Le transfert du microbiote de ces souris chez des souris également mutées Kras mais nourries avec un régime normal induit également ces tumeurs. L'inflammation à l'origine de ces cancers colorectaux ainsi induits répond à un traitement antibiotique (Bucci, 2019).

Le régime alimentaire modifie également l'expression du microbiote intestinal.

Ainsi chez l'Homme, un régime alimentaire riche en fibres comme peut l'être celui de communautés rurales, est associé à une diversité microbienne intestinale augmentée, un enrichissement en certaines espèces comme *Prevotella* impliquées dans la synthèse de propionate et d'acétate, avec des concentrations plus importantes d'acides gras à chaîne courte et une réduction de l'incidence de maladies métaboliques (White, 2019)(Beaver *et al.*, 2021).

Les bactéries anaérobies coliques sont capables de fermenter les polysaccharides de plantes mais également les protéines glycosylées qui borde l'épithélium intestinal et forment la couche de mucus protectrice, en réponse à des régimes alimentaires différents, plus ou moins enrichis en fibres.

La disponibilité en fibre module en effet l'expression de gènes bactériens. Un régime enrichi en fibres se traduit par une régulation positive des gènes bactériens impliqués dans la métabolisation des polysaccharides, tandis qu'un régime dépourvu de fibres régule positivement les gènes des enzymes capables de dégrader la couche de mucus protectrice. Les parois coliques sont par conséquent fragilisées, favorisant leur inflammation, l'établissement de pathogènes, et la survenue de cancers (Farrell, 2019).

- *Notion de communauté*

Le microbiote est une communauté complexe de microorganismes.

L'impact et les effets du microbiote intestinal sur son hôte dépendent également des interactions entre les différentes espèces microbiennes présentes au sein de ces communautés.

Ainsi, une souche de *Lactobacillaceae* dont l'action sur les acides biliaires a été prouvée *in vitro*, ne présente pas les mêmes capacités métaboliques chez des rats « *germ-free* » jusqu'à l'introduction de souches bactériennes additionnelles (Brunello, 2019).

C. Microbiote et développement cérébral : l'axe intestin-cerveau

Le microbiote intestinal influence aussi le développement cérébral et ses fonctions, notamment chez la souris, modèle animal particulièrement étudié.

Le microbiote intestinal peut être impliqué dans la modulation de comportements. Ainsi, des lignées de souris différentes présentent des niveaux d'anxiété différents. Ces derniers se traduisent par exemple par des comportements explorateurs différents, plus ou moins marqués. Par ailleurs, les souris « *germ-free* » ont une réponse hormonale au stress de la contention plus marquée. Les niveaux d'anxiété distincts des différentes lignées de souris sont associés à des compositions différentes du microbiote, et par ailleurs ils sont transférables par transplantation fécale (Bucci, 2019).

Ainsi, des souris présentant un microbiote altéré ou « *germ-free* », montrent des modifications de l'expression de facteurs neurotrophiques dans des zones spécifiques du cerveau impliquées dans la modulation de l'anxiété et de la dépression, des différences dans l'expression de divers récepteurs de neurotransmetteurs et une altération dans le *turnover* de certains neurotransmetteurs comme la sérotonine (Bray, 2019).

Par ailleurs, certains pathogènes entériques, comme les toxoplasmes, peuvent affecter le comportement de l'hôte, souris comme Homme, favorisant les comportements considérés comme dangereux, notamment via la réponse immunitaire inflammatoire qui induit l'expression de indoléamine 2-3 dioxygénase 1 (IDO), une enzyme impliquée dans le catabolisme du tryptophane, précurseur de la sérotonine (Enders, 2014)(Desmettre, 2020).

Le microbiote intestinal est également suspecté comme étant impliqué dans le développement de certaines maladies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson. Dans un modèle de maladie parkinsonienne, la présence d'un microbiote et notamment de certaines souches d'*E. coli* et d'*Enterobacteriaceae* et d'acides gras microbiens à chaîne courte, promouvait une neuroinflammation, des atteintes motrices ainsi qu'une forme pathologique d'alpha synucléine, peptide amyloïde impliqué dans le développement de la maladie (Bray, 2019). Des formes pathologiques d'alpha synucléine peuvent également se propager de l'intestin au système nerveux central via le nerf vague (Gauguier, 2021).

Les mécanismes et les trajets de transmissions impliqués dans l'axe intestin-cerveau ne sont pas complètement connus. Certaines bactéries intestinales sporulant peuvent augmenter la production de sérotonine par stimulation des cellules entérochromaffines dans le côlon de souris, sans que

l'on ne sache de quelles façons le cerveau pourrait en être impacté. Des composants issus du métabolisme et des membranes bactériennes seraient par ailleurs capables de se transloquer depuis l'intestin et de passer la barrière hématoencéphalique, par voie sanguine, via le système immunitaire ou par transit par le nerf vague. En effet, la section du nerf vague, sous le diaphragme, permet de bloquer les effets anxiolytiques de la souche probiotique *Lactobacillus rhamnosus* chez la souris, et l'incidence de la maladie de Parkinson est moindre chez des individus ayant subi une vagotomie (Bray, 2019)(Gauguier, 2021)(Jagatia, 2019).

4. Mise en place et développement

A. Colonisation et chronologie

La colonisation bactérienne du tube digestif est précoce.

Des traces d'ADN bactériens ont été retrouvées dans le placenta, le fluide amniotique ainsi que le méconium de foetus humains suggérant à minima l'exposition des foetus à des molécules microbiennes traversant le placenta de la mère au cours de la vie anténatale chez l'Homme (York, 2019).

L'acquisition d'un microbiote se fait pendant et immédiatement après la naissance par contact avec les flores vaginales et fécales de la mère.

Le microbiote des nouveaux-nés nés par voie naturelle est enrichi en bactéries semblables au microbiote vaginal : il est ainsi notamment enrichi en lactobacilles au contraire des enfants nés par césarienne, dont le microbiote fécal est enrichi en bactéries commensales de la peau telles que des staphylocoques, streptocoques, et *propionobacterium*. Chez ces enfants nés par césarienne, les bactéries associées à la césarienne peuvent être retrouvées dans le microbiote fécal jusqu'à l'âge de deux ans (York, 2019).

Chez la souris comme chez l'Homme, les premières bactéries à se développer sont des bactéries anaérobies facultatives et des bactéries microaérophiles. Des analyses de l'ARNr 16S sur des contenus caecaux murins, montrent qu'à une semaine d'âge les communautés bactériennes sont peu diversifiées et dominées par des bactéries anaérobies facultatives des genres *Actinobacillus*, *Lactobacillus* ou *Escherichia*.

La colonisation progressive de bactéries du phylum des *Proteobacteria*, bactéries anaérobies facultatives, dans les jours suivants participe à l'abaissement de la concentration locale en oxygène, favorisant l'établissement d'espèces anaérobies strictes comme *Bacteroides spp.*, *Parabacteroides*, *Clostridium spp.* ou *Bifidobacterium spp.*, majoritaires à deux semaines d'âge chez la souris, et des premiers champignons vers 10 jours d'âge chez le veau (VanDussen *et al.*, 2020)(Zened *et al.*, 2021)(Mammeri *et al.*, 2019).

Chez le veau, les *Proteobacteria* représentent plus de 50% des anaérobies facultatives dans les premiers jours de vie (Zened *et al.*, 2021).

A trois et six semaines de vie, le microbiote murin s'est enrichi en *Clostridium*, et voit l'abondance en *Bacteroides* et *Parabacteroides* diminuer en parallèle de l'augmentation des genres *Blautia* et *Mucispirillum* (VanDussen *et al.*, 2020).

Chez les jeunes ruminants, l'introduction de céréales dans le régime alimentaire induit une diminution importante du genre *Bacteroides* (Zened *et al.*, 2021).

De même chez le chevreau, l'étude de la diversité alpha des populations bactériennes retrouvées dans les fèces montre une augmentation stable de cette diversité dans les quinze premiers jours

de vie. Dès 5 jours, on voit ainsi émerger différents taxa tels que *Dialister*, *Intestinibacter*, *Sellimonas*, *Anaerotruncus*, *Enterobacter*, *Mogibacterium* et *Bifidobacterium*. A 15 jours, trois genres de la famille des *Ruminococcaceae* émergent : *Intestinimonas*, *Eubacterium*, et *Ruminococcaceae UCG-004* (Mammeri *et al.*, 2020).

Dans les premiers temps de la vie, le microbiote intestinal subit ainsi des changements importants, s'adaptant au cours du temps aux changements alimentaires, aux différents nutriments disponibles et à l'environnement dans lequel l'individu évolue. L'évolution du régime alimentaire, de la consommation de lait vers la consommation de sucres et de substrats plus complexes induit des changements de composition du microbiote, avec un enrichissement des fonctions bactériennes en lien avec la métabolisation des sucres et la biosynthèse d'acides aminés (York, 2019).

Ainsi chez l'Homme, le microbiote d'enfants de 12 mois encore allaités est dominé par *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*. Le microbiote d'enfants du même âge qui ne sont plus allaités, est enrichi en espèces prévalentes chez l'adulte, telle que *Clostridia* (VanDussen *et al.*, 2020).

L'utilisation d'antibiotiques dans la vie précoce impacte la diversité et la stabilité du microbiote au cours de sa maturation : l'abondance de certains taxa peut ainsi rester réduite plusieurs années après le traitement chez l'enfant (York, 2019).

Chez le veau, une étude a mis en évidence chez des individus recevant du lait cru contenant des résidus médicamenteux de ceftiofur, d'ampicilline, de pénicilline et d'oxytétracycline, une proportion plus élevée d'*E. coli* multirésistante. Leur microbiote intestinal analysé sur la base des échantillons fécaux récoltés pouvait être distingué de celui de veaux nourris au lait cru ne contenant pas de résidus antibiotiques (Beaver *et al.*, 2021).

Chez l'enfant, les communautés bactériennes se stabilisent et ressemblent à celles des adultes vers l'âge de 2-3 ans (York, 2019).

B. Impact de l'alimentation

L'alimentation apparaît comme un déterminant majeur du développement du microbiote intestinal dans la vie précoce : la maturation du microbiote est différente chez des enfants malnutris par rapport à des enfants sains, et ce même si un changement alimentaire est mis en place (York, 2019).

Le lait maternel contient des communautés bactériennes qui pourraient participer à l'installation du microbiote intestinal chez le nourrisson. Par ailleurs, le microbiote du nourrisson allaité est dominé par des espèces capables de métaboliser les oligosaccharides contenues dans le lait humain : à 12 mois le microbiote des enfants allaités est toujours dominé par *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* alors que celui de ceux qui ne le sont plus est enrichi en espèces prévalentes chez les adultes comme les clostridies (York, 2019)(VanDussen *et al.*, 2020).

Chez les veaux, la consommation de colostrum favorise la colonisation microbienne de l'intestin grêle. La prévalence de *Bifidobacteria* et *Lactobacillus* est réduite si la prise de colostrum est retardée de 12 heures. Par ailleurs, une étude s'intéressant à l'impact de l'usage des

lactoremplaçants par rapport à l'allaitement sur le développement du microbiote intestinal chez le veau, rapporte une différence de diversité Bêta entre les deux groupes (Beaver *et al.*, 2021). Chez l'agneau, la méthode de nourrissage, sous la mère ou au biberon, affecte l'acquisition et la structure du microbiote intestinal initial. Chez les agneaux nourris au biberon, le microbiote fécal était enrichi en *Escherichia* et *Shigella* par rapport aux agneaux allaités : au sein du microbiote intestinal l'établissement de l'environnement anaérobie et des microorganismes anaérobies pourrait être retardé par rapport à un mode d'alimentation plus naturel (Beaver *et al.*, 2021). Néanmoins, il est compliqué de conclure à l'implication respective du type d'aliment, de l'environnement d'élevage ou du contact avec la mère sur ces modifications.

C. Impact des modes d'élevage

Une étude menée en 2021, s'est intéressée à l'impact des méthodes d'élevages des veaux sur le développement de leur microbiote intestinal. Deux groupes ont été étudiés : les veaux du groupe *Conventionnel* étaient séparés de leur mères six heures après la naissance, et nourris avec du lait non inclus au tank, pasteurisé : lait de vaches ayant vêlées dans les jours précédents, lait avec un taux cellulaire élevé et lait de vaches recevant des antimicrobiens. Les veaux du groupe *Contact maternel* étaient en contact avec les mères durant la nuit pour une durée de 13h et nourris au biberon avec du lait de vache. La tétée des mères était empêchée.

Si le protocole d'étude ne permet pas de conclure avec certitude sur l'association de chaque facteurs aux résultats obtenus, des différences ont néanmoins été observées entre les deux groupes. Les échantillons fécaux des veaux âgés de 4 semaines du groupe *Conventionnel* présentent une abondance relative en lactobacilles réduite. Les analyses réalisées avec le logiciel PICRUSt2, logiciel de prédiction des fonctions microbiennes basé sur le microbiome humain (Douglas *et al.*, 2020), montrent chez ces veaux des niveaux de tryptophane et de L-ornithine réduits. Ces deux composés sont impliqués dans l'immunité intestinale (Beaver *et al.*, 2021).

D. Impact de la génétique

La co-évolution entre hôte et microbiote dans une relation pouvant être qualifiée de symbiotique vis-à-vis de la nutrition, de la production d'acides gras à chaîne courte et de vitamine notamment, pose la question d'une sélection préférentielle pouvant être médiée par le patrimoine génétique. Les premiers liens entre composition du microbiote et patrimoine génétique sont évoqués dès les années 1980, où il a été observé que les microbiotes fécaux de jumeaux monozygotes présentaient plus de similarités que ceux de jumeaux dizygotes (Fan *et al.*, 2020)

Chez l'Homme, des liens entre génétique de l'hôte et microbiote digestif ont été établis (Zened *et al.*, 2021).

Chez les bovins et les ovins, il a également été montré qu'il existait un contrôle génétique des communautés microbiennes constituant le microbiote intestinal. Chez les ovins, une étude s'est intéressée à l'héritabilité de taxons bactériens : 22 % des genres bactériens et 59 taxons bactériens étaient significativement héréditaires avec des hérédibilités supérieures à 0,10 et 0,15. Par ailleurs, le niveau d'abondance de ces taxons et leur niveau d'héritabilité était indépendant : des populations même faiblement abondantes peuvent ainsi être héréditaires (Zened *et al.*, 2021).

Une étude menée sur une cohorte de veaux issus du croisement d'Angus et de Brahman et élevés dans un environnement et avec un régime alimentaire similaire a montré que chez ces veaux non sevrés de moins de 3 mois, le microbiote intestinal était significativement affecté par la génétique de l'hôte et notamment par le génome paternel. Ainsi, dans ces populations, la diversité Béta était significativement différente entre les groupes les plus éloignés génétiquement : 153 *Operational Taxonomic Unit* (OTU) présentaient une corrélation significative avec la composition raciale, appartenant majoritairement aux groupes des *Ruminococcaceae* et des *Bacteroidaceae* et l'abondance relative des bactéries identifiées comme étant des bactéries cœur, ou noyau, du microbiote intestinal des veaux car retrouvées dans au moins 80% des échantillons fécaux, présentait une association linéaire significative avec la composition raciale des veaux. Parmi les bactéries cœur 30 à 45% étaient linéairement associées à la composition raciale des pères (Fan *et al.*, 2020)

Les veaux dont la composition raciale tendait plus vers la race Brahman, adaptée à utiliser des fourrages de pauvre qualité avaient un microbiote enrichi en *Coprococcus*, *Faecalibacterium*, *Blautia*, et *Butyrivibrio*, bactéries impliquées dans la production d'acide gras à chaîne courte et la métabolisation des sucres, tandis que le microbiote des veaux dont la composition raciale tendait plus vers la race à viande Angus était enrichi en bactéries prédites comme métabolisant les lipides et les acides aminés (Fan *et al.*, 2020)

Dans cette étude, les bactéries dégradant la mucine étaient linéairement associées à la composition raciale et il existait une association linéaire significative entre les *single nucleotide polymorphisme* (SNP) proches ou dans les gènes encodant la mucine et ces bactéries *Clostridium*, *Rikenellaceae* et *Akkermansia*. L'hypothèse avancée serait que le polymorphisme des gènes bovins de mucines pourrait contribuer à la variation des systèmes de défense intestinale provoquant une composition microbienne intestinale différente, en fonction du génome (Fan *et al.*, 2020).

Néanmoins, chez l'Homme comme chez les ruminants, la significativité des associations entre SNP et taxa bactériens reste controversée, notamment par l'influence importante que constitue l'environnement et les individus entourant le nouveau né sur la mise en place du microbiote et sur l'expression des gènes. Ainsi, chez l'Homme, des parents non génétiquement liés et même des animaux de compagnies, partagent une part importante de leur microbiote avec leurs proches et notamment les enfants (York, 2019)(Fan *et al.*, 2020)(Zened *et al.*, 2021).

E. Dysbiose et stabilité du microbiote intestinal

Lorsque l'on étudie le microbiote, *a fortiori* intestinal, et son implication dans la physiologie de l'hôte, la notion de dysbiose qui qualifie l'altération qualitative et/ou fonctionnelle du microbiote intestinal (Gauguier, 2021) est mise en avant comme pierre angulaire des problématiques associées : développement de pathologies inflammatoires chroniques, désordres métaboliques, troubles immunitaires ou encore immunologique, fragilité face aux infections.

La notion de dysbiose pose la question de la variabilité acceptable de la composition microbienne des microbiotes entre individus, et de la stabilité de ces dernières dans le temps. L'un des objectifs des recherches sur le microbiote est de déterminer s'il existe un noyau microbiotique partagé par tous, et de le caractériser (Dickson, 2019).

Chez l'Homme, l'analyse de 13 000 séquences d'ARNr 16S issues de prélèvements de muqueuse colique de trois individus sains montre que le microbiote intestinal adulte est dominé par *Bacteroidetes* et *Firmicutes* alors que *Actinobacteria*, *Proteobacteria* et *Verrucomicrobia* sont présent en minorités. Il existe par ailleurs des variations marquées entre individus (Dickson, 2019).

Le projet MetaHIT (*Metagenomes of the Human Intestinal Tract*) regroupant les données issus du séquençage de l'ensemble des gènes des bactéries hébergées par le tube digestif humain, à partir d'échantillons fécaux de 124 individus montre que ces gènes sont largement partagé par les individus de la cohorte : un millier d'espèces bactériennes sont habituellement présentes dans l'intestin humain, chaque individu en abrite au moins 170, 18 espèces sont détectées chez l'ensemble des individus (Dickson, 2019)(Ehrlich, 2018). Indépendamment de l'origine géographique, de l'état de santé, du sexe, ou de l'âge de ces individus, il existerait ainsi par ailleurs au sein des populations humaines trois grands types de compositions microbiennes appelées enterotypes. Ces entérotypes sont dénommés suivant la population microbienne dominante : *Bacteroides*, *Prevotella*, ou *Ruminococcus* (Ehrlich, 2018).

Une étude s'intéressant au microbiome fécal de jumeaux adultes et de leurs mères propose par ailleurs l'existence d'un patrimoine génétique microbiotique noyau plutôt que d'un noyau d'espèces microbiennes. En effet, ces individus partageaient plus de 93% de groupes enzymatiques fonctionnels communs mais seulement 0,5% de phylotypes bactériens.

Ainsi il n'existe pas de microbiote sain uniforme mais des microbiotes individuels : les microbiotes diffèrent entre individus (Hofer, 2019). Chaque individu possède un microbiote propre et distinct et les échantillons issus d'un individu sont plus similaires entre eux que par rapport à un autre individu (Dickson, 2019).

Par ailleurs, une étude ayant suivi 37 personnes montre qu'au sein du microbiote d'un individu environ 60% des souches bactériennes restent stables sur une période de 5 ans (Dickson, 2019).

Enfin, l'impact des antibiotiques, du régime alimentaire et du système immunitaire sur la stabilité des microbiotes d'individus notamment adultes est encore peu connu (Dickson, 2019).

5. Outils d'étude

La description d'un environnement biologique, comme peut l'être un microbiote, et de sa diversité fait appel à plusieurs notions.

La diversité spécifique s'intéresse ainsi au nombre d'espèces, qui correspond à la richesse spécifique de l'environnement, mais aussi à la répartition numérique des espèces ou équitabilité c'est-à-dire l'abondance de ces espèces.

A. Diversité alpha

a. Définition

La diversité alpha correspond à la diversité locale et mesure, à l'échelle locale, la richesse du milieu soit le nombre d'espèces (Grosjean, 2020).

b. Indice de diversité de Shannon

L'indice de diversité de Shannon est l'outil mathématique le plus couramment utilisé afin de décrire la diversité spécifique. Son calcul prend donc en compte la richesse et l'abondance relative des espèces (Grosjean, 2020). Sa valeur augmente de façon algorithmique en fonction du nombre d'espèces différentes. Néanmoins, cette valeur est liée à la taille de l'échantillon (Calu, 2020).

A noter que d'autres indices de diversité sont parfois utilisés, comme l'indice de diversité de Simpson (McKenney *et al.*, 2017), ou l'indice de diversité de Faith (Mammeri *et al.*, 2020).

B. Diversité Bêta

a. Définition

La diversité Bêta mesure la différence de composition entre plusieurs zones d'études et identifie le degré de similarité, d'association entre des groupes ou la diversité de différenciation des espèces entre différents habitats. Les coefficients ou indices de similarité ou de similitude sont utilisés pour étudier la diversité Bêta (Grosjean, 2020).

b. Distances Uni-Frac

Les distances UniFrac est une mesure de la diversité Bêta, qui permet d'estimer la distance phylogénétique entre communautés d'espèces (Xing et Makarenkov, 2019)(Lozupone *et al.*, 2011).

Les distances Uni Frac peuvent être pondérées afin de tenir compte des différences d'abondance relative : les résultats obtenus peuvent alors être différents mais complémentaires.

Les distances Uni Frac pondérées offrent une mesure quantitative de la dissimilarité tandis que les distances non pondérées offrent une mesure qualitative.

Les valeurs des distances UniFrac peuvent être influencées par le nombre de séquences, le nombre d'échantillons : elles peuvent être surestimées si le nombre d'échantillons est trop faible. (Lozupone *et al.*, 2011).

Ainsi, les distances UniFrac peuvent être utilisées pour vérifier si les lignées phylogénétiques entre les échantillons sont significativement différentes. L'outil s'appuie sur des données provenant des technologies de séquençage *Next Generation Sequencing* (NGS) (Lozupone *et al.*, 2011).

C. Notion d'OTU

La majorité des études s'intéressant au microbiome s'appuie sur l'analyse de l'ARN ribosomal 16S. L'ARNr 16S est une région très conservée chez les bactéries qui ne présente que très peu de variations, si ce n'est au niveau de certaines régions spécifiques, nommées régions variables V (Figure 8). Elle permet d'identifier les membres des communautés bactériennes.

Parce que toutes les espèces bactériennes ne sont pas connues ou décrites, la notion d'*Operational Taxonomic Unit* offre un niveau de description supplémentaire.

Un OTU est un ensemble d'individus dont les séquences 16S sont similaires à au moins 97%.

L'utilisation des OTU comme outil descriptif présente néanmoins un risque de surinterprétation par surestimation des populations effectivement présentes dans un environnement (Hery Arnaud, 2018).

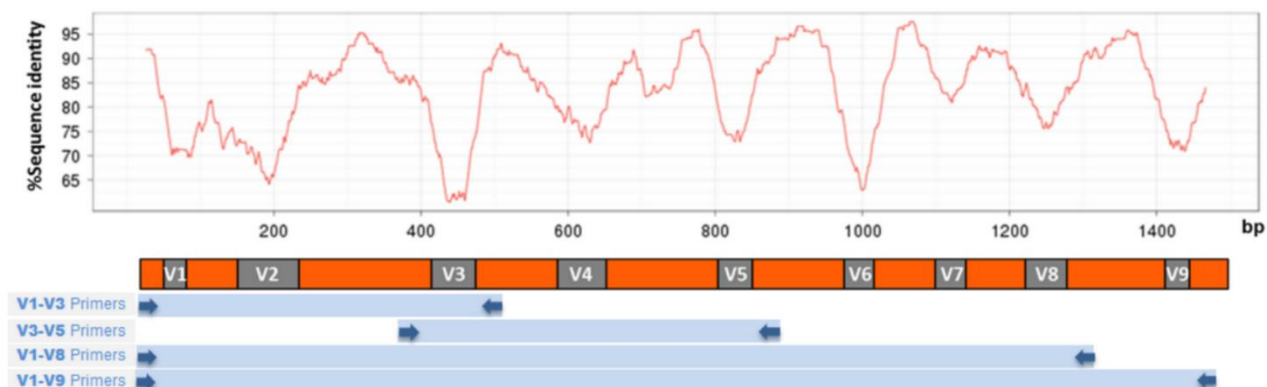


Figure 8 : ARN16S, régions variables (V, grises) et régions conservées (orange). D'après (Schutz, 2016)

Un niveau de variation supplémentaire s'ajoute par ailleurs en fonction du segment de la séquence 16S analysé : certaines études choisiront d'utiliser le segment V1-V2 (Ras *et al.*, 2015) d'autres le segment V3-V4 (Charania *et al.*, 2020).

D. Limites actuelles des études

a. Outils d'analyse

L'avancée des méthodes d'analyses permet de mieux approcher et comprendre la complexité des microbiotes.

Néanmoins, si les méthodes de séquençage les plus récentes, dites *Next Generation Sequencing*, permettent l'analyse de communautés microbiennes complexes, elles ne sont pas nécessairement capables de faire la distinction entre des espèces proches, ni ne perçoivent la diversité intra espèces. De plus, l'accès aux dynamiques entre des populations microbiennes et l'impact de chacune au sein des communautés bactériennes reste complexe. Elles peuvent cependant être associées à des méthodes de méta-transcriptomiques, qui permettent quant à elles le séquençage des ARN bactériens et ainsi la détection des membres actifs aux seins des communautés microbiennes (Tang, 2019). Par ailleurs, si les outils actuels permettent d'identifier des réseaux métaboliques et de prédire la fonction de gènes à partir de leur séquence, les mécanismes de transcription et traduction ne sont pas prédictibles et des similarités de séquences ne peuvent se révéler qu'apparentes (Hanage, 2014).

b. Niveaux de description

La caractérisation d'un microbiote peut se réaliser à plusieurs niveaux taxonomiques. Un microbiote peut être décrit par les phyla, familles, genres, espèces, OTU le composant. La

description d'un microbiote à l'échelle d'un niveau ne présume pas de sa réalité aux autres niveaux de classification. Il est alors possible d'avoir une diversité modérée au niveau des phyla, mais importante au niveau des familles. Au sein de ces phyla la diversité d'espèces et la diversité génique et génétique peuvent être très importantes et la description des microbiotes aux premiers niveaux taxonomiques peut venir compliquer l'interprétation et l'utilisation future de ces recherches. Ainsi, en 2006, Ley et al. vmontrent que des individus humains obèses présentent une réduction de l'abondance relative du phylum des *Bacteroidetes* par rapport à celui des *Firmicutes*, par rapport à des individus minces (White, 2019). Dans les études parues à la suite s'intéressant à ce ratio chez des individus obèses, certaines identifiaient des modifications similaires de ce ratio comme étant associées à l'obésité, d'autres ne retrouvaient pas ces résultats ou bien trouvaient des résultats inverses. Trois études regroupant l'ensemble des données recueillies ont par la suite montré que la signature microbiotique à l'échelle des phylums n'était pas généralisable et que s'il existait une association entre OTU et obésité, celle-ci était faible (White, 2019).

c. Pluralité des microbiotes, méthodes d'échantillonnage

Un certain nombre d'études sur le microbiote intestinal s'intéressent en réalité au microbiote fécal, qui présente le grand avantage d'être facilement accessible.

Néanmoins, le microbiote fécal ne représente spécifiquement ni le microbiote de l'intestin, ni celui de l'ensemble du tube digestif. En effet, la composition du microbiote intestinal varie selon les segments considérés du fait de différences physiologiques, de pH, la présence plus ou moins abondante de mucus et sa composition et ainsi chaque compartiment intestinal présente un microbiote qui lui est spécifique (Zened *et al.*, 2021).

Une étude s'attachant à séquencer des échantillons issus de plusieurs sites de muqueuses coliques et de fèces a montré qu'il existait des différences significatives entre individus, mais également qu'il existait des différences importantes de composition entre les communautés mucosales et celles retrouvées dans les fèces, et que ces différences étaient plus importantes que précédemment pensé (Tang, 2019).

Ainsi chez le veau, au niveau de l'iléon, les *Firmicutes* constituent la population dominante au niveau de la lumière, tandis qu'au niveau de la muqueuse les populations dominantes appartiennent aux *Bacteroidetes*, *Firmicutes* et *Proteobacteria*, présentes en même abondance, avec des genres spécifiques à cette région (Zened *et al.*, 2021).

Enfin, il est à noter que des résultats d'analyses réalisées de façon indépendante sur le même échantillon de selles peuvent également varier considérablement (Hanage, 2014).

Ainsi suite à la multiplication des parutions scientifiques en lien avec l'étude des microbiotes, un article paru en 2014 dans Nature (Hanage, 2014) enjoint les chercheurs et les lecteurs à se poser cinq questions majeures lorsqu'ils s'intéressent aux microbiotes.

- Les protocoles expérimentaux sont-ils en mesure de détecter des différences pertinentes?
- L'étude met-elle en évidence une causalité, ou une corrélation? Et ainsi, si l'on considère des états pathologiques, la pathologie modifie-t-elle la composition microbienne, ou bien la composition microbienne est-elle à l'origine de la pathologie? Existe-t'il un lien plus complexe entre ces deux entités? (Yap *et al.*, 2021).
- Quel est le mécanisme à l'œuvre? quelle est la relation qui s'établit?

- A quel point les protocoles expérimentaux reflètent-ils la réalité de terrain? car les effets du microbiote sur un individu peuvent être dépendant d'autres facteurs dont notamment l'alimentation, qui comme nous avons pu l'évoquer joue un rôle important dans la modulation des microbiotes (Yap *et al.*, 2021)
- Les résultats obtenus ne peuvent-ils pas être expliqués autrement?

Comme nous avons pu l'approcher, la composition et les propriétés intrinsèques des microbiotes, l'interaction de leurs populations entre elles et avec leur hôte, varient en fonction de nombreux facteurs transversaux en particulier l'environnement, l'alimentation ou encore la génétique de l'hôte (Zened *et al.*, 2021).

Dans l'étude des interactions qui s'établissent entre microbiote intestinal et *Cryptosporidium spp.*, il est important de souligner que de nombreuses études ne sont que descriptives et ne permettent pas encore d'accéder tout à fait aux divers mécanismes d'action permettant d'explicitier les relations entre le microbiote intestinal et le parasite et que par ailleurs au-delà d'être spécifique à un individu, la composition d'un microbiote tend à être spécifique d'espèce et ainsi toute inférence d'un modèle animal à un autre est à réaliser avec précautions.

Troisième partie : Données actuelles sur les interactions entre microbiote intestinal et *Cryptosporidium parvum*

1. Impact de la présence du parasite sur le microbiote

A. La présence du parasite altère la composition du microbiote

a. Impact sur la diversité Alpha

La diversité alpha correspond à la diversité locale et mesure, à l'échelle locale, la richesse d'un milieu à l'aide d'indices de diversité (Grosjean, 2020).

Chez des souris adultes immunodéprimées suite à l'administration de dexaméthasone par voie sous cutanée puis par voie orale dans l'eau de boisson, l'infection par *C. parvum* n'a pas d'effets sur l'indice de diversité de Shannon, mesure de la diversité alpha (Ras *et al.*, 2015).

Chez des lémurins Sifakas de Coquerel, naturellement infectés, la diversité alpha est diminuée au cours de l'infection à *Cryptosporidium* : elle est plus importante avant infection et au cours du rétablissement que pendant l'infection (McKenney *et al.*, 2017).

b. Impact sur la diversité Bêta

La diversité Bêta mesure la différence de composition entre différents milieux, compare la similarité ou la dissimilarité de deux milieux au vu de leurs espèces (Grosjean, 2020).

Chez des souris adultes immunodéprimées, l'infection par *C. parvum* est à l'origine d'une altération de la composition de leur microbiote fécal. Ainsi, le microbiote fécal des souris infectées est significativement différent de celui de souris non infectées. Les distances phylogénétiques UniFrac, mesures de la diversité Bêta, sont significativement différentes entre les échantillons de souris infectées et ceux de souris non infectées (Ras *et al.*, 2015).

Chez des lémurins Sifakas de Coquerel, l'infection par *C. parvum* se caractérise par une perturbation marquée des communautés bactériennes avec une augmentation importante des distances Uni-Frac. Le calcul des distances Uni-Frac appariées et non appariées montrent qu'au cours de l'infection, les variations deviennent très importantes marquant un appauvrissement du microbiote (McKenney *et al.*, 2017).

c. Impact sur les réseaux bactériens

Chez des chevreaux non infectés par rapport à des chevreaux infectés par *Cryptosporidium parvum*, les interactions entre genres bactériens, mis en évidence par le nombre de corrélations positives s'établissant entre ces derniers, et le nombre de genres connectés sont plus importantes (Mammeri *et al.*, 2020). L'infection à *C. parvum* chez le jeune perturbe ainsi les réseaux bactériens au sein du microbiote intestinal.

B. La présence du parasite impacte le développement normal du microbiote chez le jeune

a. Impact sur la diversité alpha

Chez des souris nouveau-nées, l'infection par *C. parvum* altère également la composition du microbiote intestinal (Mammeri *et al.*, 2019).

Comme nous avons pu le voir, la diversité alpha des populations bactériennes du microbiote fécal et *a fortiori* intestinal augmente au cours de son développement normal durant la vie précoce. Au sein de la population de Sifakas étudiée, la diversité alpha des microbiotes est significativement associée entre autres à l'âge d'un individu. Chez les plus jeunes individus atteints, la diversité alpha reste réduite pendant leur rétablissement par rapport aux adultes, et ce pendant plus longtemps, marquant un rétablissement plus lent (McKenney *et al.*, 2017).

Chez des chevreaux infectés par *C. parvum*, contrairement à des chevreaux sains, dont la diversité alpha des communautés bactériennes retrouvées dans les fèces augmente de façon stable entre 0 jour et 15 jours post-infection, la diversité alpha ne change pas, marquant un retard sur le développement attendu du microbiote précoce (Mammeri *et al.*, 2020).

Ainsi, alors que chez des chevreaux sains, l'analyse du microbiote fécal met en évidence l'émergence de plusieurs taxa dès 5 jours et 15 jours post-infection, ces derniers ne sont pas retrouvés chez les chevreaux atteints. Par ailleurs, on retrouve chez ces chevreaux atteints des taxa présents en quantité plus abondantes que chez les chevreaux sains. Ces différences persistent et semblent s'accroître à 15 jours post-infection, alors que la diversification du microbiote fécal des chevreaux sains se poursuit (Mammeri *et al.*, 2020).

b. Impact sur la diversité Bêta

Chez des chevreaux, l'étude de l'évolution de la diversité Bêta a montré que dès 5 jours post-infection, la composition des microbiotes fécaux devient significativement différente de celle à 0 jours post-infection. Le calcul des distances Uni-Frac pondérées permet de mettre en évidence une différence significative entre le microbiote des chevreaux infectés à 5 jours post infection de celui à 0 jour post infection, par rapport à ceux des chevreaux contrôles.

Entre 5 jours et 15 jours post infection, les variations au sein des microbiotes des chevreaux atteints sont moins importantes que chez les chevreaux sains, contrôles. Ainsi, le développement normal du microbiote des chevreaux semble impacter par l'infection parasitaire (Mammeri *et al.*, 2020).

C. Signature dysbiotique, chronologie des perturbations

Plusieurs études se sont attachées à décrire les perturbations subies par le microbiote intestinal, et fécal, des individus infectés par *Cryptosporidium*. De nombreuses études décrivent ainsi les espèces bactériennes qui semblent modifiées par la présence du parasite.

Cependant, la caractérisation d'une dysbiose induite qui serait spécifique à l'infection par *C. parvum*, ne fait pas tout à fait consensus entre les différentes études, notamment du fait d'analyses réalisées au cours de protocoles différents, chez des populations adultes ou nouveau-nées.

a. Caractérisation de la dysbiose induite

Chez des souris nouveaux-nées infectées par *C. parvum*, il a été montré une augmentation de la proportion de bactéries appartenant au phylum des *Bacteroidetes*, notamment du genre *Clostridium*, par rapport à des souris nouveaux-nées non infectées chez lesquelles une augmentation de la proportion de *Firmicutes* et d'*Actinobacter* était décrite. Une augmentation du ratio *Bacteroidetes/Firmicutes* signerait la dysbiose induite par l'infection parasitaire. La modification de ce ratio est également retrouvée chez des souris infectées par *Gardia*, et chez l'Homme atteint de maladies inflammatoires chroniques comme nous avons pu l'évoquer (Mammeri *et al.*, 2019). (Voir Tableau 4, en annexe).

Chez des souris adultes infectées par *C. parvum*, il a été montré au contraire une diminution de la proportion de bactéries appartenant au phylum des *Bacteroidetes* localement au niveau de l'iléon terminal, et une augmentation des *Firmicutes*, notamment des genres *Allobaculum* et *Tucibacter* (Charania *et al.*, 2020).

L'infection chez des souris adultes n'est pas à l'origine du développement de signes cliniques. Chez ces souris infectées résistantes à la cryptosporidiose, on observe néanmoins des modifications de l'abondance de communautés microbiennes au cours de l'infection, par rapport à des souris non infectées. Au niveau de l'intestin grêle, *Faecalibaculum*, *Barnesiella* et *Lactobacillus* étaient particulièrement abondantes avec néanmoins une diminution de l'abondance de *Faecalibaculum* et *Lactobacillus* au niveau du duodénum, et une augmentation de l'abondance de *Lactobacillus*, *Lachnospiraceae*, *Desulphovibrio* et *Coriobacteria* au niveau du jéjunum et de l'iléon. Au niveau du caecum et du côlon, l'abondance de *Ruminococcaceae* était augmentée au cours de l'infection. A 10 jours post-infection, les populations de *Coriobacteriaceae*, *Ruminococcaceae* et *Lachnospiraceae* étaient particulièrement augmentées (Karpe *et al.*, 2021).

Par ailleurs, une étude menée chez des veaux de différentes exploitations japonaises issues d'aires géographiques différentes, infectés par *C. parvum*, un rotavirus, ou sains, a mis en évidence une augmentation spécifique de l'abondance du genre *Fusobacterium* au sein du

microbiote fécal des individus atteints de cryptosporidiose. Cette augmentation était observée entre 0 jour et 15 jours d'âge (Ichikawa-Sekiet *al.*, 2019).

Si l'espèce n'a pas été identifiée, il a été observé une augmentation de la sévérité de la diarrhée parallèlement à une augmentation de l'abondance d'oocystes et de *Fusobacterium* : une corrélation positive entre le nombre d'oocystes excrétés et le ratio relatif en *Fusobacterium* a été mise en évidence (Ichikawa-Seki *et al.*, 2019).

La croissance de *Fusobacterium* est envisagée par les auteurs, comme facteur aggravant de l'infection à *C. parvum* (Ichikawa-Sekiet *al.*, 2019).

b. Signature dysbiotique

Plusieurs études mettent en évidence que lors de l'infection à *C. parvum*, les perturbations subies par le microbiote suivent des trajectoires propres, non nécessairement reproductibles. L'infection à *Cryptosporidium* est à l'origine d'une dysbiose *a priori* non spécifique.

Ainsi, une analyse quantitative de la diversité entre groupes bactériens par un calcul des distances UniFrac pondérées sur des séquences amplifiées des gènes 16S de l'ARN ribosomal bactérien, menée au sein des quatre expériences chez des souris adultes immunodéprimées par administration de dexaméthasone, montre que chaque microbiote fécal suit une trajectoire qui lui est propre en réaction à l'infection par *C. parvum*. Les modifications du microbiote induites par la présence du parasite ne sont donc pas similaires, et par ailleurs sont significativement différentes (Ras *et al.*, 2015). Les auteurs ne mettent pas en évidence de profil microbiotique qui pourrait être caractéristique de l'infection par *C. parvum* chez ces animaux adultes. (Voir tableau 5, en annexe).

Chez des lémurins Sifakas élevés en captivité et naturellement infectés par *C. parvum*, la perturbation des communautés bactériennes au cours de l'infection n'est pas semblable chez tous les individus. Elle suit une trajectoire propre, individuelle qui se caractérise néanmoins chez tous par une diminution de la diversité alpha et une augmentation des distances Uni-Frac (McKenneyet *al.*, 2017).

c. Evolution de la dysbiose au cours du temps

La cryptosporidiose induit chez les animaux touchés une altération du microbiote intestinal semblant se caractériser, chez les jeunes, par une variation importante des communautés bactériennes et une perturbation de leurs interactions, associée à une perte de la diversité microbienne intrinsèque. Elle altère par ailleurs le développement précoce du microbiote. S'il semblerait qu'une modification du rapport *Bacteroidetes/Firmicutes* soit associée à la dysbiose, et que celle-ci se manifeste notamment par une augmentation de l'abondance en *Fusobacterium* chez le veau, la perturbation des communautés bactériennes au cours de l'infection suit néanmoins une trajectoire propre chez les individus atteints.

Chez des souris adultes immunodéprimées, le calcul des distances Uni-Frac met en évidence post-infection, une convergence des microbiotes fécaux entre souris infectées et souris non infectées (Ras *et al.*, 2015). Une fois l'infection résolue, les distances phylogénétiques entre souris étaient diminuées. La perturbation du microbiote apparaît ainsi réversible.

Chez des chevreaux infectés, il a été montré que le microbiote des animaux survivants à l'infection redevient normal aussi bien en diversité qu'en composition. Ainsi chez les survivants, à 15 jours post-infection la diversité Bêta redevient similaire à celle des animaux du groupe contrôle non infecté (Mammeri *et al.*, 2020).

Chez des lémurins Sifakas, le calcul des distances Uni-Frac montrent que les variations au sein des microbiotes avant infection et au cours du rétablissement, sont similaires. Ces variations individuelles entre la période pré-infection et la période rétablissement sont dans l'intervalle normal des variations retrouvées pour des sifakas en bonne santé : les microbiotes fécaux retournent ainsi à des valeurs de distances Uni-Frac semblables à celles d'individus en bonne santé, pendant leur rétablissement (McKenney *et al.*, 2017).

Chez l'Homme, on observe également une perturbation transitoire du microbiote fécal lors de l'infection à *C. parvum*, avec un microbiote qui se normalise une fois l'infection résolue et adopte un profil pré-challenge (Chappell *et al.*, 2016).

Le microbiote intestinal semble ainsi sensible à la perturbation mais résilient (Mammeri *et al.*, 2020).

Néanmoins comme nous l'avons vu, chez les sifakas ayant été infectés, la diversité microbienne était inférieure par rapport aux niveaux pré-infection. Par ailleurs, la composition même du microbiote était modifiée par rapport à celle originelle. Certains OTU voient leur abondance modifiée, et certaines espèces proches se substituent : au sein des *Lachnospiraceae* par exemple, l'espèce *Lachnospira* est remplacée par l'espèce *Blautia* (McKenney *et al.*, 2017). (Voir Tableau 3, en annexe).

Chez des chevreaux ayant été infectés, l'étude qui comme nous le verrons, met en évidence une altération de voies de biosynthèse notamment du butyrate lors de l'infection à *C. parvum*, montre que cette altération persiste au-delà de l'arrêt de l'excrétion fécale d'oocystes (Mammeri *et al.*, 2020).

Enfin, chez des souris infectées lorsqu'elles étaient nouveau-nés, il a été montré à l'âge adulte des modifications persistantes du microbiote intestinal, associées à des modifications des cellules immunitaires. Ces modifications intestinales étaient associées à une sensibilité augmentée aux infections à *Salmonella* chez les individus, une fois adultes (Lacroix-Lamandé *et al.*, 2019).

2. Impact de la présence d'un microbiote sur le développement parasitaire

A. Microbiote et résistance à l'infection

Chez les hôtes de *Cryptosporidium* autres que l'Homme, comme la souris, les individus adultes sont résistants à l'infection par *C. parvum* même en l'absence d'exposition antérieure (Harp *et al.*, 1992).

Chez la souris et chez l'Homme, l'augmentation de la résistance à *Cryptosporidium* est corrélée au sevrage (VanDussen *et al.*, 2020).

Ainsi des souris infectées à 1 semaine présentent au niveau intestinal un nombre de parasites par gramme d'intestin plus important que des souris infectées à 2 semaines d'âge et 3 semaines : respectivement dix fois et cinq fois plus.

Chez des souris infectées à 4, 5, et 6 semaines d'âge, les niveaux d'infections restent faibles : les souris sont plus sensibles au cours de leurs deux premières semaines de vie (VanDussen *et al.*, 2020).

L'augmentation de la résistance avec l'âge est peu comprise.

Il a été observé que chez la souris, la résistance à *C. parvum* se met en place dès trois semaines de vie même en l'absence d'exposition préalable. Cette période de temps coïncide avec la mise en place d'une flore intestinale mature, concomitamment avec la transition vers une alimentation solide (Harp *et al.*, 1990)(Harp, 2003)(VanDussen *et al.*, 2020).

La diversification du microbiote se fait pendant la vie précoce notamment au cours de l'évolution du régime alimentaire, de la consommation de lait vers la consommation de sucres et de substrats plus complexes au cours du sevrage (York, 2019).

Un microbiote mature apporterait ainsi un effet protecteur contre *C. parvum* (VanDussen *et al.*, 2020).

Des souris adultes exemptes de germes car élevées dans des conditions stériles, sont, elles, plus sensibles à l'infection que des souris normales (Harp *et al.*, 1992).

De plus, l'administration par voie orale chez la souris de muqueuse intestinale d'animaux adultes permet le transfert d'une résistance à des nouveau-nés sensibles (Harp, 2003).

Ces observations posent la question de l'implication du microbiote intestinal dans la résistance à *Cryptosporidium*, d'autant que néanmoins, des souris adultes normales privées de flore intestinale par antibiothérapie restent résistantes à l'infection (Harp *et al.*, 1992).

Des souris *Severe Combined ImmunoDeficient* (SCID), ne possédant ni lymphocytes B, ni lymphocytes T fonctionnels, développent suite à un challenge par *C. parvum* une forme chronique de cryptosporidiose (Harp *et al.*, 1992).

Chez des souris SCID porteuses d'une flore digestive, l'excrétion fécale d'oocystes apparaît à 3, 5 et 7 semaines post challenge dans trois expériences indépendantes, et reste faible dans les semaines suivantes. Ainsi, dans une première expérience, à 9 semaines post challenge, chez trois souris, un tiers des champs issus de l'étalement des fèces présentaient 1 oocyste de *C. parvum* (Harp *et al.*, 1992).

A 2 semaines post challenge, l'iléon, le caecum et le côlon proximal de ces souris SCID présentent quelques rares parasites. A 9 semaines, 12 et 16 semaines post challenge ces sites présentent un nombre de parasites faible à modéré, pouvant être associé à une nécrose et une hyperplasie des cryptes, par endroit, au sein d'une muqueuse par ailleurs normale (Harp *et al.*, 1992).

Au contraire, chez des souris SCID exemptes de germes, à 3 semaines post challenge l'iléon terminal et le côlon présentent une colonisation très importante : à la surface de l'épithélium, les parasites y forment par endroits une couche continue sans que ne soient néanmoins associées de zones de nécrose ou d'hyperplasie des cryptes (Harp *et al.*, 1992).

Ainsi, si les souris SCID porteuses d'une flore digestive développent des formes chroniques de cryptosporidiose, elles présentent une capacité de résistance à *C. parvum* se traduisant par une excrétion fécale et des lésions histologiques moindres, plus importante que des souris SCID « *germfree* », et que des souriceaux, jeunes lémurss et veaux immunocompétents, pendant au moins 3 semaines (Harp *et al.*, 1992).

La présence d'un microbiote intestinal contribue ainsi à la résistance initiale à l'infection chez des souris adultes normales même en l'absence d'une réponse immune spécifique.

B. Composition du microbiote et sensibilité à l'infection

Une étude menée au sein d'une cohorte de trente-cinq lémuriens Sifakas élevés en captivité et suivis pendant trois ans, a montré qu'entre les individus jeunes développant une cryptosporidiose et ceux n'en développant pas, les microbiotes pré-infection étaient similaires. En effet, il n'y avait pas de différence de diversité alpha entre ces deux groupes. La diversité du microbiote pré-infection n'est pas à l'origine d'une sensibilité ou à l'inverse d'une résistance particulière vis-à-vis de l'infection à *Cryptosporidium* chez les jeunes lémurs Sifakas de Coquerel. La notion de microbiote sain et stable ne permet pas d'expliquer la variation de sensibilité à l'infection parasitaire dans cette espèce (McKenney *et al.*, 2017).

Néanmoins, chez l'Homme adulte, l'analyse de microbiotes fécaux avant challenge par *C. parvum* montre que la composition de ces derniers en pré-infection est différente entre les deux groupes d'individus étudiés : ceux développant une cryptosporidiose clinique avec diarrhées et excrétion fécale d'oocystes, et ceux ne développant ni symptômes gastro-intestinaux, ni excrétion fécale. Les individus asymptomatiques mais excréant des oocystes, ainsi que ceux développant des diarrhées mais sans excrétion fécale d'oocystes, n'étaient pas inclus dans l'étude (Chappell *et al.*, 2016).

Ainsi si les *Firmicutes* constituent le phylum le plus abondant pré-infection dans les deux groupes, le groupe non infecté présente une plus grande abondance du phylum des *Proteobacteria*, et une abondance en *Bacteroidetes* et *Verrucomicrobia* moindre. A l'inverse, le groupe d'individus qui ont développé *a posteriori* une infection, présente une plus grande abondance en *Bacteroidetes* et *Verrucomicrobia*, et une abondance moindre en *Proteobacteria*.

Chez les individus non infectés le ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* était ainsi de 27 pour 1. Chez les individus infectés le ratio était de 4 pour 1 (Chappell *et al.*, 2016). (Voir Tableau 6, en annexe).

C. Composition du microbiote et sévérité de l'infection

Plusieurs études sur des protozoaires entériques tels que *Entamoeba histolytica* ou *Eimeria tenella* montrent une virulence plus importante de ces derniers, lorsque l'infection se fait en présence de bactéries intestinales (Ras *et al.*, 2015).

Chez des souris porteuses d'une flore intestinale dont le récepteur T alpha (TCR alpha), récepteur de surface des lymphocytes T, est déficient, l'infection à *C. parvum* se traduit par des lésions de la

muqueuse intestinale plus sévères que chez des souris TCR alpha déficiente « *germfree* » (Charania *et al.*, 2020).

Par ailleurs, chez la souris, des changements du microbiote intestinal induit par antibiothérapies, sont corrélés à des sensibilités différentes à *C. parvum* (Charania *et al.*, 2020).

Ainsi l'administration par voie orale de cloxacilline à des souris augmente significativement l'excrétion fécale d'oocystes par rapport à des souris recevant un placebo. L'analyse de leur microbiote fécal met en évidence une quasi absence de *Bacteroides*, une diminution des *Firmicutes* et notamment des bactéries Gram + *Clostridiales*, *Lactobacillus*, *Erysipelotrochales*, et une surreprésentation des *Protéobactéries*. La diversité alpha, caractérisée par l'indice de Shannon est diminuée lors de l'administration de cet antibiotique (Charania *et al.*, 2020).

Dans cette même étude, l'administration par voie orale de paromomycine à des souris augmente l'abondance relative en *Lactobacillus* de leur microbiote fécal, et diminue l'abondance relative en *Allobaculum*. La charge bactérienne totale semble diminuée mais la diversité alpha n'apparaît pas impactée (Charania *et al.*, 2020).

De plus, des souris immunodéprimées par administration de dexaméthasone et ayant reçu des antibiotiques afin d'épuiser leur microbiote intestinal et recevant un probiotique humain contenant des souches bactériennes de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus thermophilus*, présentent une excrétion fécale d'oocystes significativement plus importante que les souris contrôles suite à un challenge à *C. parvum* (Oliveira et Widmer, 2018).

3. Exploration des interactions

L'infection à *C. parvum* se traduit par une dysbiose intestinale mais les mécanismes d'interactions en jeu restent peu explorés, et posent questions dans le contexte d'un cycle parasitaire essentiellement intracellulaire, et de fait, peu en contact avec le microbiote intestinal.

A. Infections à *C. parvum* et dysbiose intestinale induite

a. Hypothèses principales concernant les mécanismes sous jacents

- *Diarrhées et transit intestinal*

Des souris adultes immunodéprimées par administration de dexaméthasone et infectées par *C. parvum* présentent des modifications de leur microbiote fécal, mais ne présentent pas de signes cliniques comme de la diarrhée. Les modifications observées de leur microbiote fécal au cours de l'infection parasitaire ne semblent pas résulter d'un transit digestif accéléré (Ras *et al.*, 2015).

Au contraire, chez des lémurins Sifakas naturellement infectés par *C. parvum*, le microbiote fécal au cours de l'infection s'enrichit en taxa liés à un transit rapide comme les genres *Desulfovibrio*, *Veillonella*, *Limnobacter*, et *Bacillus* (McKenney *et al.*, 2017).

Les modifications des communautés microbiennes intestinales et fécales au cours de l'infection à *C. parvum* pourraient résulter de la modification du transit digestif, sans néanmoins que cette dernière constitue un facteur majeur.

- *Atteinte de l'épithélium intestinal et Interactions avec le système immunitaire local*

Chez des veaux infectés par *C. parvum*, la dysbiose secondaire à l'infection se traduit par une augmentation de l'abondance de *Fusobacterium*.

Fusobacterium est un genre bactérien possédant des propriétés d'adhérence et d'invasion des cellules intestinales : les dommages aux villosités intestinales subis au cours de l'infection à *Cryptosporidium* augmenteraient ainsi la sensibilité de l'épithélium intestinal à *Fusobacterium* (Ichikawa-Sekiet *al.*, 2019).

Les modifications des communautés microbiennes intestinales et fécales au cours de l'infection à *C. parvum* pourraient résulter d'une atteinte de l'épithélium digestif, favorisant l'établissement de certaines souches au détriment d'autres.

Les auteurs s'étant intéressés aux modifications du microbiote fécal chez des souris adultes immunodéprimées par administration de dexaméthasone en réponse à un challenge par *C. parvum*, évoquent comme hypothèses afin d'éclairer les mécanismes de ces modifications, des mécanismes semblables à ceux se mettant en place au cours de l'infection par *Toxoplasma gondii*, infection intestinale qui se traduit également par une dysbiose intestinale.

Au cours de l'infection parasitaire par *Toxoplasma gondii*, l'activation locale des lymphocytes T LTCD4+Th1 par les voies TLR au niveau intestinal se traduit par une destruction des cellules de Paneth. La perte de sécrétion de divers peptides antimicrobiens subséquente expliquerait l'augmentation marquée de l'abondance relative des *Enterobacteriaceae*. Les voies TLR apparaissent dans cette infection comme des régulateurs majeurs de la production d'IFN- γ impliqué dans la mort des cellules de Paneth et ainsi dans la dysbiose et l'immunopathologie intestinale (Ras *et al.*, 2015)(Raetz *et al.*, 2013).

Les modifications des communautés microbiennes intestinales et fécales au cours de l'infection à *C. parvum* pourraient résulter de pertes de mécanismes de régulation de ces populations par atteinte du système immunitaire local, suite à la réaction inflammatoire locale.

b. Conséquences de la dysbiose induite : impact sur les voies de biosynthèse des acides gras à chaîne courte

Au-delà de l'impact de la présence du parasite sur les différentes populations bactériennes et leur diversité, l'étude menée par Mammeri *et al.*, publiée en 2020, s'est intéressée aux voies métaboliques impactées par la présence de *C. parvum* chez des chevreaux (Mammeri *et al.*, 2020).

L'évolution et le développement normal du microbiome des chevreaux sont associés à une augmentation de l'abondance de certaines voies métaboliques.

Chez les chevreaux infectés, les voies de dégradation des composés aromatiques gallate et toluène, les voies de biosynthèse et de dégradation de carbohydrates et d'acides aminés sont

moins abondantes, tout comme les voies de biosynthèse des acides gras à chaîne courte à partir de la fermentation de carbohydrates non digestibles (Mammeri *et al.*, 2020).

Ainsi les voies de biosynthèse du butyrate à partir de la fermentation d'acétyl-coA et de succinate sont moins abondantes chez les chevreux infectés du fait d'une moindre abondance des enzymes impliquées, notamment de l'acéto-acétyl-CoA réductase, et de la 3-hydroxybutyryl-CoA déshydrogénase impliquées dans ces voies de biosynthèse : chez ces chevreux infectés 11 genres bactériens possédant les gènes nécessaires semblent impliqués dans ces voies de synthèse contre 36 chez les chevreux sains. Cette différence est significative (Mammeri *et al.*, 2020).

L'analyse par séquençage à haute fréquence des séquences d'ARNr 16S sur les génomes collectés dans les échantillons de selles des chevreux infectés met en évidence une diminution des genres *Butyrivibrio*, *Flavonifractor*, *Ruminococcaceae* UCG-004, *Intestinimonas*, *Bifidobacterium* et *Oscillospira*, impliqués dans la synthèse des acides gras à chaîne courte. Cette diminution est par ailleurs significativement associée à l'infection par *C. parvum* et perdure après l'infection, lorsqu'il n'y a plus d'excrétion d'oocystes (Mammeri *et al.*, 2020).

Chez les chevreux, l'infection par *C. parvum* se traduit ainsi par une altération de certaines voies de biosynthèses notamment celles de certains acides gras à chaîne courte. Ces altérations sont secondaires à la diminution de l'abondance d'enzymes bactériennes impliquées dans ces voies. Ces déficits enzymatiques sont la conséquence d'une diminution du nombre de genres bactériens et de l'abondance relative de ces populations bactériennes impliquées dans ces voies de biosynthèse.

Cette diminution est significativement associée à la cryptosporidiose.

B. Rôles du microbiote intestinal au cours de l'infection

a. Interactions avec le système immunitaire local

La résistance supérieure initiale de souris SCID normales à celle de souris SCID « germfree », suite à un challenge à *C. parvum*, ne semble pas médiée par l'immunité spécifique mais plutôt par des mécanismes non spécifiques présents chez les souris SCID (Harp *et al.*, 1992).

L'IFN γ est une cytokine clé de l'infection parasitaire à *Cryptosporidium*. La sensibilité des jeunes et des souris adultes « germfree » au parasite pourrait être expliquée par un défaut en IFN γ , secondaire à un défaut de stimulation par une flore intestinale normale (Harp *et al.*, 1992).

Par ailleurs, chez l'individu jeune, le système immunitaire reste immature : les cellules dendritiques sont ainsi retrouvées à des niveaux bas chez des souris nouveaux-nés. Leur activation au cours d'une réponse immunitaire peut nécessiter la présence d'une flore bactérienne (VanDussen *et al.*, 2020). Ainsi chez des souris nouveau-nées infectées, l'effet d'un immunostimulant des cellules dendritiques sur ces dernières n'est permis que suite à l'activation de TLR par la flore intestinale et se traduit par une réduction rapide de la charge parasitaire (Lantier *et al.*, 2014).

De par ses interactions avec le système immunitaire local notamment par les voies TLR, le microbiote intestinal semble jouer un rôle clé dans la résistance à *C. parvum*.

b. Microbiote et métabolites

De par la synthèse de divers métabolites d'origine microbienne, le microbiote établit des relations complexes avec son hôte et *C. parvum*.

- *Cycle de Krebs*

Chez des souris adultes infectées, résistantes à la cryptosporidiose, il a été mis en évidence des interactions complexes entre l'hôte, les populations microbiennes composant le microbiote intestinal et le parasite au cours de sa croissance. Ainsi, l'hôte mais surtout les levures du microbiote intestinal pourvoient différents métabolites nécessaires à *C. parvum* que ce dernier ne peut synthétiser, et notamment le coenzyme Q impliqué dans le cycle de Krebs. Les levures joueraient un rôle important dans la suppléance de métabolites au parasite et le développement de voies alternatives au cycle de Krebs (Karpe *et al.*, 2021).

- *Indole*

Au sein du microbiote intestinal humain, l'indole est un composé produit par 85 bactéries Gram+ et Gram -, connues. Il est impliqué dans la régulation de la motilité bactérienne, de l'intégrité de la barrière épithéliale, et de la formation de biofilms. On le pense également impliqué dans la régulation de la virulence et de la résistance aux médicaments de certains agents entéropathogènes. Il pourrait également avoir des propriétés anti-inflammatoires locales (Chappell *et al.*, 2016).

Chez l'Homme, des concentrations fécales élevées en indole, supérieures à 2,5 nM en pré-infection, avant challenge, sont fortement associées à une protection contre l'infection à *Cryptosporidium*. Ces concentrations sont associées à des compositions différentes du microbiote fécal, où *Escherichia coli* CFT073 et *Bacillus spp.*, deux bactéries productrices d'indole sont présentes en quantités plus abondante chez les individus ne développant pas de cryptosporidiose clinique (Chappell *et al.*, 2016).

Les mécanismes impliqués dans l'effet du composé indole sur l'infection à *C. parvum* ne sont pas connus. Il pourrait avoir un effet direct sur le parasite et son invasion par modulation du métabolisme du tryptophane, *Cryptosporidium* étant capable de synthétiser cet acide aminé à partir de l'indole. Néanmoins il semblerait qu'au cours de l'infection le parasite ne synthétise pas plus de tryptophane, mais plutôt inhibe la production d'IFN- γ . Au cours de l'infection l'IFN- γ est à l'origine de l'épuisement des réserves intracellulaires de tryptophane. L'effet de l'indole pourrait être plus indirect en renforçant l'intégrité épithéliale, la réponse immunitaire innée et les voies anti-inflammatoire, ou encore en régulant d'autres espèces microbiennes (Chappell *et al.*, 2016).

- *Acide gras à chaîne courte*

- Homéostasie intestinale

Les acides gras à chaînes courtes : acetate, propionate, butyrate, sont produits par les populations microbiennes anaérobies en particulier coliques.

Chez l'Homme, le butyrate notamment est produit par des bactéries anaérobies particulièrement sensibles à l'oxygène appartenant aux clusters IV et XIVa des *Clostridiales* (Pryde *et al.*, 2002).

Ces trois acides gras à chaîne courte, acétate, propionate et butyrate représentent 90% des acides gras à chaîne courte retrouvés au niveau de l'intestin (Keelaghan *et al.*, 2022). Leurs effets sont pluriels, ils participent à l'homéostasie intestinale.

Le butyrate participe ainsi au métabolisme énergétique des cellules épithéliales intestinales. Il représente une source énergétique de préférence pour la muqueuse colique. Un défaut énergétique aux colonocytes par défaut en butyrate est un facteur causatif de colite. Une proportion importante d'acides gras à chaîne courte étant ainsi utilisée comme support nutritif par la muqueuse intestinale et en particulier colique, la mesure des taux fécaux d'acides gras n'est pas nécessairement un indicateur fiable des taux de production (Pryde *et al.*, 2002).

Des concentrations en butyrate différentes, inhibent la croissance ou promeuvent la différenciation de cellules en culture. Le butyrate est également capable d'induire l'apoptose et l'autophagie de cellules, notamment tumorales : il participe ainsi au développement normal des cellules épithéliales coliques et revêt un rôle protecteur lors de maladies coliques inflammatoires ou néoplasiques, notamment chez l'Homme atteint de cancer colo-rectal (Pryde *et al.*, 2002).

Outre son rôle trophique, le butyrate influence l'expression de gènes par régulation de leur transcription *via* son action inhibitrice non compétitive d'histones déacétylases. L'hyperacétylation de la chromatine qui en résulte module l'expression génique, d'où l'implication du butyrate dans le cycle et la prolifération cellulaire. Cette action permet également l'inhibition de l'activation de la transcription du facteur NFκB, ce qui réduit la synthèse de cytokines pro inflammatoires, tandis que le propionate aurait plutôt tendance à stimuler la synthèse de NFκB, et de la cytokine IL-18. (Pryde *et al.*, 2002)(Charania *et al.*, 2020)(Keelaghan *et al.*, 2022).

Par ailleurs, plusieurs études ont montré que les acides gras à chaînes courtes microbiens promeuvent l'expansion et la différenciation des lymphocytes T régulateurs (Nature Milestone, 2019), régulent les cellules lymphoïdes innées de type 3, ainsi que les lymphocytes B (Keelaghan *et al.*, 2022).

De par leurs différentes actions, les acides gras à chaîne courte d'origine microbienne participent ainsi à l'homéostasie intestinale, mais pourraient également participer au contrôle des agents infectieux susceptibles de la perturber. Ainsi, *in vitro* l'acétate, le butyrate et le propionate inhibent l'enkystement de *Entamoeba invadens*, le valproate, et le butyrate, 4-phenylbutyrate inhibent la croissance de *Toxoplasma gondii* et le nombre de kystes de *T. gondii* dans le cerveau de souris (Keelaghan *et al.*, 2022).

Par ailleurs, des espèces bactériennes comme *Desulfovibrio* et *Veillonellaceae* impliquées dans l'environnement en acides gras à chaîne courte chez des individus atteints de la maladie de Crohn, sont à l'origine d'un « shift » du métabolisme du butyrate vers celui du propionate s'accompagnant d'une augmentation de la dégradation de mucine. On observe alors une diminution des nutriments immédiatement disponibles pour les cellules intestinales, et la formation de composés toxiques issus de cette dégradation, favorisant une inflammation locale, et facilitant une colonisation de pathogènes (McKenney *et al.*, 2017).

□ Résistance à *C. parvum*

Il a été observé qu'à des niveaux faibles d'acides gras à chaîne courte, correspondait une augmentation de la sévérité de l'infection à *Cryptosporidium parvum* (Keelaghan *et al.*, 2022).

Parmi les acides gras à chaîne courte connus, l'acétate, le butyrate, le propionate et le valproate inhibent significativement la croissance de *C. parvum*, à des concentrations efficaces 50 entre 4 et 10 mM. Combinés, l'acétate, le propionate et le butyrate présentent une efficacité augmentée (Keelaghan *et al.*, 2022).

Après incubation pendant 45 minutes, seul le butyrate semble capable d'inhiber des sporozoïtes de *C. parvum* aux concentrations physiologiques testées retrouvées dans le tractus intestinal. Son efficacité est discrètement augmentée en présence d'acétate et de propionate (Keelaghan *et al.*, 2022).

L'activité anti-cryptosporidienne du butyrate pourrait être liée à son action inhibitrice des histones désacétylase. En effet des inhibiteurs connus de ces enzymes comme la trichostatine A40 ou l'apicidine 20 possèdent une activité anti-cryptosporidienne se traduisant par une réduction de la croissance de *C. parvum in vitro*. On connaît chez *Cryptosporidium parvum* trois classes d'histones désacétylases. Ces trois classes ne sont néanmoins pas inhibées par le butyrate, et son administration, contrairement à celle de ces deux inhibiteurs, ne se traduit pas par une altération de l'abondance de cytokines en culture. Néanmoins, le butyrate pourrait cibler une autre histone désacétylase non connue ou avoir une cible autre chez *C. parvum* (Keelaghan *et al.*, 2022).

De plus, le butyrate, le propionate et l'acétate sont impliqués dans la régulation de la cytokine IL-18. Une diminution de cette cytokine augmenterait la sensibilité et la sévérité de l'infection à *C. parvum* (Charania *et al.*, 2020).

Par ailleurs, l'inflammation intestinale associée à l'infection à *C. parvum* pourrait être due au moins en partie à la diminution des niveaux de butyrate par la réduction du nombre de bactéries productrices de butyrate au cours de l'infection, telles que *Ruminococcus*, *Clostridium XIVa*, ainsi que des membres de la famille des *Lacnahnospiraceae*, que l'on retrouve par ailleurs, également diminuée chez des poneys sensibles aux infections par des strongles gastro-intestinaux, mais pas chez des poneys résistants (Mammeri *et al.*, 2020).

De plus, chez des souris infectées par *C. parvum*, dont le microbiote fécal était modifié par l'administration de cloxacilline, et qui présentaient en conséquence une augmentation significative de l'excrétion fécale d'oocystes, les concentrations fécales en acides acétique, butyrique et propionique étaient diminuées par rapport à des souris infectées non traitées. Leur microbiote fécal s'était enrichi en protéobactéries et appauvri en *Firmicutes* notamment en *Clostridiales*, *Lactobacillus*, *Erysipelotrochales*, bactéries Gram+ impliquées dans la synthèse d'acides gras à chaîne courte (Charania *et al.*, 2020).

Chez des souris nouveau-nées non infectées par *C. parvum*, les genres *Lactobacillus* et *Streptococcus*, bactéries productrices d'acides gras à chaîne courte, étaient présents en quantités plus importantes que chez les nouveau-nés infectés (Mammeri *et al.*, 2019).

Par ailleurs, chez les lémuriens Sifaka infectés, *Desulfovibrio*, *Veillonellaceae* étaient enrichis par rapport aux individus sains (McKenney *et al.*, 2017).

Enfin, chez des souris adultes infectées mais résistantes à la cryptosporidiose, il a été observé une augmentation importante des niveaux coliques et caecaux de butyrate. Les populations de lactobacilles, *Faecalibaculum*, *Lachnoclostridium*, *Coriobacteriaceae*, *Lachnospiraceae* au niveau de l'intestin grêle, de *Blautia* au niveau de caecum et du côlon étaient augmentées chez ces souris. *Faecalibaculum* est impliqué dans la synthèse d'acides gras à chaîne courte. *Blautia* et *Lachnospiraceae* sont impliquées dans la synthèse des acides gras à chaînes courtes *via* la synthèse du pyruvate (Karpe *et al.*, 2021).

A noter que ces bactéries, *Lachnospiraceae*, *Lachnoclostridium*, *Lactobacillus* sont également impliquées dans la synthèse d'acides aminés D, substrats de la D-aminoacide oxydase : le peroxyde d'hydrogène qui en résulte régule certains agents pathogènes comme *Vibrio cholerae* et *Vibrio parahaemolyticus* à la surface des muqueuses. Ils pourraient par ailleurs stimuler la réponse immune locale (Matsumoto *et al.*, 2018).

Si les acides gras à chaîne courte ne semblent pas permettre de prévenir l'infection à *Cryptosporidium*, leur présence à des niveaux suffisants pourrait aider à la contrôler (Keelaghan *et al.*, 2022). Ainsi, l'altération du métabolisme des acides gras à chaîne courte secondaire à des changements au sein du microbiote intestinal chez des souris adultes ou nouveau-nées, des lémurss Sifaka au cours de l'infection à *C. parvum*, pourrait favoriser la croissance du parasite et l'infection associée (Charania *et al.*, 2020). Chez des souris adultes résistantes à la cryptosporidiose, l'augmentation de certaines populations bactériennes impliquées dans la synthèse d'acides gras à chaîne courte dont plus particulièrement le butyrate pourrait participer au contrôle de l'infection (Karpe *et al.*, 2021).

- *Autres acides gras*

Une étude réalisée chez des souris, s'est intéressée à l'évolution du profil métabolique intestinal en lien avec la maturation de leur microbiote intestinal. L'impact de ces composés sur la croissance de *C. parvum* a également été étudié *in vitro* (VanDussen *et al.*, 2020).

Dans les premières semaines de vie, l'analyse des métabolites présents dans la lumière intestinale montre un enrichissement en acides gras et leurs esters glycérol, puis une diversification de ces métabolites entre trois et six semaines se traduisant par une augmentation de l'abondance en alcools sucrés, acides aminés et acides biliaires.

Les acides gras et leurs esters retrouvés au cours des premières semaines de vie étaient négativement corrélés à l'âge des souriceaux, tandis que les métabolites retrouvés de 3 à 6 semaines de vie, étaient positivement corrélés à l'âge. A six semaines de vie, les métabolites retrouvés au niveau intestinal ressemblent à ceux retrouvés chez des souris adultes (VanDussen *et al.*, 2020).

Parmi les 43 métabolites négativement corrélés à l'âge retrouvés dans la lumière intestinale de souriceaux durant leurs premières semaines de vie, la plupart n'avaient pas d'effets sur la croissance de *C. parvum*, 7 l'inhibaient, 15 favorisaient significativement sa croissance (VanDussen *et al.*, 2020).

□ Acide gras à chaîne moyenne

Dans l'étude s'intéressant au profil métabolique intestinal et son impact lors de l'infection parasitaire chez des souris, tous les métabolites inhibant la croissance du parasite étaient des acides gras saturés à chaînes moyennes ou à chaînes longues ou leurs esters : acide caprique, acide laurique, acide myristique et monomyristine, acide palmitique et monopalmitine, monostéarine (VanDussen *et al.*, 2020).

Les acides gras saturés à chaînes moyennes et à chaînes longues inhibent la croissance de *C. parvum* probablement en affectant les voies métaboliques du parasite qui n'est pas capable de les synthétiser *de novo* (VanDussen *et al.*, 2020).

Les acides gras à chaînes moyennes pourraient inhiber le domaine réductase d'une enzyme impliquée dans la réplication parasitaire, la *fatty acid synthase* à activité élongase, intégrer les membranes cellulaires et les déstabiliser ou compromettre les fonctions cellulaires (VanDussen *et al.*, 2020).

□ Acide gras non saturé à chaîne longue

Dans cette même étude, les oméga 3 et oméga 6 poly-insaturés : l'acide docosahexaénoïque ou DHA, l'acide linoléique ou LnA, l'acide linolénique ou LA, étaient les trois acides gras favorisant significativement la croissance de *C. parvum* les plus importants. Dans des cultures cellulaires, ces acides favorisent significativement la croissance de *C. parvum* lorsque l'infection est concomitante à leur exposition. Lorsque l'administration de LA n'est réalisée que post infection, l'acide gras inhibe alors significativement la croissance du parasite, LnA n'a pas d'effets et DHA favorise mais faiblement la croissance de *Cryptosporidium* (VanDussen *et al.*, 2020).

LnA pourrait par ailleurs favoriser plusieurs cycles d'invasion sur des cultures cellulaires, exposées plusieurs jours à l'acide gras (VanDussen *et al.*, 2020).

Les acides gras non saturés à chaînes longues semblent favoriser l'infection à *C. parvum* et notamment son invasion des entérocytes en modulant la fluidité membranaire, voire la formation de la membrane parasitophore qui nécessite une réorganisation importante des membranes de l'hôte et du parasite (VanDussen *et al.*, 2020).

Ces métabolites, inhibant ou favorisant la croissance parasitaire sont particulièrement abondants au cours des trois premières semaines de vie chez ces souris nouveau-nées. Au cours de la première semaine de vie, LA et LnA ainsi que les autres métabolites inhibiteurs identifiés, sont particulièrement abondants (VanDussen *et al.*, 2020).

Chez ces souris l'analyse des distances Uni-Frac pondérées met en évidence au sein de leur microbiote caecal des clusters distincts pour les échantillons 1 semaine d'âge et 2 semaines d'âge. Pour les échantillons 3 et 6 semaines d'âge, un chevauchement est observé. L'analyse du profil métabolique met en évidence une répartition des résultats semblable aux distances Uni-Frac avec des clusters indépendants pour les métabolites à 1 et 2 semaines, et un chevauchement de ceux des semaines 3 et 6 (VanDussen *et al.*, 2020).

Certains métabolites intestinaux issus du microbiote ou de l'alimentation retrouvés dans la lumière intestinale de souris nouveau-nées semblent bénéfiques à la croissance de *Cryptosporidium* : les changements de susceptibilité à *C. parvum* semblent corrélés aux changements de métabolites retrouvés dans la lumière intestinale. Ces changements métaboliques observés après le sevrage sont probablement liés à l'absence de lait comme source de nutriments, et la présence d'un microbiote plus mature. La transition vers une alimentation solide pourrait être à l'origine d'une disparition de ces molécules favorisant l'infection de *C. parvum* (VanDussen *et al.*, 2020).

Ainsi, la cryptosporidiose est à l'origine d'une perturbation des communautés microbiennes intestinales chez les individus infectés, en particulier chez les jeunes, chez lesquels elle altère le développement précoce du microbiote et de ses voies de biosynthèse.

Ces voies de biosynthèse et la présence d'un microbiote intestinal mature chez les individus adultes sont impliquées à travers des mécanismes complexes et pluriels dans la réponse immunitaire et la résistance à *C. parvum*.

Chez le jeune, la grande sensibilité à l'infection semble de fait liée à une immaturité immunitaire et microbienne, en lien avec un régime alimentaire encore peu diversifié.

Cette dysbiose apparaît par ailleurs secondaire à la perte des mécanismes de régulation et de protection locaux lors de l'invasion épithéliale par le parasite, et bien qu'*a priori* transitoire, ses conséquences à long terme restent peu connues.

L'usage de souches bactériennes comme support thérapeutique afin de moduler le microbiome des individus sensibles et de lutter contre les conséquences de la dysbiose mérite d'être étudié et pourrait constituer des pistes thérapeutiques pertinentes dans la gestion de cette zoonose parasitaire.

Quatrième partie : Pistes thérapeutiques alternatives

L'infection parasitaire à *Cryptosporidium parvum* se traduit par une dysbiose intestinale transitoire, dont les impacts pourraient néanmoins s'étendre à plus long terme. Cette dysbiose pourrait résulter d'une atteinte de l'épithélium digestif ou encore d'une atteinte du système immunitaire local secondaire à la réaction inflammatoire locale. Elle aurait pour conséquence une diminution du nombre et de l'abondance relative de genres bactériens impliqués dans certaines voies de biosynthèses notamment celles de certains acides gras à chaîne courte, dont les rôles multiples participent au maintien de l'homéostasie intestinale. L'altération du métabolisme microbien des acides gras à chaîne courte pourrait par ailleurs favoriser la croissance du parasite et l'infection associée.

Enfin, la résistance à *C. parvum* liée à l'âge pourrait être liée à la transition alimentaire lors du sevrage et les changements de métabolites intestinaux microbiens et alimentaires qui y sont associés, le développement d'un microbiote plus mature, mais également par des interactions avec le système immunitaire local *via* les voies TLR.

La modulation du microbiote intestinal, par l'administration de probiotique ou de prébiotique lors de l'infection, représente ainsi une piste intéressante dans le développement de thérapies afin de gérer l'infection à *C. parvum*, particulièrement dans le contexte où la mise au point de mesures thérapeutiques efficaces reste un enjeu de taille dans le contrôle de cette maladie parasitaire zoonotique.

1. Probiotique

A. Définition et généralités

Au sens strict, la définition retenue par l'organisation pour l'alimentation et l'agriculture des Etats-Unis, la *Food and Agriculture Organisation*, et par l'Organisation Mondiale de la Santé, d'un probiotique, est un ensemble de souches vivantes de microorganismes strictement sélectionnés, qui administré en quantité adéquate confère un bénéfice vis-à-vis de la santé de l'hôte. C'est la définition également retenue par l'Association scientifique internationale pour les probiotiques et les prébiotiques (Azad *et al.*, 2018). Ces microorganismes peuvent être des bactéries, des champignons, ou encore des levures (Cangiano *et al.*, 2020).

Néanmoins cette définition apparaît restrictive car elle exclut les microorganismes génétiquement modifiés, les microorganismes morts, les fragmentés ou l'usage de métabolites issus de ces microorganismes comme les polysaccharides bioactifs, les nucléotides ou les protéines, les cultures et extraits de cultures microbiennes, les préparations enzymatiques, et combinaisons de ces ensembles (Cangiano *et al.*, 2020)(Shanahan, 2012).

Un des premiers probiotiques utilisé a été *Escherichia coli* Nissle 1917, isolé par Alfred Nissle en 1917 chez un soldat de la première guerre mondiale n'ayant pas succombé comme le reste de ses compagnons d'armes à la dysenterie. Cette souche couramment utilisée capable d'antagoniser d'autres pathogènes illustre la notion de résistance de colonisation précédemment évoquée : les microorganismes issus du microbiote intestinal peuvent prévenir l'établissement de microorganismes dans la même niche (Pariante, 2019).

La plupart des probiotiques développés se sont intéressés aux souches de bactéries productrices d'acide lactique telles que *Bifidobacteria*, *Lactobacilli*, *Lactococci* et *Streptococci*, mais les études s'élargissent également à d'autres genres comme *Bacillus*, *Escherichia*, *Propionibacterium*, *Roseburia spp.*, *Faecalibacterium spp.*, et *Akkermansia spp.* et bien d'autres, ainsi qu'aux levures comme *Saccharomyces* (Azad *et al.*, 2018)(Guan et Feng, 2022).

L'usage des probiotiques a notamment fait ses preuves dans le traitement des infections à *Clostridium difficile* chez l'Homme et se traduit par une normalisation de la diversité colique et des structures communautaires (Stone, 2019).

L'usage des probiotiques a également fait ses preuves dans la gestion de divers entéropathogènes. Ainsi chez la souris, l'administration de *Lactobacillus rhamnosus* GG réduit la durée et la sévérité d'une infection à *Giardia duodenalis*. Chez la souris et la gerbille, l'administration d'un mélange d'*Enterococcus faecium* SF68 et *Lactobacillus johnsonii* La1 permet l'élimination d'une infection à *Giardia duodenalis*. Chez la souris encore, l'administration de *Saccharomyces boulardii*, une levure, réduit la sévérité d'une infection à *Toxocara canis* (Del Coco *et al.*, 2016).

Chez le veau, l'administration précoce d'un mélange de souches probiotiques de *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Saccharomyces boulardii* et *Escherichia coli* réduit significativement l'incidence de diarrhées. Son administration lors de diarrhée permet la réduction de la durée de l'épisode. L'utilisation des prébiotiques représente une alternative attrayante à l'usage d'antibiotiques dans la gestion des diarrhées néonatales du veau (Du *et al.*, 2023).

Malgré les enjeux et les espoirs thérapeutiques liés à l'usage de probiotiques, certaines limites demeurent cependant et méritent d'être mentionnées.

De manière générale, peu d'effets indésirables liés à l'usage de probiotiques sont rapportés (Shanahan, 2012).

De rares cas de bactériémies ont également été rapportés chez des individus immunodéprimés greffés, suite à l'usage de Lactobacilles et Bifidobactéries (Tao *et al.*, 2006)(Shanahan, 2012).La précaution s'impose pour leur usage chez des individus vulnérables immunodéprimés, ou dont la barrière intestinale est anormale, d'autant que les données de la littérature scientifique ne sont pas nécessairement adaptées pour répondre aux questions sur la sécurité de leur usage (Shanahan, 2012).

L'un des enjeux majeurs reconnu concerne la nécessité de régulation et de contrôles qualité vis-à-vis de leur production, notamment en termes de potentiels contaminants (Tao *et al.*, 2006)(Shanahan, 2012). Les souches peuvent différer d'un produit à l'autre, d'une marque à l'autre, tout en étant différentes des souches utilisées par la recherche (Ajanya *et al.*, 2018), complexifiant l'établissement de données de pharmacovigilance en termes d'efficacité aussi bien que d'effets secondaires.

Une préoccupation également évoquée concerne la notion d'antibiorésistance et le transfert d'antibiorésistances de souches probiotiques à la flore commensale des individus traités. Le séquençage complet des souches candidates pourrait représenter une solution, notamment des souches d'Entérocoques pour lesquelles le risque serait supérieur que pour des souches de *Lactobacillus* ou *Bifidobacter*. Néanmoins, il est souligné que peu de données viennent étayer cette préoccupation (Shanahan, 2012).

Enfin, il convient de souligner que la plupart des études concernent des souches de Lactobacilles et de Bifidobactéries et qu'ainsi l'usage d'autres souches est moins bien documentée, et que par ailleurs bien que les souches probiotiques soient bien souvent issues de la flore commensale intestinale, la modification du microbiote et la perturbation des relations entre les différentes populations de microorganismes pathogènes et commensaux restent mal prédictibles (Shanahan, 2012).

B. Usage de probiotiques dans la prise en charge des diarrhées chez le jeune ruminant

a. Revue de quelques probiotiques

- *Lactobacillus*
 - *Lactobacillus acidophilus*

Chez des souris expérimentalement infectées par *C. parvum*, l'administration de *Lactobacillus acidophilus* permet de réduire la durée d'excrétion et l'intensité de l'excrétion fécale d'oocystes (Foster *et al.*, 2003).

Chez des souris immunodéprimées après inoculation du virus leucémique murin, l'administration de *L. acidophilus* treize jours avant challenge par *C. parvum*, puis après, permet une réduction significative de l'excrétion fécale d'oocystes sept et quatorze jours après challenge (Alak *et al.*, 1999).

Chez des souris immunodéprimées par administration orale de dexaméthasone et infectées par *C. parvum*, l'administration d'un probiotique commercialisé contenant des souches de *Lactobacillus acidophilus* et de *Lactobacillus plantarum* permet une diminution significative de l'excrétion fécale d'oocystes par rapport aux souris non traitées. Cette diminution est d'autant plus importante, que l'administration est précoce vis à vis de l'infection. Ainsi les souris traitées quatre jours après challenge présentent une excrétion fécale significativement moindre que les souris contrôles, mais significativement plus importante que les souris traitées dès le premier jour (Abd AL-Khaliq *et al.*, 2020).

Chez des porcelets naturellement infectés par *Cryptosporidium parvum*, l'administration de *L. acidophilus* et de *Bifidobacterium sp.* par voie intragastrique à partir de trois jours d'âge permet une réduction significative du nombre d'oocystes excrétés, avec une résolution de l'excrétion fécale dès le quinzième jour, alors que celle-ci persiste au vingt-et-unième jour dans le groupe non traité. Par ailleurs, chez ces porcelets, la diarrhée était moins sévère, la déshydratation moins importante et les lésions histologiques associées moindre par rapport au groupe contrôle, avec des villosités intestinales significativement plus longues dès le septième jour, comme chez les porcelets non infectés (Rotkiewicz, 2001)(Glass *et al.*, 2004).

Ainsi, chez des porcelets nouveau-nés infectés par *C. parvum*, l'administration de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium sp.* pourrait aider à contrôler l'infection (Rotkiewicz, 2001).

Par ailleurs, l'exposition d'oocystes de *C. parvum* à des surnageants de *L. acidophilus* dépourvus de cellules réduisent significativement leur viabilité par rapport aux bouillons contrôles (Foster *et al.*, 2003).

Dans une première étude, l'exposition d'oocystes de *C. parvum* à des surnageants de *L. acidophilus* dépourvus de cellules réduit leur viabilité de 19 à 86% (Foster *et al.*, 2003). Dans une autre étude, cette réduction est estimée de 40 à 80% et est associée à une réduction de l'infectiosité des oocystes de 21 à 42% et jusqu'à 95%, lorsque les oocystes sont exposés 24 heures au surnageant (Glass *et al.*, 2004).

□ *Lactobacillus reuteri*

Lactobacillus reuteri est une bactérie commensale du tractus gastro-intestinal animal, spécifique d'espèce (Alak *et al.*, 1997).

Chez des souris expérimentalement infectées par *C. parvum*, l'administration de *Lactobacillus reuteri* permet de réduire la durée d'excrétion et l'intensité de l'excrétion fécale d'oocystes (Foster *et al.*, 2003).

Chez des souris immunodéprimées après inoculation du virus leucémique murin, l'administration de *L. reuteri* treize jours avant challenge par *C. parvum*, puis après, permet une réduction significative de l'excrétion fécale d'oocystes sept après challenge. Cette réduction est cependant moindre que celle exercée par *L. acidophilus* (Alak *et al.*, 1999). A 26 jours post challenge, l'analyse histologique met en évidence une absence de parasite au sein du tractus intestinal (Alak *et al.*, 1997).

Chez des souris gnotobiotiques déficientes pour le récepteur TCR alpha à la surface de leurs lymphocytes T, l'administration de *L. reuteri* se traduit par la diminution du nombre de *C. parvum* détecté dans les tissus intestinaux (Del Coco *et al.*, 2016).

L'exposition d'oocystes de *C. parvum* à des surnageants de *L. reuteri* dépourvus de cellules réduit significativement leur viabilité par rapport aux bouillons contrôles. Néanmoins, cette réduction n'était pas significativement différente de celle exercée par *L. acidophilus* (Foster *et al.*, 2003).

□ *Lactobacillus casei*

Chez des rats infectés par *C. parvum*, ne développant pas de signes cliniques de diarrhées, l'administration d'un mélange de souches probiotiques de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* aux doses efficaces contre des diarrhées à rotavirus chez le rat n'a pas d'impact significatif sur la perte de poids due à l'infection, sur la charge parasitaire ou sur les lésions histologiques par rapport aux individus infectés non traités, bien qu'une tendance à une clairance plus rapide soit soulignée par les auteurs (Guitard *et al.*, 2006).

Chez des rats infectés par *C. parvum*, ne développant pas de signes cliniques de diarrhées, l'administration d'un mélange de souches probiotiques de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis* et *Streptococcus thermophilus* aux doses efficaces contre des diarrhées à rotavirus chez le rat n'a pas permis de mettre en évidence non plus d'impact significatif sur la perte de poids due à l'infection, sur la charge parasitaire ou sur les lésions histologiques par rapport aux individus infectés non traités (Guitard *et al.*, 2006).

Chez des souris immunodéprimées par administration de dexaméthasone et infectées par *C. parvum*, l'administration de *Lactobacillus casei* permet de réduire significativement la durée et l'intensité de l'excrétion fécale d'oocystes par rapport au groupe non traité (Khalifa, 2016).

Chez l'Homme enfin, l'administration d'un mélange de *Lactobacillus GG* et *Lactobacillus casei* chez un enfant de 12 ans souffrant d'une cryptosporidiose chronique non associée à une immunodéficience, a permis une résolution des symptômes cliniques dès 10 jours et de l'excrétion fécale d'oocystes à l'issue du traitement de 4 semaines (Pickerd et Tuthill, 2004).

- *Bifidobacterium*
 - *Bifidobacterium longum*

L'exposition d'oocystes de *C. parvum* à des surnageants de *Bifidobacterium longum* dépourvus de cellules réduit significativement leur viabilité par rapport aux bouillons contrôles. Cette réduction est cependant moindre que celles exercées par *L. acidophilus* ou *longum* (Foster *et al.*, 2003).

□ *Bifidobacterium breve*

L'exposition d'oocystes de *C. parvum* à des surnageants de *Bifidobacterium breve* dépourvus de cellules ne permet pas de réduire leur viabilité par rapport aux bouillons contrôles (Foster *et al.*, 2003).

- *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae est une levure qui peut être utilisée comme probiotique sous forme vivante, séchée. L'utilisation de *Saccharomyces cerevisiae* en culture allie composés probiotiques et prébiotiques. Ces cultures contiennent en effet les levures, les produits issus de leur fermentation et métabolisme ainsi que le milieu de culture et ainsi des composants de parois cellulaires, des oligosaccharides et des Béta glucanes (Cangiano *et al.*, 2020).

L'administration de *Saccharomyces cerevisiae* à des veaux présentant des épisodes diarrhéiques se traduit par une réduction de la sévérité des diarrhées (Cangiano *et al.*, 2020).

Ainsi, des veaux chez lesquels la prise colostrale n'aura pas permis un transfert d'immunité passive suffisant présentent des épisodes de diarrhées moins importants avec des scores fécaux meilleurs et ce pendant moins de jours, suite à l'administration de *S. cerevisiae* (Cangiano *et al.*, 2020).

L'utilisation de *S. cerevisiae boulardii* chez des veaux diarrhéiques permet une absence de diminution de la prise de poids journalière, contrairement aux veaux n'en recevant pas (Cangiano *et al.*, 2020).

En diminuant l'incidence de diarrhées sévères, l'administration de *S. cerevisiae* permet de réduire l'usage de traitements antibiotiques. Néanmoins, si l'incidence des diarrhées est très élevée, l'administration de *S. cerevisiae* peut ne pas avoir d'effets (Cangiano *et al.*, 2020).

Chez des veaux laitiers l'administration de produits issus de la fermentation de *S. cerevisiae* pendant les 63 premiers jours de vie, a été comparée au traitement prophylactique du lactate d'halofuginone pendant les 7 premiers jours de vie, dans la prise en charge d'infections à *Cryptosporidium parvum*. L'efficacité de ces deux traitements a été évaluée au vu de l'excrétion fécale d'oocystes et la numération de copro-antigènes du 4^{ème} au 21^{ème} jour de vie, la présence et l'intensité d'épisodes de diarrhées pendant les quatre premières semaines de vie, ainsi que la prise de poids (Vélez *et al.*, 2019).

Dans cette étude, tous les veaux ont été positifs à *C. parvum* au moins une fois.

L'administration d'Halofuginone et les produits issus de la fermentation de *S. cerevisiae* réduisent significativement l'intensité de l'infection à *C. parvum* par rapport au groupe non traité, mais ni la proportion de veaux diarrhéiques, ni l'intensité ou la durée de la diarrhée ne différaient par rapport au groupe contrôle. Ainsi, la supplémentation en pré-sevrage de produits issus de la fermentation de *S. cerevisiae* apparaît d'une efficacité semblable au traitement à l'Halofuginone (Vélez *et al.*, 2019).

L'administration de produits issus de la fermentation de *S. cerevisiae* se traduit par de moindres lésions de la muqueuse intestinale, mais sans impacts cliniques. Ils ont néanmoins montré un effet positif sur le développement intestinal, ainsi que des effets immunomodulateurs (Vélez *et al.*, 2019).

b. Mécanismes d'action

De nombreuses hypothèses sont évoquées afin d'éclaircir les mécanismes d'action par lesquels les microorganismes probiotiques exercent leurs effets positifs dans la lutte contre des pathogènes entériques, dont *C. parvum*, mais ils restent encore incomplètement compris.

Parmi ces hypothèses sont évoqués la capacité à réguler la production de mucus, le péristaltisme, renforcer l'épithélium et sa fonction barrière, stimuler l'immunité par la production locale d'IgA et la stimulation des cellules dendritiques, entrer en compétition pour les nutriments et les sites d'adhésion sur l'épithélium, mais également la production d'acides organiques modulant le pH local, d'ammonium, ou de peroxyde d'hydrogène, ainsi que de peptides antimicrobiens (Tao *et al.*, 2006)(Gaber *et al.*, 2022)(Stone, 2019).

Plusieurs études se sont intéressées à éclaircir ces mécanismes, non nécessairement spécifiques à *C. parvum*, mais qui néanmoins pourrait éclairer l'efficacité de certaines souches probiotiques dans la prise en charge de la cryptosporidiose.

- *Peptides antimicrobiens et autres métabolites*

Les lactobacilles produisent au cours de leur métabolisme différentes molécules qui pourraient agir ensemble ou de manière isolée afin d'inactiver *C. parvum* tels que des acides, lactique et acétique qui modifient le pH local, mais également de l'éthanol ou encore du peroxyde d'hydrogène, ainsi que des peptides antimicrobiens dont l'action est plus directe (Foster *et al.*, 2003).

Ainsi, *L. acidophilus* IBB801 produit de l'acidophiline 801, capable d'inhiber *in vitro* *Escherichia coli* et *Salmonella* (Foster *et al.*, 2003).

Lactobacillus casei produit des peptides antimicrobiens sélectivement actifs contre *Salmonella typhimurium* *in vitro* et *in vivo* (Foster *et al.*, 2003).

Il est par ailleurs connu que *Lactobacillus reuteri* produit un peptide antimicrobien à large spectre, la reuterine, 3-hydroxypropionaldéhyde à partir de glycérol, active contre divers entéropathogènes, levures, champignons, protozoaires et virus (Alak *et al.*, 1997)(Cleusix *et al.*, 2007).

La reuterine induirait un stress oxydatif chez les bactéries comme *Escherichia coli* en modifiant les groupes thiols de leurs protéines. Ainsi chez *E. coli*, l'exposition à la reuterine se traduit par une expression des gènes impliqués dans la détection et la réponse au stress oxydatif et l'administration de cystéine inhibe l'action antimicrobienne de la reuterine. La production du peptide est par ailleurs stimulée par l'interaction entre *E. coli* et *L. reuteri* (Schaefer *et al.*, 2010).

Il apparaît ainsi que les souches probiotiques participent au contrôle des populations d'entéropathogènes, notamment par la modulation de l'environnement local et la production de divers métabolites comme des peptides antimicrobiens. Si ces mécanismes ont plutôt été explorés pour des pathogènes bactériens, il est envisageable qu'ils soient également impliqués dans le contrôle de *C. parvum*.

En effet, comme nous l'avons évoqué, l'exposition d'oocystes de *C. parvum* à des surnageants de plusieurs souches probiotiques, *L. acidophilus*, *L. reuteri*, mais aussi *Bifidobacterium longum*, dépourvus de cellules réduisent significativement leur viabilité par rapport aux bouillons contrôles (Foster *et al.*, 2003).

L'exposition d'oocystes de *C. parvum* à des surnageants de *Bacillus brevis*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas alcaligenes* réduisent également leur infectiosité, en culture (Glass *et al.*, 2004).

- *Renforcement et protection de la barrière épithéliale*

Les souches probiotiques participent par ailleurs par divers mécanismes au renforcement et à la protection de la barrière épithéliale, particulièrement lésée lors des diarrhées à *C. parvum*.

Les protéines de surface de *Lactobacillus acidophilus* NCFM présentent des effets inhibiteurs sur l'apoptose des cellules épithéliales induite par des agents pathogènes tels que *Escherichia coli* ou *Salmonella*, mais également la capacité d'hydrolyser la paroi de ces deux agents pathogènes, inhibant leur adhésion et leur invasion (Meng *et al.*, 2017).

Certaines souches de Lactobacilles, comme *Lactobacillus plantarum* présentent par ailleurs à leur surface, des protéines d'adhésion capables de se lier spécifiquement aux composants glucidiques de la couche de mucus, comme le mannose, et peuvent s'agréger afin de former un biofilm protecteur, à la surface de l'épithélium (Du *et al.*, 2023).

Les effets protecteurs des *Lactobacillus* pourraient également être liés à leur capacité à protéger les cellules épithéliales contre le stress oxydatif en induisant l'expression de *Heat shock protein* ou *Hsp*, protéines résistantes au choc thermique, spécifiques, Hsp 25 et 72 via notamment les voies MAPK et Akt.

Hsp 25 et 72 sont impliquées dans la préservation des jonctions serrées et ainsi la fonction barrière. Hsp 72 possède un effet cytoprotecteur plus important et est impliquée dans la stabilisation de protéines cellulaires, et prévient leur dénaturation lors de stress oxydatif. Hsp 25 est impliqué dans la stabilisation de l'actine, et ainsi du cytosquelette et des jonctions serrées (Tao *et al.*, 2006).

Ainsi l'induction de ces Hsp suite à l'administration de *Lactobacillus rhamnosus* GG pourrait participer à la stabilisation des cellules épithéliales au cours de l'infection au rotavirus permettant de réduire la durée de la diarrhée (Tao *et al.*, 2006).

Cet effet protecteur reposerait sur un peptide, impliquant au sein des cellules épithéliales intestinales, des mécanismes transcriptionnels (Tao *et al.*, 2006).

Lactobacillus rhamnosus GG est par ailleurs connu pour réguler positivement l'expression et la distribution des protéines ZO-1 et claudine 1, protéines des jonctions serrées, lors d'infection à *Escherichia coli* entérohémorragique O157 :H7 (Du *et al.*, 2023).

Bacillus subtilis exerce également un effet cytoprotecteur similaire chez l'Homme et la souris par l'induction de Hsp et des voies MAPK p38 et Akt. *Lactobacillus brevis* SBC8803, ou *Enterococcus faecalis* possèdent une action similaire, *in vivo* et *in vitro*, et ce même lorsque les bactéries ont été tuées par la chaleur (Ueno *et al.*, 2011).

Leur induction par *Lactobacillus brevis* SBC8803 se traduit par une amélioration des lésions intestinales, une augmentation du taux de survie, et une diminution significative de cytokines pro-inflammatoires chez des souris recevant du sulfate de dextran sodium (Ueno *et al.*, 2011).

Enfin, *Lactobacillus plantarum* ZLP001 est capable d'augmenter la résistance de l'épithélium intestinal aux agents pathogènes en régulant positivement l'abondance des protéines des jonctions serrées. *In vitro* et *in vivo* *Lactobacillus plantarum* MB452, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Lactobacillus reuteri* 15007 peuvent impacter la perméabilité épithéliale, et régulent également l'expression et la distribution des protéines des jonctions serrées (Du *et al.*, 2023).

Considérant l'usage des levures en tant que probiotique, l'administration de *S. cerevisiae boulardii* à des veaux de boucherie augmente l'abondance de bactéries productrices de butyrate, et diminue l'abondance de *Collinsella* bactérie corrélée à une perméabilité intestinale augmentée (Cangiano *et al.*, 2020).

Chez des agneaux gnotobiotiques l'administration de produits issus de levures favorise le développement du jeune rumen et de son microbiote, avec une augmentation de l'abondance de bactéries productrices de butyrate telles que *Butyrivibrio* (Cangiano *et al.*, 2020).

Chez ces veaux, la supplémentation en levure est à l'origine d'une augmentation de la taille des papilles ruminales et de la taille des villosités intestinales sur tous les segments de l'intestin grêle (Cangiano *et al.*, 2020).

- *Compétition avec les entéro-pathogènes*

Les lactobacilles sécrètent des sidérophores, molécules capables de chélater le fer ferrique, le rendant indisponible pour les entéro-pathogènes. Ils peuvent également le lier et le chélater directement à leur surface (Ajanya *et al.*, 2018).

De plus la liaison des bactéries probiotiques, comme des bactéries commensales, aux sites de liaison de l'épithélium assure par leur occupation une compétition avec des entéro-pathogènes (Du *et al.*, 2023).

- *Système immunitaire et modulation de l'inflammation*

Les bactéries probiotiques sont capables de réguler différentes cellules immunitaires telles que les lymphocytes B et T, les cellules dendritiques, les monocytes et macrophages, et de favoriser la phagocytose d'entéropathogènes.

Les bactéries probiotiques peuvent être impliquées dans la modulation de la réponse inflammatoire.

La compréhension de cette implication peut cependant s'avérer complexe. En effet, des souches et espèces différentes présentent des mécanismes propres, qui peuvent être : l'inhibition de cytokines pro inflammatoire, la synthèse de cytokines anti-inflammatoires par les cellules dendritiques notamment, la stimulation de médiateurs anti inflammatoire, ou de voies impliquées dans l'aggravation ou la régulation de l'inflammation intestinale (Ueno *et al.*, 2011)(Du *et al.*, 2023).

Enfin, l'administration de probiotiques peut se traduire par l'augmentation du nombre de cellules sécrétrices d'immunoglobulines IgM, IgG et IgA, et des niveaux de ces derniers. Ainsi, chez des enfants souffrants de diarrhées, l'administration de *Lactobacillus* permet une augmentation des niveaux d'IgA et une réduction de la durée de la diarrhée (Du *et al.*, 2023).

L'administration de *S. cerevisiae boulardii* au cours de la première semaine de vie chez le veau stimule la production d'immunoglobuline A dans l'iléon et le côlon (Cangiano *et al.*, 2020).

Les IgA sont impliquées dans la modulation des populations locales de microorganismes et stabilisent leurs interactions avec l'hôte (Cangiano *et al.*, 2020)(Pabst *et al.*, 2016). Elles peuvent s'organiser en IgA sécrétoire au niveau de la couche de mucus, composé de deux ou trois molécules d'IgA reliées par un segment stabilisateur d'origine plasmocytaire ou épithéliale (Tosi, 2009). Ces IgA sécrétoires peuvent bloquer l'accès de certains microorganismes aux récepteurs épithéliaux, en les piégeant dans la couche de mucus à la surface de la muqueuse épithéliale, favorisant leur élimination. Elles pourraient également être impliquées dans le transport d'antigènes au travers de l'épithélium aux cellules dendritiques au niveau des tissus lymphoïdes associés au tube digestif (Mantis *et al.*, 2011).

L'utilisation de *S. cerevisiae* comme probiotique pourrait ainsi avoir des bénéfices pour la santé dans le cadre d'infections se traduisant par des diarrhées en modulant l'immunité mucoale et en prévenant l'attachement de bactéries pathogènes aux cellules épithéliales intestinales (Cangiano *et al.*, 2020).

Ainsi, les souches microbiennes probiotiques présentent un intérêt certain dans la lutte contre *Cryptosporidium parvum* en étant à l'origine d'une réduction significative de la durée et de l'intensité de l'excrétion fécale d'oocystes et des signes cliniques, au moins similaire aux traitements conventionnels, et ce d'autant plus que leur administration est précoce. Parmi ces souches, les lactobacilles, et notamment *L. acidophilus*, *L. reuteri* et *L. casei* semblent les plus pertinentes. Il est important de souligner néanmoins, que chez des individus adultes, porteurs d'un microbiote mature et ne présentant pas de signes cliniques, l'administration de souches probiotiques n'a pas d'impact significatif. Par ailleurs, en cas de signes cliniques sévères, de diarrhées importantes, l'usage de probiotiques peut n'apporter aucun bénéfice et rester sans effet.

Les mécanismes d'action de ces souches sont nombreux et complexes. Ils impliquent la production de peptides antimicrobiens pouvant être à l'origine d'un stress oxydatif chez les entéropathogènes délétère à leur survie. Une action hydrolytique sur les parois des enteropathogènes, la modulation de la réponse inflammatoire *via* les IgA et une compétition pour l'espace et les ressources jouent également un rôle. Par la formation de biofilm à la surface de l'épithélium intestinal, le renforcement de sa fonction barrière et des jonctions serrées par l'induction de HSP, la stabilisation des cytosquelettes et l'augmentation de l'expression et de l'abondance des protéines de ces jonctions, et l'augmentation de la production de butyrate l'administration de souches probiotiques se traduit surtout par une protection et un renforcement de l'épithélium intestinal lésé au cours de l'infection par l'envahissement parasitaire

2. Prébiotique

A. Définition et généralités

Les prébiotiques sont des substances non viables utilisées sélectivement comme nutriments par les microorganismes de l'hôte, promouvant leur croissance et leurs activités et conférant à l'hôte des bénéfices pour la santé (Cangiano *et al.*, 2020)(Guan et Feng, 2022).

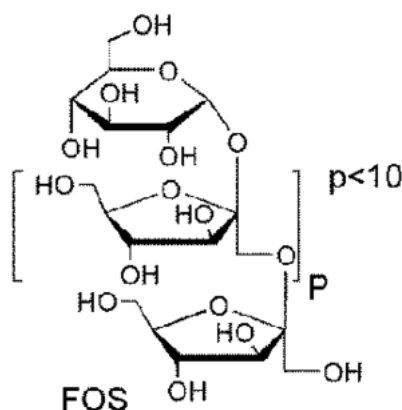
Chez les ruminants leurs mécanismes d'action restent peu explorés et il existe peu de preuves d'effets positifs en termes de santé ou de statut immunitaire (Cangiano *et al.*, 2020).

Chez l'Homme, il a été suggéré que les prébiotiques pourraient être impliqués dans la modulation du microbiote, l'immunomodulation locale, l'absorption de nutriments, l'inhibition de pathogènes (Cangiano *et al.*, 2020).

B. Revue de divers prébiotiques, données actuelles dans le cadre de la prise en charge des diarrhées chez le jeune ruminant

a. Fructo-oligosaccharides

Les Fructo-oligosaccharides (FOS) sont des oligosaccharides. Ce sont des polymères composés d'une molécule de glucose terminale liée à trois à dix unités de fructose (Figure 9). Entre deux et soixante unités, le terme d'inuline peut s'appliquer (Kumar *et al.*, 2018).



**Figure 9 : Structure moléculaire des Fructo-oligosaccharides.
D'après (Berezovskaya *et al.*, 2020).**

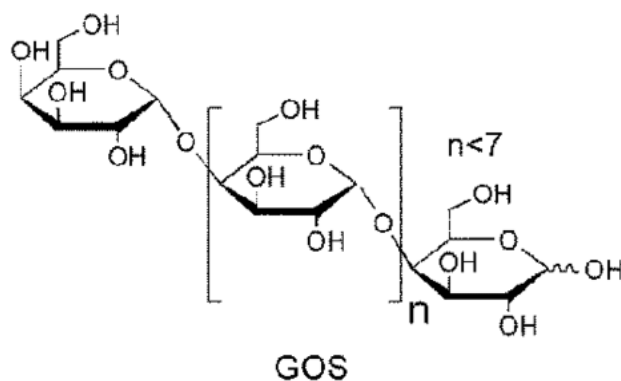
Les FOS sont des composants naturels des plantes résistants à l'hydrolyse par les enzymes digestives de l'hôte. Ils sont fermentés en acides gras à chaîne courte, acétate et lactate par les populations du microbiote intestinal et colique, notamment *in vitro* par de nombreuses souches de *Bifidobacteria* et *Lactobacillus*. *In vivo*, l'administration de FOS favorise la croissance de *Bifidobacteria*, dont l'abondance est significativement augmentée, et inhibe la croissance de *Clostridia*.

Les FOS lévogyres semblent plus stables que ceux de type inuline, et induisent une croissance de *Bifidobacterium lactis* plus importante, associée à une synthèse d'acétate et de lactate plus importante également. Ces lactates sont par la suite métabolisés en butyrate par d'autres populations microbiennes au sein du microbiote (Kumar *et al.*, 2018).

Peu d'études sont disponibles sur l'usage des FOS lors d'infection chez le veau. Néanmoins deux études montrent que chez des veaux diarrhéiques, leur administration permet la réduction de scores fécaux, et de l'usage d'antibiotiques. Leur administration permettrait également l'augmentation des concentrations fécales en butyrate (Cangiano *et al.*, 2020).

b. Galacto-oligosaccharide

Les galacto-oligosaccharides (GOS) sont des oligosaccharides. Ce sont des polymères composés d'une molécule de galactose ou de glucose terminale liée à trois à huit molécules de galactose retrouvés dans le lait de certains mammifères comme les marsupiaux (Figure 10). Les GOS obtenus par synthèse enzymatique à partir de lactose peuvent présenter un nombre plus important d'unités (Gänzle, 2011).



**Figure 10 : Structure moléculaire des Galacto-oligosaccharides.
D'après (Berezovskaya et al., 2020).**

Tout comme les FOS, les GOS ne sont pas digérés par les enzymes digestives, chez l'Homme, mais fermentés par les populations microbiennes locales à leur arrivée dans le côlon, notamment *Bifidobacterium* et *Bacteroides* qui l'utilisent comme source première de carbone, ainsi que par les *Lactobacillus*. Leur administration quotidienne pendant trois semaines est ainsi à l'origine d'une augmentation significative de l'abondance intestinale de *Bifidobacterium* spp. suivant une relation dose-dépendante. La croissance de *Lactobacillus* semble également favorisée par l'administration de GOS(Gänzle, 2011)(Sako et Tanaka, 2011).

Les produits de ces fermentations sont essentiellement des acides gras à chaîne courte (Gänzle, 2011).

Chez le nourrisson, l'administration concomitante de GOS et de FOS réduit l'occurrence d'infections intestinales (et respiratoires) pendant la première année de vie (Glibowski et Skrzypczak, 2017).

Chez le veau, l'administration de GOS semble augmenter la longueur des villosités jéjunales, ainsi que la profondeur des cryptes. Leur administration lors d'épisodes de diarrhées montre des résultats hétérogènes : certaines études mettent en évidence un impact positif avec des scores fécaux et un nombre de jours de diarrhée diminués, d'autres une augmentation transitoire des bactéries coliques productrices d'acides lactiques avec un nombre de jours de diarrhées augmenté, peut être d'origine osmotique (Cangiano et al., 2020).

c. Mannan-oligosaccharide

Les mannan-oligosaccharides (MOS) sont des polymères de mannose (Figure 11) dérivés de parois cellulaires de levures telles que *Saccharomyces cerevisiae*, et de plantes, capables de lier de manière compétitive des agents pathogènes (Cangiano *et al.*, 2020)(Tungland, 2018b).

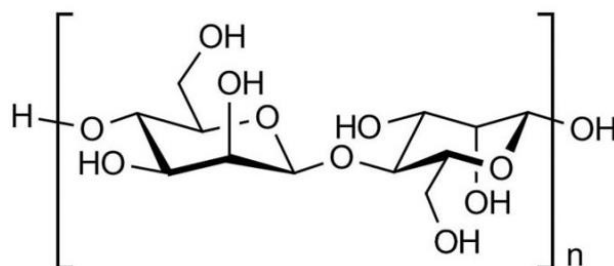


Figure 11 : Structure moléculaire des Mannan-oligosaccharides. D'après (Laboratoire Elicityl, s. d.).

Sur dix études évaluant l'impact de l'administration de MOS sur la santé de veaux, huit montrent un impact positif avec une diminution de la sévérité de la diarrhée et un retour à des scores fécaux normaux plus rapide (Cangiano *et al.*, 2020).

L'administration de MOS lors de cryptosporidiose n'est pas à l'origine d'une diminution du dénombrement fécale d'oocystes au-delà de la première semaine de traitement, néanmoins son utilisation semble avoir plus d'effets bénéfiques que d'autres prébiotiques (Cangiano *et al.*, 2020)(Terré *et al.*, 2007).

d. Bêta-glucane

Les bêta-glucanes sont des polymères de glucose retrouvés dans la paroi de levures, bactéries, algues, champignons et céréales, mais cette grande diversité de sources complique la réalisation de synthèses d'études sur le sujet. Le poids moléculaire variable de ce polymère pourrait être à l'origine des différences de taux de réussite des essais cliniques sur les β -glucanes en termes de bénéfices cliniques chez l'Homme. Ces bénéfices sont essentiellement liés à la modulation du métabolisme du cholestérol et du glucose, en lien avec sa viscosité et les capacités d'absorption de l'intestin (Cangiano *et al.*, 2020)(Mitmesser et Combs, 2017).

La fermentation des bêta-glucane est également à l'origine de la production d'acides gras à chaîne courte comme le propionate (Mitmesser et Combs, 2017).

Chez le veau, trois études se sont intéressées à l'effet de l'administration de bêta-glucane sur leur santé. L'une d'elle mettait en évidence des effets positifs. Une augmentation des IgA sérique est observée, du ratio neutrophile/lymphocyte, et de la réponse immune au vaccin chez des veaux exposé à un challenge vaccinal et complémenté en bêta-glucane. Une autre mettait en évidence des effets négatifs, avec des scores fécaux augmentés et un pourcentage de veaux positifs à *E. coli* O157:H7 plus important chez les individus complémentés (Cangiano *et al.*, 2020).

e. Cyclodextrine

- *Bêta-cyclodextrine*

Les bêta cyclodextrine sont composées de sept molécules de glucose assemblées en cercle (Figure 12) (Cangiano *et al.*, 2020).

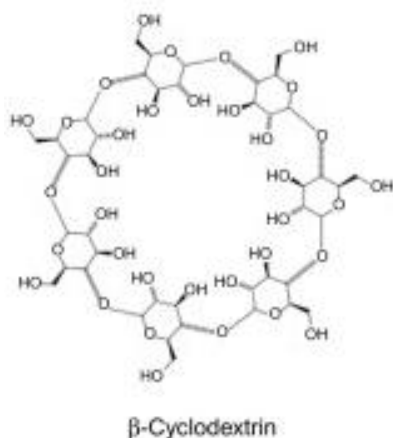


Figure 12 : Structure moléculaire des Bêta-cyclodextrine. D'après (Bruschi, 2015).

L'activité de ce prébiotique contre *Cryptosporidium parvum* a été évaluée chez des souris allaitantes et chez des agneaux dans des conditions de terrain.

Chez ces 53 individus le prébiotique a été administré par voie orale, à 1, 2 et 3 jours d'âge en prophylactique et pendant trois jours suivant l'apparition de diarrhées en thérapeutique. L'efficacité de l'administration a été évaluée par rapport à l'excrétion d'oocystes, la présence de diarrhée et la prise de poids à 15 et 30 jours (Castro-Hermida *et al.*, 2001b)(Castro-Hermida *et al.*, 2001a).

L'administration prophylactique de bêta cyclodextrine se traduit par une diminution de la mortalité, du nombre d'animaux infectés, un allongement de la période prépatente et une réduction de la durée de la diarrhée et de l'excrétion fécale d'oocystes.

L'administration thérapeutique de bêta cyclodextrine se traduit par une diminution de la durée de l'infection et de la sévérité de la diarrhée (Castro-Hermida *et al.*, 2001b)(Castro-Hermida *et al.*, 2001a).

Selon ces mêmes protocoles, chez le veau, l'administration prophylactique et thérapeutique de bêta cyclodextrine se traduit par une réduction de l'excrétion fécale d'oocystes (Castro-Hermida *et al.*, 2001b)(Castro-Hermida *et al.*, 2001a).

- *Alpha-cyclodextrine*

Les alpha cyclodextrine sont composées de six molécules de glucose assemblées en cercle (Figure 13) (Ceborska, 2018).

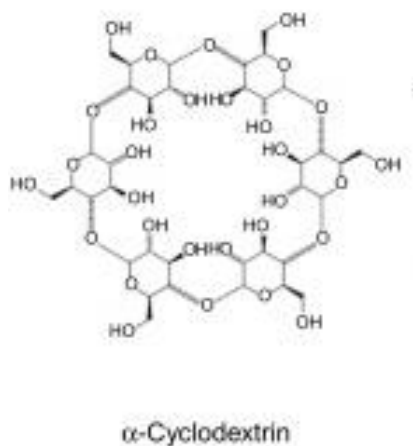


Figure 13 : Structure moléculaire des Alpha-cyclodextrine. D'après (Bruschi, 2015).

L'administration thérapeutique d'alpha-cyclodextrine pendant les six premiers jours de vie, chez des chevreaux expérimentalement infectés par *Cryptosporidium parvum*, se traduit par un allongement de la période prépatente, une réduction de la durée de la diarrhée et de l'excrétion fécale d'oocystes (Castro-Hermida *et al.*, 2004).

Chez des souris nourries avec une alimentation riche en gras, l'administration d'alpha-dextrine se traduit par une abondance augmentée des populations de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, autrement diminuées chez les souris non complémentées.

Les concentrations caecales en acide lactique, acétate, propionate et butyrate étaient par ailleurs augmentées (Nihei *et al.*, 2018).

Chez l'Homme, l'administration d'une dextrine de synthèse a permis en culture une augmentation de l'abondance des populations *Bifidobacterium*, *Veillonella*, *Dialister*, et *Blautia* issues du microbiote fécal humain (Wei *et al.*, 2023).

f. Chitosan et chito-oligosaccharides

Le chitosan est un polysaccharide naturel dérivé de la chitine (Figure 14). Il est synthétisable par désacétylation des déchets de la pêche crustacée à partir de la chitine présente dans les exosquelettes des crabes, des crevettes et des insectes ou issue de sources fongiques telles *Aspergillus* ou *Saccharomyces*, car présente dans les parois cellulaires des champignons (Adjou, 2019)(Guan et Feng, 2022).

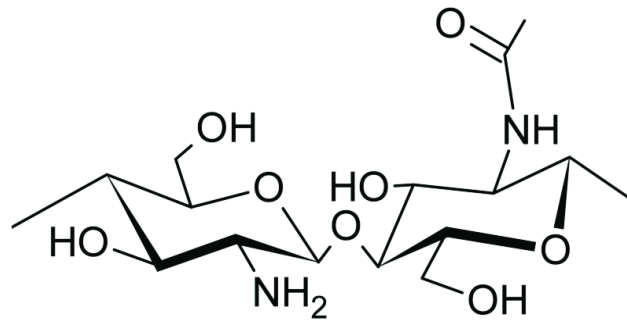


Figure 14 : Structure moléculaire du Chitosan.
D'après (Teixeira-Costa et Andrade, 2021).

Par rapport à la chitine, le chitosan est moins toxique et moins allergisant.

Les chito-oligosaccharides sont issus de l'hydrolyse du chitosan (Guan et Feng, 2022).

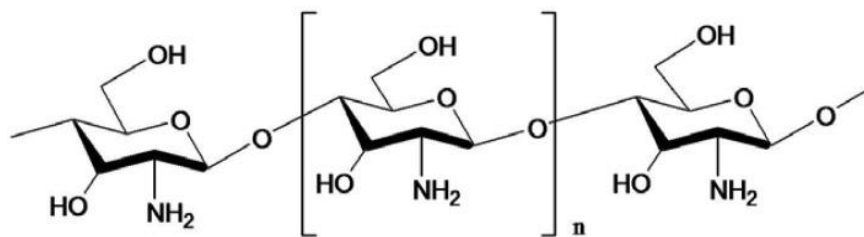


Figure 15 : Structure moléculaire des Chito-oligosaccharides.
D'après (Kim et Senevirathne, 2011).

Les dérivés de la chitine présentent des activités anti-oxydante, anti-inflammatoire, anti-tumorale. Par ailleurs, ils sont absorbables par les cellules épithéliales.

L'activité anti-oxydante s'accompagne de la capacité à induire des enzymes anti-oxydantes lors de stress oxydatif.

L'activité anti-inflammatoire s'accompagne de la capacité à stimuler le système immunitaire inné et acquis *via* les voies de signalisation NFκB, MAPK et AMPK (Guan et Feng, 2022).

Les dérivés de la chitine présentent de plus des activités anti-microbiennes envers de nombreuses bactéries pathogènes telles *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium luteum*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Yersinia enterocolitica*, mais également envers divers phytopathogènes fongiques (Guan et Feng, 2022).

Plusieurs mécanismes sont évoqués pour expliciter ces activités antimicrobiennes.

Les dérivés de chitine peuvent se lier aux composants membranaires des bactéries, perturbant leurs transports transmembranaires, et l'intégrité de leur paroi. Leurs propriétés chélatrices de métaux perturbent de plus la croissance des bactéries.

Enfin, certains dérivés de bas poids moléculaires sont capables d'être internalisés au sein des bactéries, pénétrer le nucléoïde et se lier à l'ADN, perturbant son expression et la réplication de l'organisme (Guan et Feng, 2022).

En culture l'administration de chitooligosaccharide se traduit par une augmentation des *Bacteroidetes*, une diminution des *Proteobacteria*, des *Actinobacteria* et du ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* (Guan et Feng, 2022).

Chez des souris immunodéprimées infectées par *C.parvum*, l'administration de Chitosan se traduit par une augmentation de l'abondance relative des *Bacteroidetes/Bacteroides*, et une diminution de l'abondance relative des *Proteobacteria*, des *Tenericutes*, des *Defferribacteres* et des *Firmicutes* (Rahman *et al.*, 2021).

Chez des porcelets sevrés, l'administration de dérivés de chitooligosaccharide pendant deux semaines se traduit par une augmentation de l'abondance des populations de *Bifidobacterium spp.*, *Bifidobacterium breve*, *Faecalibacterium prausnitzii*, et *Lactobacillus spp.* au niveau de l'iléon et du côlon, *Prevotella* au niveau de l'iléon et de *Fusobacterium prausnitzii*, *Methanobrevibacter smithii*, et de *Roseburia* au niveau du côlon, et d'une diminution de l'abondance des populations de *Firmicutes* et *Streptococcus* au niveau de l'iléon et du côlon, de *Bacteroides fragilis*, *Clostridium spp.*, *Eubacterium rectale*, et *Methanobrevibacter smithii* au niveau de l'iléon et de *E. coli* au niveau du côlon.

Parmi ces populations augmentées suite à l'administration de dérivés de chitooligosaccharide et à l'instar des lactobacilles et bifidobactéries, *Faecalibacterium prausnitzii* est également impliquée dans la synthèse de butyrate. Elle possède également des propriétés anti-inflammatoires par inhibition de la voie NFkB. Son abondance relative est par ailleurs négativement corrélée à l'incidence de diarrhée chez les veaux (Du *et al.*, 2023).

Et ainsi, les modifications du microbiote intestinal suite à l'administration de dérivés de chitine chez ces porcelets s'accompagnent par ailleurs d'une augmentation de la concentration des acides gras à chaîne courte (Guan et Feng, 2022).

Ainsi, les dérivés de la chitine présentent des caractéristiques prébiotiques intéressantes.

Sur des cultures cellulaires, l'administration de chitosan permet de réduire le nombre de *C. parvum*. Cet effet est dose dépendant (Adjou, 2019).

Chez des souris immunodéprimées infectées par *C. parvum*, l'administration de Chitosan se traduit par une réduction significative de l'excrétion fécale d'oocystes.

Chez ces souris, l'administration de Chitosan permet également l'inhibition de la voie TLR4, et une diminution significative de l'IFN gamma et de TNF alpha (Rahman *et al.*, 2021).

Chez des chevreaux expérimentalement infectés, l'administration d'une préparation commerciale contenant du chitosan se traduit par une réduction de la durée et de la sévérité de la diarrhée, une réduction significative de l'excrétion fécale d'oocystes par rapport au groupe contrôle et une augmentation significative du poids (Adjou, 2019).

Les études sur l'usage de prébiotiques dans la gestion des diarrhées néonatales à *C. parvum* offrent des résultats hétérogènes mais encourageants, suivant le type de prébiotiques utilisés. Ainsi, les mannan-oligosaccharides, les Bêta cyclodextrines et le chitosan et ses dérivés semblent capables de réduire l'excrétion fécale d'oocystes au cours de l'infection, ainsi que la durée et la sévérité de la diarrhée.

De manière plus générale, l'administration de prébiotiques apparaît comme pouvant être à l'origine d'une amélioration des scores fécaux en favorisant en tant que support de fermentation la production d'acides gras à chaîne courte et notamment de butyrate.

Du fait des résultats hétérogènes obtenus et de leur apparente faible reproductibilité et des enjeux liés à l'infection, leur utilisation semble plus pertinente en tant qu'adjuvants thérapeutiques qu'en support principal d'une prise en charge de diarrhées néonatales à *C. parvum*.

3. Focus sur la transplantation fécale

La transplantation fécale consiste en la transplantation du contenu fécal d'un donneur sain à un receveur malade, afin de restaurer les communautés microbiennes intestinales de ce dernier. La transplantation fécale représente une solution prometteuse dans la gestion de maladies essentiellement chroniques en lien avec une dysbiose intestinale, mais également suite à des traitements antibiotiques prolongés altérant le microbiote (Du *et al.*, 2023).

La transplantation fécale est un moyen de modifier le microbiote intestinal d'un individu qui pourrait constituer une prise en charge thérapeutique intéressante dans la prise en charge de diarrhées infectieuses, notamment à *Cryptosporidium parvum*.

Chez l'Homme, l'utilisation de la transplantation fécale dans la prise en charge des infections à *Clostridium difficile*, permet une résolution de l'affection dans plus de 80% des cas, avec des

patients asymptomatiques et chez lesquels la bactérie n'est pas détectée dans les selles jusqu'à huit semaines post traitement (Islam *et al.*, 2022).

Chez le veau, la transplantation fécale est efficace dans le traitement de diarrhées néonatales multifactorielles dans 70% des cas, avec une réduction des scores de diarrhées associés (Islam *et al.*, 2022).

Chez des lémurs Sifakas naturellement infectés par *C. parvum*, la transplantation fécale facilite un rétablissement plus rapide et permet le rétablissement de la diversité microbienne à des niveaux au moins égaux à ceux pré-infection (McKenney *et al.*, 2017).

Chez des veaux souffrant de diarrhées, l'analyse des microbiotes fécaux des donneurs et des receveurs montre qu'après transplantation, la diversité alpha tend à être augmentée chez les receveurs, quelque soit le succès de la transplantation. Pour les transplantations réussies, l'analyse de la diversité Bêta montrait une réduction des dissimilarités post transplantation, avec une composition du microbiote des receveurs proche de celle des donneurs 7 jours après la transplantation (Islam *et al.*, 2022).

Néanmoins, l'utilisation de la transplantation fécale comme thérapie efficace présente un certain nombre de contraintes qui pourrait rendre son utilisation sur le terrain moins pertinente que ne l'est l'usage de probiotiques, dans la gestion de la dysbiose et de l'infection dues à *C. parvum*.

Bien que cela soit peut être plus applicable dans le cadre de la prise en charge de maladies chroniques, il a en effet été montré que plusieurs transplantations pouvaient s'avérer être nécessaires afin d'obtenir l'efficacité souhaitée, avec dans un premier temps des transplantations réalisées fréquemment afin d'obtenir une rémission, puis à intervalles plus espacés afin de maintenir les modifications des communautés microbiennes de l'hôte ainsi induites (Zhang *et al.*, 2022).

La sélection du donneur représente également un défi, et les multiples facteurs influençant la composition des microbiotes pourraient être à l'origine d'un manque de reproductibilité.

Ainsi, il est probable qu'une transplantation fécale échoue si les microbiotes du donneur et du receveur sont trop similaires. La composition des microbiotes du donneur et du receveur conditionne le succès de la transplantation, et il a été montré que les genres *Sporobacter* et *Selenomonas* étaient retrouvés chez les donneurs, et *Lactobacillus* chez les receveurs lors de transplantations réussies chez le veau. L'analyse des microbiotes du donneur et du receveur apparaît comme nécessaire à la réalisation de la transplantation afin d'identifier ces genres, prédicteurs de succès pour la mise en pratique (Islam *et al.*, 2022).

On peut également souligner la nécessité de vérifier au préalable l'innocuité des prélèvements utilisés. Ainsi chez le veau, dans le cadre de la prise en charge des diarrhées néonatales, l'absence d'agents pathogènes susceptibles d'être transmis au cours de la transplantation tels que le virus de la maladie des muqueuses, les coronavirus et rotavirus entériques, *Clostridium perfringens*, des coccidies, *Salmonella spp.*, *E. coli* pathogènes, des nématodes, et bien sûr *C. parvum* (Islam *et al.*, 2022).

L'usage de la transplantation fécale impliquerait ainsi un certain nombre d'investigations préalables dont la réalité économique ne permettrait peut-être pas un usage pertinent en médecine vétérinaire, actuellement.

Se poserait également la question de l'âge du donneur en lien avec sa maturité microbiotique, et de la rémanence des communautés introduites dans des conditions environnementales intestinales dépendant de l'âge et de l'alimentation du receveur, non sevré. De plus amples études sont donc sans doute nécessaires.

Si l'utilisation de la transplantation fécale dans la prise en charge des maladies se traduisant par une dysbiose apparaît prometteuse, les contraintes pratiques liées à sa réalisation sur le terrain semblent peu en faveur de sa mise en application dans un futur proche dans la gestion des diarrhées à *C. parvum* en médecine vétérinaire tout du moins.

Conclusion

La cryptosporidiose est une maladie zoonotique. Habituellement auto-résolutive, elle est causée par l'infection des cellules épithéliales intestinales par des parasites appartenant au genre *Cryptosporidium*. Sa transmission oro-fécale est à l'origine d'épidémies d'origine hydrique et alimentaire, et représente à l'échelle mondiale la seconde cause de diarrhées chez les enfants de moins d'un an et est à l'origine chez les individus immunodéprimés de diarrhées chroniques pouvant être mortelles. *Cryptosporidium parvum* constitue également l'un des principaux agents de diarrhées néonatales chez les jeunes ruminants en élevage.

Apparentés aux grégarines, les cryptosporidies sont des protozoaires à apicomplexe intracellulaires extracytoplasmiques largement dépendants de la cellule parasitée en terme de métabolisme et protégés au sein de la cellule par une vacuole parasitophore qui les isole de la réponse immunitaire de l'hôte ainsi que des voies de délivrance de molécules actives. Ses stades auto-infectieux, mérozoïtes et oocystes à parois fines renforcent encore l'efficacité de son cycle de réplication, et ainsi sa dissémination dans l'environnement lors de l'excrétion fécale.

Au-delà de l'importance économique que revêtent les diarrhées néonatales à *Cryptosporidium* en élevage, le caractère zoonotique de cette maladie, le portage hydrique des oocystes du parasite, leur résistance importante dans l'environnement et l'absence de traitements efficaces aussi bien chez l'Homme que chez l'animal font de sa gestion à la croisée entre environnement, médecine humaine et médecine vétérinaire un enjeu One Health. La médecine vétérinaire y joue un rôle crucial et premier, notamment dans la limitation de la contamination environnementale, en étant directement impliquée dans les mesures d'hygiène en élevage, la prévention et le traitement des diarrhées néonatales à *Cryptosporidium parvum* des jeunes ruminants.

Les traitements actuellement autorisés, et disponibles, aussi bien en médecine humaine qu'en vétérinaire ne se montrent pas pleinement efficaces vis-à-vis de la prévention ou de l'élimination de l'infection bien qu'ils permettent une réduction de l'excrétion fécale d'oocystes, et de la mortalité chez les animaux d'élevage. Ainsi s'ils permettent une réduction de la contamination de l'environnement, ils ne permettent cependant pas nécessairement une réduction des signes cliniques chez les jeunes ruminants et des pertes économiques associées.

Les recherches récentes concernant la gestion de l'infection s'articulent autour de plusieurs stratégies complémentaires : l'interruption du cycle de développement parasitaire par la mise au point de molécules biocides d'une part, et d'autre part le renforcement des moyens de défense de l'hôte et de sa réponse immunitaire, par exemple par le développement de vaccins ou en modulant le microbiote intestinal. La réponse immunitaire participe par ailleurs, chez le ruminant mais non chez l'Homme, à la mise en place d'une résistance à l'infection lors des expositions ultérieures.

Si les relations complexes s'établissant entre le microbiote intestinal et l'hôte sont encore incomplètement comprises notamment considérant ses impacts au niveau systémique, localement

les communautés microbiennes participent entre autres à l'induction, au développement et à l'éducation du système immunitaire ainsi qu'à la résistance vis-à-vis d'éventuels entéropathogènes exogènes : en entrant en compétition pour des ressources nécessaires à leur métabolisme, en modulant l'expression de gènes de virulence, l'environnement local, en produisant des peptides antimicrobiens etc.

Lors de cryptosporidiose, la présence d'un microbiote mature participe à la résistance initiale à l'infection. Sa composition, et de fait ses modifications, module la sensibilité de l'hôte et la sévérité de l'atteinte. Il joue en effet un rôle dans l'activation des cellules dendritiques centrales à la réponse immunitaire à *C. parvum*, et les métabolites qu'il produit tel que l'indole, ou les acides gras à chaîne courte sont impliqués dans le métabolisme des cellules épithéliales, dans la différenciation des lymphocytes T, la réponse inflammatoire. Ces acides gras à chaîne courte sont retrouvés à des niveaux importants chez des souris adultes infectées mais résistantes à *C. parvum*. De fait chez les animaux jeunes, la sensibilité à l'infection est très probablement liée à une immaturité immunitaire et microbienne en lien avec un régime alimentaire encore peu diversifié, et l'apparition d'une résistance coïncide avec la mise en place d'une flore intestinale mature, concomitamment avec la transition vers une alimentation solide.

Chez les jeunes animaux touchés, la cryptosporidiose est à l'origine d'une variation importante des communautés bactériennes associée à une perte de la diversité microbienne intrinsèque. La modification du transit digestif, l'atteinte de l'épithélium et notamment des cellules de Paneth secondaire à l'infection, semblent être à l'origine de la dysbiose induite, par perte des mécanismes de régulation et de protection locaux. La cryptosporidiose altère par ailleurs le développement précoce du microbiote, perturbe les interactions entre ses populations et induit la modification de voies de biosynthèse comme celle des acides gras à chaîne courte impliqués dans l'homéostasie intestinale. La dysbiose apparaît transitoire, mais elle pourrait néanmoins entraîner des conséquences à plus long terme.

Les souches microbiennes probiotiques, et les prébiotiques, permettent de moduler le microbiote intestinal. Les souches bactériennes utilisées comme probiotiques sont à l'origine d'une réduction souvent significative de la durée et de l'intensité de l'excrétion fécale d'oocystes et des signes cliniques associés, et ce d'autant plus que leur administration est précoce. Cette efficacité est au moins similaire aux traitements conventionnels. Les mécanismes d'actions sous jacents à leur efficacité comprennent la production de peptides antimicrobiens, la modification de l'environnement local, la protection de l'épithélium et de sa fonction barrière par le renforcement des jonctions serrées fragilisées au cours de l'infection, la modulation du système immunitaire et la compétition pour l'espace et les ressources. Dans une moindre mesure les prébiotiques, supports de fermentation pour les communautés microbiennes pour la synthèse d'acides gras à chaîne courte, chélateurs de métaux et perturbateurs de la multiplication et de la croissance d'entéropathogènes, renforcent ces effets bénéfiques.

La seule modification du microbiote intestinal ne permet pas l'élimination de l'infection ni sa prévention, chez le jeune. Néanmoins, du fait de la difficulté à concevoir des molécules anti-cryptosporidiennes biocides, il apparaîtrait tout à fait pertinent de concevoir en médecine vétérinaire des stratégies thérapeutiques multimodales associant thérapies conventionnelles et

modificateurs du microbiote intestinal en association avec des pratiques d'élevage et des mesures d'hygiène strictes afin de réduire autant que faire ce peut l'excrétion fécale et les signes cliniques, dont la gravité est directement liée à la quantité d'oocystes ingérés, tout en assurant l'immunisation des individus.

Liste des références bibliographiques

- ABD AL-KHALIQ, I. M. (2020) Role of Lactobacillus Plantarum and Lactobacillus acidophilus as a treatment of cryptosporidiosis in mice. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences* vol. 11, n° 4, p. 6313-6318. [<https://doi.org/10.26452/ijrps.v11i4.3350>]
- ADJOU, K.T. (2019) Traitement et prévention de la cryptosporidiose chez les jeunes ruminants (chevreaux) : intérêt des polysaccharides naturels. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* vol. 172, p. 99-105. [<https://doi.org/10.4267/2042/70539>]
- ADJOU, K.T., CHEVILLOT, A., LUCAS, P., *et al.* (2023) First identification of Cryptosporidium parvum virus 1 (CSpV1) in various subtypes of Cryptosporidium parvum from diarrheic calves, lambs and goat kids from France. *Veterinary Research* vol. 54, n° 66. [<https://doi.org/10.1186/s13567-023-01196-4>]
- AGENCE REGIONALE DE SANTE PROVENCE-ALPES-COTE D'AZUR (2023) Cas de cryptosporidiose dans les Alpes-Maritimes - Point de situation. [<https://www.paca.ars.sante.fr/cas-de-cryptosporidiose-dans-les-alpes-maritimes-point-de-situation>] (consulté le 09/09/2023).
- AJANYA, B., ADETORO, R., KAMORU, A., *et al.* (2018) Therapeutic potency of probiotics in the treatment of gastrointestinal parasites. *Journal of Public Health and Diseases*, vol 1, n° 2, p. 22-30. [<https://doi.org/10.31248/JPHD2018.0111>]
- ALAK, J.I., WOLF, B.W., MDURVWA, E.G., *et al.* (1999) Supplementation with Lactobacillus reuteri or L. acidophilus reduced intestinal shedding of cryptosporidium parvum oocysts in immunodeficient C57BL/6 mice. *Cellular and Molecular Biology* vol. 45, n° 6, p. 855-863. [PMID : 10541481].
- ALAK, J.I.B., WOLF, B.W., MDURVWA, E.G., *et al.* (1997) Effect of Lactobacillus reuteri on Intestinal Resistance to Cryptosporidium parvum Infection in a Murine Model of Acquired Immunodeficiency Syndrome. *The Journal of Infectious Diseases* vol. 175, n° 1, p. 218-221. [<https://doi.org/10.1093/infdis/175.1.218>]
- ANSES (2022) RCP GabbrovetMulti. [<https://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=GABBROVET+MULTI+140+MG%2FML+SOLUTION+POUR+ADMINISTRATION+DANS+L%27EAU+DE+BOISSON+OU+LE+L+AIT+POUR+DES+BOVINS+PRE-RUMINANTS+ET+DES+PORCINS>] (consulté le 03/10/2023).
- ANSES (2020) RCP Lactate d'Halofuginone. [<https://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=HALOFUSOL+0%2C5+MG%2FML+SOLUTION+BUVABLE+POUR+VEAUX>] (consulté le 02/10/2023).

- ANSM (2022) Référentiel des spécialités en accès dérogatoire. *In ANSM*. [<https://ansm.sante.fr/documents/referance/referentiel-des-specialites-en-acces-derogatoire>] (consulté le 03/10/2023).
- AZAD, M.A.K., SARKER, M., LI, T., *et al.* (2018) Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota : An Overview. *BioMed Research International* vol. 2018. [<https://doi.org/10.1155/2018/9478630>]
- BEAVER, A., PETERSEN, C., WEARY, D.M., *et al.* (2021) Differences in the fecal microbiota of dairy calves reared with differing sources of milk and levels of maternal contact. *JDS Communications* vol. 2, n° 4, p. 200-206. [<https://doi.org/10.3168/jdsc.2020-0059>]
- BENAMROUZ-VANNESTE, S., SAWANT, M., BENAMROUZ, S., *et al.* (2020) La cryptosporidiose et son impact en santé publique. *Revue de Biologie Médicale*. [<https://hal.science/hal-02400544>] (consulté le 28/09/2023).
- BEREZOVSKAYA, Y., VARAKINA-MITRAIL, K., NECHAEVA, V., *et al.* (2020) Biotic nutritional components in baby formula : Possible solution for infantile colic management. *Functional Foods in Health and Disease* vol. 10, p. 368-378. [<https://doi.org/10.31989/ffhd.v10i9.737>]
- BOUZID, M., HUNTER, P.R., CHALMERS, R.M., *et al.* (2013) Cryptosporidium Pathogenicity and Virulence. *Clinical Microbiology Reviews* vol. 26, n° 1, p. 115-134. [<https://doi.org/10.1128/CMR.00076-12>]
- BRACHI, B. (2022) Des gènes au microbiote des plantes. *In INRAE Institutionnel*. [<https://www.inrae.fr/actualites/genes-au-microbiote-plantes>] (consulté le 19/06/2023).
- BRAINARD, J., HAMMER, C.C., HUNTER, P.R., *et al.* (2021) Efficacy of halofuginone products to prevent or treat cryptosporidiosis in bovine calves : a systematic review and meta-analyses. *Parasitology* vol. 148, n° 4, p. 408-419. [<https://doi.org/10.1017/S0031182020002267>]
- BRAY, N. (2019) The microbiota–gut–brain axis. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00021-3>]
- BRUNELLO, L. (2019) Gut microbiota transfer experiments in germ-free animals. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00009-z>]
- BUCCI, M. (2019) Transfer of host phenotypes through microbiota transplantation. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00016-0>]
- CALU, G. (2020) Les indices de diversité en écologie des écosystèmes. [<https://louerns-nature.fr/indices-de-diversite-ecologie-ecosystemes/>] (consulté le 22/06/2023).

- CANGIANO, L.R., YOHE, T.T., STEELE, M.A., *et al.* (2020) Invited Review : Strategic use of microbial-based probiotics and prebiotics in dairy calf rearing. *Applied Animal Science* vol. 36, n° 5, p. 630-651. [<https://doi.org/10.15232/aas.2020-02049>]
- CASTRO-HERMIDA, J.A., GONZÁLEZ-LOSADA, Y., FREIRE-SANTOS, F., *et al.* (2001a) Evaluation of beta-cyclodextrin against natural infections of cryptosporidiosis in calves. *Veterinary Parasitology* vol. 101, n° 2, p. 85-89. [[https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00505-2](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00505-2)]
- CASTRO-HERMIDA, J.A., PORS, I., OTERO-ESPINAR, F., *et al.* (2004) Efficacy of alpha-cyclodextrin against experimental cryptosporidiosis in neonatal goats. *Veterinary Parasitology* vol. 120, n° 1-2, p. 35-41. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.12.012>]
- CASTRO-HERMIDA, J.A., QUÍLEZ-CINCA, J., LÓPEZ-BERNAD, F., *et al.* (2001b) Treatment with beta-cyclodextrin of natural *Cryptosporidium parvum* infections in lambs under field conditions. *International Journal for Parasitology* vol. 31, n° 10, p. 1134-1137. [[https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(01\)00220-x](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(01)00220-x)]
- CEBORSKA, M. (2018) Structural investigation of solid state host/guest complexes of native cyclodextrins with monoterpenes and their simple derivatives. *Journal of Molecular Structure* vol. 1165, p. 62-70. [<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.03.114>]
- CERTAD, G., VISCOGLIOSI, E., CHABÉ, M., *et al.* (2017) Pathogenic Mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends in Parasitology* vol. 33, n° 7, p. 561-576. [<https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.02.006>]
- CHAPPELL, C.L., DARKOH, C., SHIMMIN, L., *et al.* (2016) Fecal Indole as a Biomarker of Susceptibility to *Cryptosporidium* Infection. *Infection and Immunity* vol. 84, n° 8, p. 2299-2306. [<https://doi.org/10.1128/IAI.00336-16>]
- CHARANIA, R., WADE, B.E., MCNAIR, N.N., *et al.* (2020) Changes in the Microbiome of *Cryptosporidium*-Infected Mice Correlate to Differences in Susceptibility and Infection Levels. *Microorganisms* vol. 8, n° 6, p. 879. [<https://doi.org/10.3390/microorganisms8060879>]
- CLEUSIX, V., LACROIX, C., VOLLENWEIDER, S., *et al.* (2007) Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria. *BMC Microbiology* vol. 7, n°101. [<https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-101>]
- DAVOUST-NATAF, N. (2021) Les récepteurs de l'immunité innée (PRR). In *Les récepteurs de l'immunité innée (PRR) — Site des ressources d'ACCES pour enseigner les Sciences de la Vie et de la Terre*. [<http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/immunite-et-vaccination/thematiques/immunite-innee-barrieres-naturelles-et-reaction-inflammatoire/declenchement-de-la-reponse-inflammatoire-role-des-recepteurs-de-l2019immunite-innee/declenchement-de-la-reponse-inflammatoire>] (consulté le 07/06/2023).
- DE GRAAF, D.C., SPANO, F., PETRY, F., *et al.* (1999) Speculation on whether a vaccine against cryptosporidiosis is a reality or fantasy. *International Journal for Parasitology* vol. 29, n° 8, p. 1289-1306. [[https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(99\)00082-X](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00082-X)]

- DEL COCO, V.F., SPARO, M.D., SIDOTI, A., *et al.* (2016) Effects of *Enterococcus faecalis* CECT 7121 on *Cryptosporidium parvum* infection in mice. *Parasitology Research* vol. 115, n° 8, p. 3239-3244. [<https://doi.org/10.1007/s00436-016-5087-1>]
- DESMETTRE, T. (2020) Toxoplasmose et modifications du comportement humain. *Journal Français d'Ophtalmologie* vol. 43, n° 5, p. 433-438. [<https://doi.org/10.1016/j.jfo.2019.08.028>]
- DICKSON, I. (2019) Stability and individuality of adult microbiota. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00012-4>]
- DIVOUX, E., SZAJNER, S., MOAL, G.L., *et al.* (2006) Mise au point sur le traitement de la cryptosporidiose : intérêt du nitazoxanide. *Journal de Pharmacie Clinique* vol. 25, n° 4, p. 197-205. [<https://doi.org/10.1684/jpc.2006.0022>]
- DONG, S., YANG, Ya, WANG, Y., *et al.* (2020) Prevalence of *Cryptosporidium* Infection in the Global Population : A Systematic Review and Meta-analysis. *Acta Parasitologica* vol. 65, n° 4, p. 882-889. [<https://doi.org/10.2478/s11686-020-00230-1>]
- DOUGLAS, G.M.,*et al.* (2020) PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. *Nature Biotechnology* vol. 38, n° 6, p. 685-688. [<https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>]
- DU, W., WANG, X., HU, M., *et al.* (2023) Modulating gastrointestinal microbiota to alleviate diarrhea in calves. *Frontiers in Microbiology* vol. 14, p. 1181545. [<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1181545>]
- EHRlich, S.-D. (2018) METAHIT, microbiome de l'intestin humain. In *CEA/Institut de biologie François Jacob*. [<https://www.cea.fr/drf/francoisjacob/Pages/Departements/Genoscope/Les-projets-de-Genoscope/METAHIT.aspx>] (consulté le 21/06/2023).
- ENDERS, G. (2014) *Le Charme discret de l'intestin : Tout sur un organe mal aimé*. Arles, Actes Sud.
- FAN, P., BIAN, B., TENG, L., *et al.* (2020) Host genetic effects upon the early gut microbiota in a bovine model with graduated spectrum of genetic variation. *The ISME Journal* vol. 14, n° 1, p. 302-317. [<https://doi.org/10.1038/s41396-019-0529-2>]
- FARRELL, A. (2019) The importance of feeding your microbiota. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00015-1>]
- FAYER, R., ELLIS, W. (1993) Paromomycin is effective as prophylaxis for cryptosporidiosis in dairy calves. *The Journal of Parasitology* vol. 79, n° 5, p. 771-774.
- FEDERATION FRANCAISE DE CARDIOLOGIE (2016), Zoom sur le syndrome métabolique. [<https://www.fedecardio.org/je-m-informe/zoom-sur-le-syndrome-metabolique/>] (consulté le 19/06/2023).
- FEHERVARI, Z. (2019) Mechanisms of colonization resistance. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00018-y>]

- FOSTER, J.C., GLASS, M.D., COURTNEY, P.D., *et al.* (2003) Effect of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. *Food Microbiology* vol. 20, n° 3, p. 351-357. [[https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00120-X](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00120-X)]
- GABER, M., GALAL, L.A.A., FARRAG, H.M.M., *et al.* (2022) The Effects of Commercially Available *Syzygium aromaticum*, *Anethum graveolens*, *Lactobacillus acidophilus* LB, and Zinc as Alternatives Therapy in Experimental Mice Challenged with *Cryptosporidium parvum*. *Infection and Drug Resistance* vol. 15, p. 171-182. [<https://doi.org/10.2147/IDR.S345789>]
- GAILLARD-MARTINI, B. (2020) Prévenir et guérir la Cryptosporidiose. *In INRAE Institutionnel*. [<https://www.inrae.fr/actualites/prevenir-guerir-cryptosporidiose>] (consulté le 07/09/2022).
- GÄNZLE, M.G. (2011) Lactose and Oligosaccharides | Lactose : Galacto-Oligosaccharides. *In* Fuquay, J.W. (Éd.), *Encyclopedia of Dairy Sciences. 2nd Edition*. Amsterdam, Elsevier, p. 209-216. [<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00276-4>]
- GAUGUIER, D. (2021) Microbiote intestinal (flore intestinale) Inserm, La science pour la santé. *In Inserm*. [<https://www.inserm.fr/dossier/microbiote-intestinal-flore-intestinale/>] (consulté le 19/06/2023).
- GLASS, M.D., COURTNEY, P.D., LEJEUNE, J.T., *et al.* (2004) Effects of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus reuteri* cell-free supernatants on *Cryptosporidium* viability and infectivity in vitro. *Food Microbiology* vol. 21, n° 4, p. 423-429. [<https://doi.org/10.1016/j.fm.2003.11.001>]
- GLIBOWSKI, P., SKRZYPCZAK, K. (2017) Chapter 6 - Prebiotic and Synbiotic Foods. *In* Holban, A.M., Grumezescu, A.M. (Éd.), *Microbial Production of Food Ingredients and Additives, Handbook of Food Bioengineering*. London, Academic Press, p. 155-88. [<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811520-6.00006-4>]
- GROSJEAN, P. (2020) 8.2 Indices de biodiversité | Science des données biologiques 2. [<https://louernos-nature.fr/indices-de-diversite-ecologie-ecosystemes/>] (consulté le 22/06/2023).
- GUAN, Z., FENG, Q. (2022) Chitosan and Chitooligosaccharide : The Promising Non-Plant-Derived Prebiotics with Multiple Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 23, n° 12, p. 6761. [<https://doi.org/10.3390/ijms23126761>]
- GUITARD, J., MENOTTI, J., DESVEAUX, A., *et al.* (2006) Experimental study of the effects of probiotics on *Cryptosporidium parvum* infection in neonatal rats. *Parasitology Research* vol. 99, n° 5, p. 522-527. [<https://doi.org/10.1007/s00436-006-0181-4>]
- GUYOT, K., SARFATI, C., DEROUIN, F. (2012) Actualités sur l'épidémiologie et le diagnostic de la cryptosporidiose. *Feuillets de Biologie*. [<https://anofel.net/images/reseaucrypto/cryptosporidiose%20fdb.pdf>] (consulté le 01/10/2023).
- HANAGE, W.P. (2014) Microbiology : Microbiome science needs a healthy dose of scepticism. *Nature* vol. 512, n° 7514, p. 247-248. [<https://doi.org/10.1038/512247a>]
- HARP, J.A. (2003) *Cryptosporidium* and host resistance : historical perspective and some novel approaches. *Animal Health Research Reviews* vol. 4, n° 1, p. 53-62. [<https://doi.org/10.1079/AHRR200352>]
- HARP, J.A., CHEN, W., HARMSSEN, A.G. (1992) Resistance of severe combined immunodeficient mice to infection with *Cryptosporidium parvum* : the importance of intestinal microflora.

- Infection and Immunity* vol. 60, n° 9, p. 3509-3512. [<https://doi.org/10.1128/iai.60.9.3509-3512.1992>].
- HARP, J.A., GOFF, J.P. (1998) Strategies for the control of *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *Journal of Dairy Science* vol. 81, n° 1, p. 289-294. [[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75578-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75578-X)]
- HARP, J.A., WOODMANSEE, D.B., MOON, H.W. (1990) Resistance of calves to *Cryptosporidium parvum* : effects of age and previous exposure. *Infection and Immunity* vol. 58, n° 7, p. 2237-2240. [<https://doi.org/10.1128/iai.58.7.2237-2240.1990>]
- HERY ARNAUD, G. (2018) Le microbiote intestinal, comment l'explorer-t'on? [<https://www.gftf.fr/uploaded/exploration-du-microbiote-b-hery.pdf>] (consulté le 06/10/23).
- HOFER, U. (2019) Microbiome analyses in large human populations. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00020-4>]
- ICHIKAWA-SEKI, M., MOTOOKA, D., KINAMI, A., *et al.* (2019) Specific increase of *Fusobacterium* in the faecal microbiota of neonatal calves infected with *Cryptosporidium parvum*. *Scientific Reports* vol. 9, n° 12517. [<https://doi.org/10.1038/s41598-019-48969-6>]
- IGNACIO, A., TERRA, F.F., WATANABE, I.K.M., *et al.* (2019) Chapter 13 - Role of the Microbiome in Intestinal Barrier Function and Immune Defense. In Faintuch, J., Faintuch, S. (Éd.), *Microbiome and Metabolome in Diagnosis, Therapy, and Other Strategic Applications*. London, Academic Press, p. 127-138. [<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815249-2.00013-0>]
- ISLAM, J., TANIMIZU, M., SHIMIZU, Y., *et al.* (2022) Development of a rational framework for the therapeutic efficacy of fecal microbiota transplantation for calf diarrhea treatment. *Microbiome* vol. 10, n° 31. [<https://doi.org/10.1186/s40168-021-01217-4>]
- JAGATIA, A. (2019) The future of research on human-associated microbiota. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00074-4>]
- KARPE, A.V., HUTTON, M.L., MILETO, S.J., *et al.* (2021) Cryptosporidiosis Modulates the Gut Microbiome and Metabolism in a Murine Infection Model. *Metabolites* vol. 11, n° 6, p. 380. [<https://doi.org/10.3390/metabo11060380>]
- KEELAGHAN, A.P., CHARANIA, R., MEAD, J.R. (2022) The Effect of Short-Chain Fatty Acids on Growth of *Cryptosporidium parvum* In Vitro. *Microorganisms* vol. 10, n° 9, p. 1822. [<https://doi.org/10.3390/microorganisms10091822>]
- KHALIFA, E. (2016) Probiotics as a Promising Treatment of Experimental Cryptosporidiosis in an Immuno suppressed Mouse Model. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* vol. 5, n°3, p. 97-106 [<http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.503.014>]
- KUMAR, C.G., SRIPADA, S., POORNACHANDRA, Y. (2018) Chapter 14 - Status and Future Prospects of Fructooligosaccharides as Nutraceuticals. In Grumezescu, A.M., Holban, A.M. (Éd.), *Role of Materials Science in Food Bioengineering, Handbook of Food Bioengineering*. London, Academic Press, p. 451-503. [<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811448-3.00014-0>]
- LACROIX-LAMANDÉ, S., MÉNARD, S., BAILLOU, A., *et al.* (2019). Impact of early-life exposure to *Cryptosporidium parvum* infection on intestinal homeostasis at adulthood. *Vllth*

International Giardia and Cryptosporidium Conference, 23-26 juin 2019, Université de Rouen. [<https://hal.inrae.fr/hal-02736602>] (consulté le 14/09/2022).

- LALLEMAND ANIMAL NUTRITION (2021) Microbiote ou microbiome?. [<https://www.lallemandanimalnutrition.com/fr/france/ressources/microbiote-ou-microbiome/>] (consulté le 15/06/2023).
- LANTIER, L., DROUET, F., GUESDON, W., *et al.* (2014) Poly(I :C)-Induced Protection of Neonatal Mice Against Intestinal *Cryptosporidium parvum* Infection Requires an Additional TLR5 Signal Provided by the Gut Flora. *The Journal of Infectious Diseases* vol. 209, n° 3, p. 457-467. [<https://doi.org/10.1093/infdis/jit432>]
- LEA, T. (2015) Caco-2 Cell Line. In Verhoeckx, K., Cotter, P., López-Expósito, I., *et al.* (Éd.), *The Impact of Food Bioactives on Health : In Vitro and Ex Vivo Models*. Cham, Springer International Publishing, p. 103-111. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-16104-4_10]
- LEMIEUX, M.W., SONZOGNI-DESAUTELS, K., NDAO, M. (2017) Lessons Learned from Protective Immune Responses to Optimize Vaccines against Cryptosporidiosis. *Pathogens* vol. 7, n° 1, p. E2. [<https://doi.org/10.3390/pathogens7010002>]
- LOZUPONE, C., LLADSER, M.E., KNIGHTS, D., *et al.* (2011) UniFrac : an effective distance metric for microbial community comparison. *The ISME Journal* vol. 5, n° 2, p. 169-172. [<https://doi.org/10.1038/ismej.2010.133>]
- MAMMERI, M., CHEVILLOT, A., THOMAS, M., *et al.* (2019) *Cryptosporidium parvum*-Infected Neonatal Mice Show Gut Microbiota Remodelling Using High-Throughput Sequencing Analysis : Preliminary Results. *Acta Parasitologica* vol. 64, n° 2, p. 268-275. [<https://doi.org/10.2478/s11686-019-00044-w>]
- MAMMERI, M., OBREGÓN, D.A., CHEVILLOT, A., *et al.* (2020) *Cryptosporidium parvum* Infection Depletes Butyrate Producer Bacteria in Goat Kid Microbiome. *Frontiers in Microbiology* vol. 11, p. 2444. [<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.548737>]
- MANTIS, N.J., ROL, N., CORTHÉSY, B. (2011) Secretory IgA's complex roles in immunity and mucosal homeostasis in the gut. *Mucosal Immunology* vol. 4, n° 6, p. 603-611. [<https://doi.org/10.1038/mi.2011.41>]
- MATSUMOTO, M., KUNISAWA, A., HATTORI, T., *et al.* (2018) Free D-amino acids produced by commensal bacteria in the colonic lumen. *Scientific Reports* vol. 8, n°17915. [<https://doi.org/10.1038/s41598-018-36244-z>]
- MCKENNEY, E.A., GREENE, L.K., DREA, C.M., *et al.* (2017) Down for the count : *Cryptosporidium* infection depletes the gut microbiome in Coquerel's sifakas. *Microbial Ecology in Health and Disease* vol. 28, n° 1335165. [<https://doi.org/10.1080/16512235.2017.1335165>]
- MENG, J., ZHANG, Q.-X., LU, R.-R. (2017) Surface layer protein from *Lactobacillus acidophilus* NCFM inhibit intestinal pathogen-induced apoptosis in HT-29 cells. *International Journal of Biological Macromolecules* vol. 96, p. 766-774. [<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.085>]
- MITMESSER, S., COMBS, M. (2017) Chapter 23 - Prebiotics : Inulin and Other Oligosaccharides. In Floch, M.H., Ringel, Y., Allan Walker, W. (Éd.), *The Microbiota in Gastrointestinal*

Pathophysiology, implications for Human Health, Prebiotics, Probiotics, and Dysbiosis. Amsterdam, Elsevier, p. 201-208. [<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804024-9.00023-9>]

- NACIRI, M. (2007) La cryptosporidiose chez les ruminants non sevrés : le pouvoir pathogène de *Cryptosporidium parvum*. [<https://neva.fr/course/view.php?id=158&topic=3>] (consulté le 30/03/2023).
- NATURE MILESTONE (2019) Microbially-produced short-chain fatty acids induce regulatory T cell production. *Nature Research*. [<https://www.nature.com/articles/d42859-019-00057-5>] (consulté le 15/06/23)
- NIHEI, N., OKAMOTO, H., FURUNE, T., *et al.* (2018) Dietary α -cyclodextrin modifies gut microbiota and reduces fat accumulation in high-fat-diet-fed obese mice. *BioFactors*. [<https://doi.org/10.1002/biof.1429>]
- O'HARA, S.P., CHEN, X.-M. (2011) The cell biology of *Cryptosporidium* infection. *Microbes and Infection* vol. 13, n° 8-9, p. 721-730. [<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2011.03.008>]
- OLIVEIRA, B.C.M., WIDMER, G. (2018) Probiotic Product Enhances Susceptibility of Mice to Cryptosporidiosis. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 84, n° 21. [<https://doi.org/10.1128/AEM.01408-18>]
- PABST, O., CEROVIC, V., HORNEF, M. (2016) Secretory IgA in the Coordination of Establishment and Maintenance of the Microbiota. *Trends in Immunology* vol. 37, n° 5, p. 287-296. [<https://doi.org/10.1016/j.it.2016.03.002>]
- PARIENTE, N. (2019) A field is born. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00006-2>]
- PETRY, F. (2004) Structural Analysis of *Cryptosporidium parvum*. *Microscopy and Microanalysis* vol. 10, n° 5, p. 586-601. [<https://doi.org/10.1017/S1431927604040929>]
- PICKERD, N., TUTHILL, D. (2004) Resolution of cryptosporidiosis with probiotic treatment. *Postgraduate Medical Journal* vol. 80, n° 940, p. 112-113. [<https://doi.org/10.1136/pmj.2003.014175>]
- POKHAREL, P., GHIMIRE, R., LAMICHHANE, P. (2021) Efficacy and Safety of Paromomycin for Visceral Leishmaniasis : A Systematic Review. *Journal of Tropical Medicine* vol. 2021. [<https://doi.org/10.1155/2021/8629039>]
- PRYDE, S.E., DUNCAN, S.H., HOLD, G.L., *et al.* (2002) The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiology Letters* vol. 217, n° 2, p. 133-139. [<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11467.x>]
- RAETZ, M., HWANG, S.-H., WILHELM, C.L., *et al.* (2013) Parasite-induced TH1 cells and intestinal dysbiosis cooperate in IFN- γ -dependent elimination of Paneth cells. *Nature Immunology* vol. 14, n° 2, p. 136-142. [<https://doi.org/10.1038/ni.2508>]
- RAHMAN, S.U., GONG, H., MI, R., *et al.* (2021) Chitosan Protects Immunosuppressed Mice Against *Cryptosporidium parvum* Infection Through TLR4/STAT1 Signaling Pathways and Gut Microbiota Modulation. *Frontiers in Immunology* vol. 12. [<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.784683>]

- RAMIREZ, N.E., WARD, L.A., SREEVATSAN, S. (2004) A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes and Infection* vol. 6, n° 8, p. 773-785. [https://doi.org/10.1016/j.micinf.2004.02.021]
- RAS, R., HUYNH, K., DESOKY, E., *et al.* (2015) Perturbation of the intestinal microbiota of mice infected with *Cryptosporidium parvum*. *International Journal for Parasitology* vol. 45, n° 8, p. 567-573. [https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.03.005]
- ROTKIEWICZ, I. (2001) Effet of *Lactobacillus acidophilus* and *bifidobacterium* sp on the course of cryptosporidium parvum invasion in new born piglets. *Bulletin of the veterinary institute in Pulawy* vol. 45, p.187-196. [https://www.researchgate.net/publication/286793272_Effect_of_Lactobacillus_acidophilus_and_Bifidobacterium_sp_on_the_course_of_Cryptosporidium_parvum_invasion_in_new-born_piglets] (consulté le 13/08/2023)
- RYAN, U.M., FENG, Y., FAYER, R., *et al.* (2021) Taxonomy and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* and *Giardia* – a 50 year perspective (1971–2021). *International Journal for Parasitology, IJP 50th Anniversary Special Issue* vol. 51, n° 13, p. 1099-1119. [https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.08.007]
- SADANAND, S. (2019) Beyond bacteria : studies of other host-associated microorganisms. *Nature Research*. [https://doi.org/10.1038/d42859-019-00013-3]
- SAKO, T., TANAKA, R. (2011) Prebiotics -Types. In Fuquay, J.W. (Éd.), *Encyclopedia of Dairy Sciences 2nd Edition*. London, Academic Press, p. 354-364. [https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00426-X]
- SCHAEFER, L., AUCHTUNG, T.A., HERMANS, K.E., *et al.* (2010) The antimicrobial compound reuterin (3-hydroxypropionaldehyde) induces oxidative stress via interaction with thiol groups. *Microbiology* vol. 156, n° 6, p. 1589-1599. [https://doi.org/10.1099/mic.0.035642-0]
- SHANAHAN, F. (2012) A Commentary on the Safety of Probiotics. *Gastroenterology Clinics of North America, Clinical Applications of Probiotics in Gastroenterology : Questions and Answers* vol. 41, n° 4, p. 869-876. [https://doi.org/10.1016/j.gtc.2012.08.006]
- STONE, L. (2019) Faecal microbiota transplantation for *Clostridioides difficile* infection. *Nature Research*. [https://doi.org/10.1038/d42859-019-00008-0]
- TANG, L. (2019) Sequence-based identification of human-associated microbiota. *Nature Research*. [https://doi.org/10.1038/d42859-019-00011-5]
- TAO, Y., DRABIK, K.A., WAYPA, T.S., *et al.* (2006) Soluble factors from *Lactobacillus GG* activate MAPKs and induce cytoprotective heat shock proteins in intestinal epithelial cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* vol. 290, n° 4, p. C1018-C1030. [https://doi.org/10.1152/ajpcell.00131.2005]
- TERRÉ, M., CALVO, M.A., ADELANTADO, C., *et al.* (2007) Effects of mannan oligosaccharides on performance and microorganism fecal counts of calves following an enhanced-growth feeding program. *Animal Feed Science and Technology* vol. 137, n° 1, p. 115-125. [https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.11.009]
- THOMSON, S., HAMILTON, C.A., HOPE, J.C., *et al.* (2017) Bovine cryptosporidiosis : impact, host-parasite interaction and control strategies. *Veterinary Research* vol. 48, n° 42. [https://doi.org/10.1186/s13567-017-0447-0]

- TOSI, M.F. (2009) Chapter 2 - Normal and impaired immunologic responses to infection. *In* Feigin, R.D., Cherry, J.D., Demmler-Harrison, G.J., et al. (Éd.), *Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases 6th Edition*. Philadelphia, W.B. Saunders, p. 21-65. [<https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-4044-6.50007-8>]
- TUNGLAND, B. (2018a) Chapter 4 - Role of Gut Microbiota in Immune Homeostasis. *In* Tunland, B. (Éd.), *Human Microbiota in Health and Disease*. London, Academic Press, p. 135-154. [<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814649-1.00004-1>]
- TUNGLAND, B. (2018b) Chapter 7 - Overview of Prebiotics : Membership, Physiological Effects and their Health Attributes. *In* Tunland, B. (Éd.), *Human Microbiota in Health and Disease*. London, Academic Press, p. 289-348. [<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814649-1.00007-7>]
- TZIPORI, S., WIDMER, G. (2008) A hundred-year retrospective on cryptosporidiosis. *Trends in Parasitology* vol. 24, n° 4, p. 184-189. [<https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.01.002>]
- UENO, N., FUJIYA, M., SEGAWA, S., et al. (2011) Heat-killed body of lactobacillus brevis SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier function. *Inflammatory Bowel Diseases* vol. 17, n° 11, p. 2235-2250. [<https://doi.org/10.1002/ibd.21597>]
- VANDUSSEN, K.L., FUNKHOUSER-JONES, L.J., AKEY, M.E., et al. (2020) Neonatal Mouse Gut Metabolites Influence Cryptosporidium parvum Infection in Intestinal Epithelial Cells. *mBio* vol. 11, n° 6. [<https://doi.org/10.1128/mBio.02582-20>]
- VÉLEZ, J., LANGE, M.K., ZIEGER, P., et al. (2019) Long-term use of yeast fermentation products in comparison to halofuginone for the control of cryptosporidiosis in neonatal calves. *Veterinary Parasitology* vol. 269, p. 57-64. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.04.008>]
- WATARAI, S., TANA, KOIWA, M. (2008) Feeding Activated Charcoal from Bark Containing Wood Vinegar Liquid (Nekka-Rich) Is Effective as Treatment for Cryptosporidiosis in Calves. *Journal of Dairy Science* vol. 91, n° 4, p. 1458-1463. [<https://doi.org/10.3168/jds.2007-0406>]
- WEI, B., WANG, L., SU, L., et al. (2023) Structural characterization of slow digestion dextrin synthesized by a combination of α -glucosidase and cyclodextrin glucosyltransferase and its prebiotic potential on the gut microbiota in vitro. *Food Chemistry* vol. 426, p. 136554. [<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136554>]
- WHITE, E. (2019) Impact of diet–microbiota interactions on human metabolism. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00017-z>]
- WHO Model List of Essential Medicines - 23rd list, 2023. [<https://www.who.int/publications-detail-redirect/WHO-MHP-HPS-EML-2023.02>] (consulté le 02/10/2023).
- WITOLA, W. H. (2021) Cryptosporidiosis in Animals - Digestive System. *In* *MSD Veterinary Manual*. [<https://www.msdsvetmanual.com/digestive-system/cryptosporidiosis/cryptosporidiosis-in-animals>] (consulté le 02/10/2023).
- XING, H., MAKARENKOV, V. (2019) Quelques mesures pertinentes pour calculer la distance entre les communautés d'espèces dans des réseaux de similarité de séquences. [http://www.info2.uqam.ca/~makarenkov_v/BIF7002/Presentation_Xing_2019.pdf] (consulté le 21/06/2023).

- YAP, C.X., HENDERS, A.K., ALVARES, G.A., *et al.* (2021) Autism-related dietary preferences mediate autism-gut microbiome associations. *Cell* vol. 184, n° 24, p. 5916- 5931.e17. [<https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.10.015>]
- YORK, A. (2019) Microbiota succession in early life. *Nature Research*. [<https://doi.org/10.1038/d42859-019-00010-6>]
- ZAHEDI, A., RYAN, U. (2020) Cryptosporidium – An update with an emphasis on foodborne and waterborne transmission. *Research in Veterinary Science* vol. 132, p. 500-512. [<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.08.002>]
- ZENED, A., FORANO, E., DELBES, C., *et al.* (2021) Les microbiotes des ruminants : état des lieux de la recherche et impacts des microbiotes sur les performances et la santé des animaux. *INRAE Productions Animales* p. 249-260. [<https://doi.org/10.20870/productions-animales.2020.33.4.4597>]
- ZHANG, Z., CUI, B., ZHANG, F. (2022) Washed microbiota transplantation cured a patient with immune-mediated enteropathy induced by cryptosporidium infection. *Medicine in Microecology* vol. 14, p. 100060. [<https://doi.org/10.1016/j.medmic.2022.100060>]
- ZHU, G., YIN, J., CUNY, G.D. (2021) Current status and challenges in drug discovery against the globally important zoonotic cryptosporidiosis. *Animal Diseases* vol. 1, n°3. [<https://doi.org/10.1186/s44149-021-00002-y>]
-

Annexes

Statut des Sifakas	Phylum	Ordre	Famille	Genre
Sains : non infectés et pré infection	Actinobacteria	Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium
	Bacteroidetes	Bacteroidales	Rikenellaceae	Inconnue Autre
	Firmicutes	Clostridiales	Inconnue	Inconnue
			Moggibacteriaceae	Anaerovorax
			Gracilibacteriaceae	Inconnue
			Lachnospiraceae	Butyrivibrio Autre
	Proteobacteria	Aeromonadales	Succinivibrionaceae	Succinivibrio
Verrucomicrobia	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Akkermansia	
Infection	Firmicutes	Lactobacillales	Enterococcaceae	Enterococcus
		Turicibacterales	Turicibacteraceae	Turibacter
		Clostridiales	Peptococcaceae	Inconnu
			Autre	Autre

	Proteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfovibrionaceae	<u>Desulfovibrio</u>
		Enterobacterales	<u>Enterobacteriaceae</u>	Inconnu
Rétablissement	Bacteroidetes	Bacteroidales	Inconnue	Inconnue
	Firmicutes	Clostridiales	Clostridiaceae	Inconnue
			Lachnospiraceae	Inconnue
		Erysipelotrichales	Erysipelotrichaceae	Corpobacillus

Tableau 3 : Modifications des populations bactériennes au sein du microbiote fécal au cours de l'infection à *C. parvum* chez les lémurins Sifakas de Coquerel. D'après (McKenney *et al.*, 2017)

- Enterococcus, Enterobacteriaceae, Desulfovibrio : genres bactériens connus pour coloniser l'Homme lors de maladies entériques
- Biomarqueurs significativement enrichis au cours de l'infection : Enterococcus, Turibacter, Peptococcaceae, Desulfovibrio, Enterobacteriaceae

Statut des souris nouveau-nés	Phylum dominants	Genres dominants	Espèces dominantes
Non infectées	Firmicutes	Lactobacillus	<i>Lactobacillus murinus</i> <i>Lactobacillus sp. OS10</i>
		Streptococcus	/
	Actinobacter	/	<i>Propionibacterium sp. S342</i> <i>Corynebacterium mastitidis</i>
	Bacteroidetes	/	<i>Alistipes massiliensis</i>
Infectées	Firmicutes	Lactobacillus	/
		Streptococcus	/

	Bacteroidetes	Clostridium	<i>Clostridium sp.</i> <i>Culture 57</i>
		Bacteroides	<i>Bacteroides acidifiens</i>
		Coprobacter	<i>Coprobacter secundus</i>

Tableau 4 : Modifications des populations bactériennes au sein du microbiote intestinal au cours de l'infection à *C. parvum* chez des souris nouveau-nées. D'après (Mammeri *et al.*, 2019)

Statut des souris adultes immunodéprimées	OTU dont l'abondance est significativement augmentés
Non infectées	-3 OTU de porphyromonadacea -1 OTU de bacteroidetes non classifié
Infectées	-2 OTU de bacteroidetes non classifiés -Prevotellaceae -Porphyromonadacea

Tableau 5 : Modifications des populations bactériennes au sein du microbiote fécal au cours de l'infection à *C. parvum* chez des souris adultes. D'après (Ras *et. al*, 2015)

	Taxa abondants avant challenge	Taxa post challenge, au cours de l'infection
Individus ne développant pas de cryptosporidiose clinique	<p><u>Phyla</u> : Firmicutes, Proteobacteria</p> <p><u>Espèces</u> : <i>Escherichia coli</i> CFT073, <i>Bacillus</i> spp., Clostridium spp.</p>	<p>Augmentation de l'abondance relative de <i>Acidaminococcus</i> spp., <i>Bifidobacterium longum</i>, <i>Lactobacillus plantarum</i></p> <p>Diminution de l'abondance de <i>Citrobacter gillenii</i>, <i>Escherichia coli</i> CFT073, <i>Raoultella</i> spp., des bactéries productrices d'indole par rapport à avant challenge</p>
Individus développant une cryptosporidiose clinique	<p><u>Phyla</u> : Firmicutes, Bacteroidetes, Verrucomicrobia</p> <p><u>Espèces</u> : <i>Bacteroides fragilis</i>, <i>Bacterodites pyogenes</i>, <i>Prevotella bryantii</i>, Akkermansia muciniphila</p>	Diminution de l'abondance relative de Clostridium spp.

Tableau 6 : Modification des populations bactériennes au sein du microbiote fécal au cours de l'infection à *C. parvum* chez l'Homme. D'après (Chappell et al., 2016)

- *Escherichia coli* CFT073, *Bacillus* spp., *Bacteroides fragilis*, *Bacterodites pyogenes*, *Prevotella bryantii*, bactéries productrices d'indole.
- Seules *E.coli*, et *Bacillus* spp. ont été associées à des concentrations fécales en indole augmentées.

RELATIONS ENTRE CRYPTOSPORIDIOSE ET MICROBIOTE INTESTINAL : PISTES DE RECHERCHE POUR DES THÉRAPIES ALTERNATIVES

AUTEUR : Séléna STEINKAMPF--PELLECUER

RÉSUMÉ :

La cryptosporidiose est une maladie zoonotique à l'origine de diarrhées chez l'Homme et chez l'animal notamment les jeunes ruminants non sevrés en élevage. Elle est causée par des protozoaires à apicomplexe intracellulaires mais extracytoplasmiques dépendants de la cellule parasitée pour leur métabolisme, isolés des voies de délivrance de molécules actives et de la réponse immunitaire de l'hôte, et hautement résistants dans l'environnement. Il n'existe pas actuellement de traitements complètement efficaces disponibles en médecine humaine et en médecine vétérinaire. En étant impliquée dans la prévention et le traitement des diarrhées néonatales à *Cryptosporidium* chez les jeunes ruminants, la médecine vétérinaire joue un rôle central dans la limitation de la contamination environnementale par les oocystes parasites.

Ce travail bibliographique explore les relations plurielles qui s'établissent entre cryptosporidiose et microbiote. L'infection à *Cryptosporidium* se manifeste par une dysbiose intestinale transitoire. La sensibilité à l'infection liée à l'âge chez les jeunes ruminants semble pouvoir s'expliquer en partie par une immaturité immunitaire et microbiotique en lien avec un régime alimentaire encore peu diversifié.

Les souches bactériennes utilisées comme probiotiques sont à l'origine d'une réduction souvent significative de la durée et de l'intensité de l'excrétion fécale d'oocystes et des signes cliniques, et ce d'autant plus que leur administration est précoce. Cette efficacité est au moins similaire aux traitements conventionnels.

Une approche thérapeutique multimodale associant thérapies conventionnelles et modificateurs du microbiote intestinal, probiotique, prébiotique, moins probablement transplantation fécale, en association avec des pratiques d'élevage et des mesures d'hygiène strictes peuvent constituer une alternative pertinente dans la gestion des diarrhées néonatales à *Cryptosporidium* chez le jeune ruminant non sevré.

MOTS CLÉS :

CRYPTOSPORIDIOSE, *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM*, DIARRHÉE, ZOONOSE, ONE HEALTH, MICROBIOTE, PROBIOTIQUE, PRÉBIOTIQUE, TRANSPLANTATION FÉCALE, ACIDES GRAS

JURY :

Président : Pr Andrew PONTER

Directeur de thèse : Pr Karim ADJOU

Examinatrice : Dr Delphine LE ROUX

RELATIONSHIPS BETWEEN CRYPTOSPORIDIOSIS DISEASE AND INTESTINAL MICROBIOTE: RESEARCH TRACKS FOR ALTERNATIVE THERAPIES STRATEGIES

AUTHOR: Séléna STEINKAMPF--PELLECUER

SUMMARY:

Cryptosporidiosis is a zoonotic disease that causes diarrhoea in humans and animals, particularly young, unweaned ruminants. It is caused by intracellular but extracytoplasmic complexa protozoa that depend on the parasitized cell for their metabolism, are isolated from active molecule delivery pathways and the host immune response, and are highly resistant in the environment. There are currently no completely effective treatments available in human or veterinary medicine. By being involved in the prevention and treatment of neonatal *Cryptosporidium* diarrhoea in young ruminants, veterinary medicine plays a central role in limiting environmental contamination by parasitic oocysts.

This bibliographic work explores the complex relationship between cryptosporidiosis and the intestinal microbiota. *Cryptosporidium* infection is causing a transient intestinal dysbiosis. Age-related susceptibility to infection in young ruminants seems to be partly explained by an immune and microbiotic immaturity, linked to a diet that is not yet sufficiently diversified.

The use of probiotic bacterial strains often leads to a significant reduction of the duration and intensity of faecal oocyst excretion and clinical signs, the earlier they are administered. This efficacy is at least similar to that of conventional treatments.

A multimodal therapeutic approach combining conventional therapies and modifiers of the intestinal microbiota, probiotics, prebiotics and, less likely faecal transplants, in association with strict husbandry practices and hygiene measures, may provide a relevant alternative in the management of *Cryptosporidium* neonatal diarrhoea in young, unweaned ruminants.

KEYWORDS:

CRYPTOSPORIDIOSIS, *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM*, DIARRHEA, ZONOSIS, ONE HEALTH, MICROBIOTE, PROBIOTIC, PREBIOTIC, FECAL TRANSPLANTATION, FAT ACIDS

JURY:

Chairperson: Pr Andrew PONTER

Thesis Director: Pr Karim ADJOU

Reviewer: Dr Delphine LE ROUX