

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de RELIZANE
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Sciences Biologiques



MEMOIRE
En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en :
Parasitologie.

Intitulé

**Interactions entre parasites intestinaux et biofilms
microbiens**

Présenté par :

BOUZID Rachida
OULBANI Souhaila
BENAFROUL Samira

Devant les membres de jury :

Président : Dr. BEKHEDDA Hadjer

Maître de conférences B (U. Relizane)

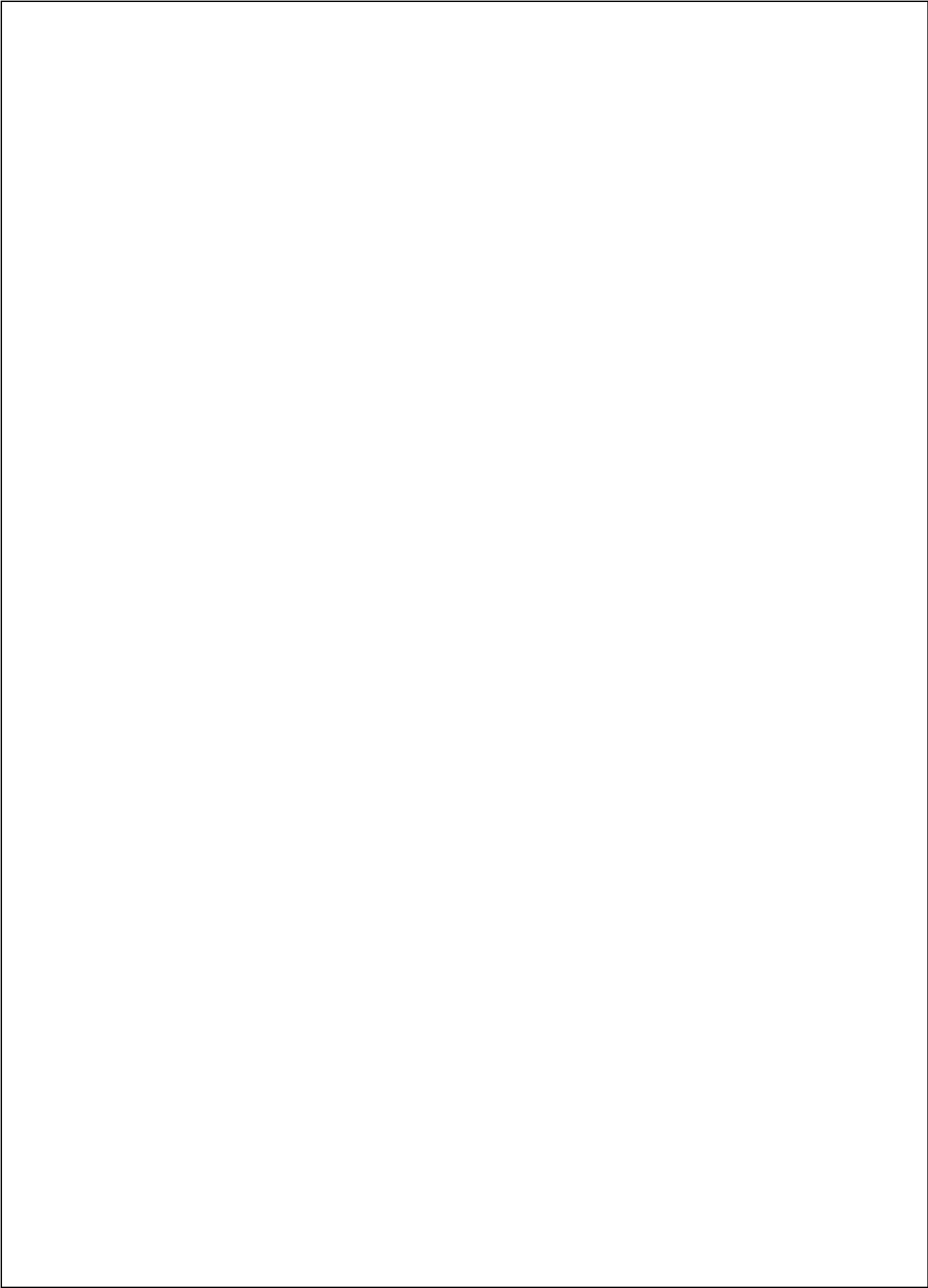
Encadrant : Dr. SEBAA Sarra

Maître de conférences B (U. Relizane)

Examineur : Dr. NABTI Ismahane

Maître de conférences B (U. Relizane)

Année universitaire : 2024/2025



Remerciements

Dieu Tout-Puissant a dit : « Si tu es reconnaissant, J'augmenterai certainement ta faveur. »

Nous exprimons notre profonde gratitude à Allah Tout-Puissant, qui nous a guidés, soutenus et permis de mener à bien ce travail.

Nos sincères remerciements vont à notre honorable encadrante, Dr. SEBAA Sarra, pour ses précieux conseils, sa patience et son accompagnement tout au long de ce projet. Son expertise et son soutien ont été d'une aide inestimable.

Nous tenons également à remercier les membres du jury de notre mémoire, Dr. BEKHEDDA Hadjer, Présidente et Dr. NABTI Ismahane, Examinatrice, pour leur temps, leurs critiques constructives et leurs suggestions qui ont enrichi notre recherche.

Nos remerciements s'adressent aussi à notre université, à ses enseignants et à tout le personnel administratif pour les moyens mis à notre disposition et l'environnement propice à notre formation.

Enfin, nous n'oublions pas tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire : nos familles, nos amis et nos collègues pour leur soutien moral et leurs encouragements.

Que Dieu récompense tous ceux qui nous ont aidés.



Dédicace :

Et leur dernière supplication sera : « Louange à **Dieu**, Seigneur des mondes. »

A mes chers parents, à mon père **BENAFROUL ABED**, A ma mère **RERIBLLAH FATMA** pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières
tout au long de mes études et leur soutien moral

A mes cher frère **MOHAMED, AHMED** et à mon cousin **AYOUB**, pour leur amour, leur
soutien et leur présence inestimable dans ma vie.

A mes chères sœurs **HANEN, SABRINA, NADJET** et à mon amie **Khadîdja**, pour leur
tendresse, leur complicité et leur soutien indéfectible tout au long de ce parcours et sans
oublier Mes petites-filles bien-aimées, **Bayane** et **Sophia**.

À toute ma famille, y compris mes cousines du côté de mon oncle maternel et de ma tante,
pour leur amour, leur soutien et leur belle énergie.

À celle qui a cru quand d'en doutait : merci à **moi**.

SAMIRA.



Dédicace :

À l'issue de ce modeste travail, je dédie :

En premier lieu,

À l'âme de ma grand-mère : **Mehdi Keltoume.**

À mes très chers parents : **Bouزيد Mohamed** et **Mohammed Badra.**

À mes très chères tantes : **Rachida, Naima, Manel, Soria** et à mes oncles **Hamza** et **Abdelaziz et Belkenadil Mohammed** (le mari de ma tante rachida).

À mes très chers frères et sœurs : **Ahmed, Douaa** et **Abdellah.**

À mes chers cousins : **Ahmed ; Adda ; Adam ; Mariem.**

À mes adorables binômes **Samira** et **Souhila**, avec qui j'ai passé de belles années d'études et qui ont enduré avec moi toutes les difficultés de ce travail, ainsi qu'à toutes leurs familles.

À toutes mes chères amies : **Fatima** et **Hadjer.**

À ma promotion et à tous les étudiants en parasitologie.

And last and not least i wannathank **ME.**

RACHIDA.



Dédicace :

À ceux qui, après **Dieu**, ont contribué à ma réussite.

À mon cher père **Oulbani Mohammed** et à ma tendre mère **Mammeri Khadidja**,

Sans vous, je ne serais pas ce que je suis aujourd'hui...

Je vous dédi ce travail avec fierté et amour.

À mes chers frères **Kamal et Hamza**, et à mes chères sœurs **Fatima, Hanan, Siham**, Merci
pour vos cœurs chaleureux et votre soutien inconditionnel.

Sans oublier les petits-enfants de la famille **ibtihal et Raouf** que bien aimé.

À mes merveilleux amis, **Hassiba et Nassima**, Merci pour votre honnêteté, votre rire et
chaque beau moment que nous avons partagé.

Et enfin, à moi-même...

Cette dédicace est pour toi, car tu as résisté, persévéré et réussi.

SOUHILA.

Résumé

Les parasites intestinaux, notamment *Giardia intestinalis* et *Cryptosporidium spp*, constituent un enjeu majeur de santé publique dans les régions à faible hygiène. Ces pathogènes perturbent l'homéostasie intestinale en altérant le microbiote et les biofilms microbiens, structures clés de résistance et de symbiose : *Giardia* dégrade la matrice extracellulaire des biofilms via ses protéases, libérant des bactéries pro-inflammatoires et induisant une dysbiose. Inversement, le microbiote module la virulence parasitaire, comme en témoigne l'effet inhibiteur des *Lactobacillus* sur *Toxoplasma gondii*. Ces interactions bidirectionnelles exacerbent l'inflammation, la perméabilité intestinale et les désordres immunitaires, ouvrant la voie à des stratégies thérapeutiques ciblées (inhibiteurs de protéases, probiotiques).

Mots clés : Parasites intestinaux, biofilms, microbiote, dysbiose, inflammation, *Giardia*, *cryptospridium*.

الملخص :

والطفيليات (*Giardia intestinalis*) تشكّل الطفيليات المعوية - وعلى رأسها السوطيات المعوية تحديًا جسيمًا للصحة العامة في المناطق المحدودة الموارد الصحية. تعمل هذه العوامل - (*Cryptosporidium*) الخفية الممرضة على تقويض توازن الأمعاء عبر تفكيك الأغشية الحيوية الميكروبية (تلك الأبنية الحصينة الضامنة للتكافل والمناعة) وإخلال تنظيم النبيت الجرثومي. فبمفرزاتها البروتيازية، تفكك السوطيات المعوية بالمكونات خارج الخلوية لتلك الأغشية، مما يُحرّر بكتيريا التهابية (كالمثنيات الجراثيم والبكتيريات) ويُشعل فتيل الاختلال الميكروبي. وفي المقابل، يمارس النبيت الجرثومي تأثيرًا جوهريًا في كبح ضراوة الطفيليات، كما يتجلى في تثبيط العصيات اللبنية لنشاط المنصورة وهكذا تُعْذّي هذه التفاعلات المتبادلة حلقة مفرغة من الالتهاب المتصاعد وتهتك الحاجز المعوي. (*Toxoplasma*) الوالدة "واضطراب المناعة، مما يدفع نحو استراتيجيات علاجية ذكية كتنشيط البروتيازات ودعم البروبيوتيك

: الكلمات المفتاحية

الالتهاب ; اختلال التوازن البكتيري ;النبيت الجرثومي المعوي ;الأغشية الحيوية الميكروبية الطفيليات المعوية
العلاجات المستهدفة:الكريبتوسبورديوم ;الجيارديا ;المعوي

Abstract:

Intestinal parasites, notably *Giardia intestinalis* and *Cryptosporidium spp.*, constitute a major public health challenge in regions with poor hygiene. These pathogens disrupt gut homeostasis by altering the microbiota and microbial biofilms, key structures for resistance and symbiosis: *Giardia* degrades the extracellular matrix of biofilms via its proteases, liberating pro-inflammatory bacteria and inducing dysbiosis. Conversely, the microbiota modulates parasitic virulence, as evidenced by the inhibitory effect of *Lactobacillus* on *Toxoplasma gondii*. These bidirectional interactions exacerbate inflammation, intestinal permeability, and immune disorders, paving the way for targeted therapeutic strategies (protease inhibitors, probiotics).

Keywords: Intestinal parasites, biofilms, microbiota, dysbiosis, inflammation, *Giardia*, *Cryptosporidium*.

Remerciements	I
Dédicace :	II
Abstract :	V
Liste des figures :	X
Liste des tableaux:	X
Liste des abréviations :	X
Glossaires:	XII
Introduction :	1
I .SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE :	2
I. Généralité sur les parasites intestinaux :	3
I.1.Définition de parasite intestinal :	3
I.2.Classification des parasites intestinaux :	3
I.2.Protozoaires :	3
I.2.2.Helminthes :	3
I.3. <i>Giardia intestinalis</i> :	4
I.3.1.Définition de <i>Giardia intestinalis</i> :	5
I.3.2.Mode de transmission :	5
I.3.3.Cycle évolutif :	5
I.3.4.Les symptômes cliniques :	6
I.4. <i>Cryptosporidium spp</i> :	7
I.4.1.Définition :	7
I.4.2.Mode de transmission :	7
I.4.3.Cycle évolutif :	7
I.4.4.Les symptômes cliniques :	8
II.Microbiote intestinale et Biofilms :	9
II.1.Le microbiote intestinal :	9
II.1.1.Définition :	9
II.1.2.Composition de microbiote intestinal :	9
II.2.Définition des biofilms :	9
II.2.1.Role des biofilms :	10
II.2.2.Architecture du biofilm :	10

II.2.3.Composition et organisation du biofilm :.....	10
II.2.3.Formation des biofilms :.....	11

III. Interaction entre les parasites intestinaux et microbiote intestinale : 12

III.1.Impact des parasites sur le microbiote intestinal :.....	13
III.4.Impact du microbiote intestinal sur les parasites intestinaux :.....	14
III.4.1. Rôle du microbiome dans la facilitation des infections parasitaires :.....	15
III.4.2.Mécanismes de défense du microbiome contre les parasites :.....	15

II .MATERIEL ET METHODES: 17

1. Matériel :.....	18
1.1.Matériel biologique : <i>Giardia duodenalis</i> (Beatty, et al. , 2017) <i>Toxoplasma gondii</i> (Chen, et al. , 2024)	18
1.1.1.Impact de parasite sur microbiote intestinale :.....	18
1.1.2.Impact de microbiote intestinale sur parasite intestinale :.....	19
2. Méthodes :.....	20
2.1.Impact de parasite sur microbiote intestinale :.....	20
2.1.1Collecte et Traitement des Biopsies Coliques :.....	20
2.1.2. Culture de Biofilms Microbiens :.....	20
2.1.3. Exposition des Biofilms à <i>Giardia duodenalis</i> :.....	20
2.1.4. Analyses Structurales et Biochimiques des Biofilms :.....	21
2.1.5. Co-culture avec Cellules Épithéliales Caco-2 :.....	21
2.2. Impact de microbiote intestinale sur parasite intestinale :.....	21
2.2.2. Séquençage de l'ARN ribosomal 16S :.....	21
2.2.3. Transplantation de probiotiques (<i>Lactobacillus murinus</i> et <i>L. gasseri</i>) :.....	21
2.2.4. QPCR pour quantification de la charge parasitaire :.....	22
2.2.5. Cytométrie en flux :.....	22

III .Résultats: 23

I.Impact de parasite sur microbiote intestinale :.....	24
I.1.Modification de la composition microbienne intestinale par <i>Giardia duodenalis</i> :.....	24
I.2. Altération structurelle des biofilms par les protéases de <i>Giardia</i> :.....	24
II.Impact de microbiote intestinale sur parasite intestinale :.....	25
II.1.Déséquilibre Durable du Microbiote Intestinal chez les Souris WT :.....	25
II.2.Effondrement des <i>Lactobacillus</i> durant la Phase de Colonisation Intestinale :.....	26

Discussion et conclusion : 27

V.REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES : 30

Liste des figures :

Figure	Titre	Page
01	Cycle évolutif de <i>Giardia intestinalis</i>	6
02	Cycle évolutif de <i>Cryptosporidium spp</i>	8
03	Représentation schématisque des processus de formation, développement et mécanismes des biofilms dans l'intestin. Les biofilms bactériens se forment régulièrement sur la surface intestinale.	12
04	Vue d'ensemble de l'impact que les infections par des protozoaires et des helminthes peuvent avoir sur le microbiote intestinal.	14
05	Résumé des voies potentielles par lesquelles le microbiote intestinal peut influencer la fitness et l'infectivité des parasites.	15
06	Profil des communautés microbiennes fécales de souris axéniques colonisées par des biofilms microbiens humains	24
07	Impact de <i>Giardia</i> sur la structure de la matrice extracellulaire des biofilms	25
08	Abondance de <i>Lactobacillus Murins</i> et <i>Lactobacillus Gasseri</i>	25
09	Détection de la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte lors d'une infection à <i>Toxoplasma. Gondii</i> après transplantation de deux souches de <i>Lactobacillus</i> .	26

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Classification des parasites intestinaux	4
Tableau 2: Matériel et produits utiliser dans l'étude d'impact des parasites sur microbiote	18
Tableau 3: Matériel et produits utiliser dans l'étude d'impact de microbiote sur parasites	19

Liste des abréviations :

% :	Pour cent
°C :	Degré Celsius
µl :	Microlitre
AGCC	Acides Gras à Chaîne Courte
AhR :	Récepteur Aryl Hydrocarbone (ArylHydrocarbonReceptor)
AMC :	7-Amino-4-Méthylcoumarine
ANOVA :	Analyse de Variance (Analysis of Variance)
Bcl-2 :	Protéine B-celllymphoma 2
CBD :	Dispositif de Biofilm de Calgary (Calgary Biofilm Device)
CD45R :	Cluster de Différenciation 45R
CD8 ⁺ T :	Lymphocytes T Cytotoxiques (Cluster de Différenciation 8)
C-di-GMP :	Cyclique di-Guanosine Monophosphate
CST :	Cell SignalingTechnology
CXCL-8 :	Chimiokine (C-X-C Motif) Ligand 8



DESeq2 :	Méthode d'analyse Différentielle de l'expression Génique
DTT :	Dithiothréitol
ECVs :	Vésicules Extracellulaires (Extracellular Vesicles)
ELISA :	Dosage Immuno-Enzymatique (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
EPS :	Matrice Extracellulaire (ExtracellularPolymeric Substances)
FBS :	Sérum Fœtal Bovin (Fetal Bovine Serum)
GF:	Sans Germe (Germ-Free)
GFAP:	Protéine Gliale Fibrillaire Acide (Glial Fibrillary Acidic Protein)
GABA :	Acide Gamma-Aminobutyrique
H&E :	Hématoxyline et Éosine
IFN-γ :	Interféron Gamma
IL-1β :	Interleukine-1 Bêta
IL-6 :	Interleukine-6
IL-10 :	Interleukine-10
ILA :	Acide Indole-3-Lactique
MBBF :	Biofilms Microbiens (Microbial Biofilms)
MEC :	Matrice Extracellulaire
MEB :	Microscopie Électronique à Balayage
MEME :	Milieu Minimum Essential Medium Eagle
MICI :	Maladies Inflammatoires Chroniques de l'intestin
NK :	Cellules Natural Killer
Nrf2 :	Facteur Nucléaire Erythroïde 2 (Nuclear Factor Erythroid 2)
PCR	Réaction en Chaîne par Polymérase (Polymerase Chain Reaction)
qPCR :	PCR Quantitative (Quantitative PCR)
RNA-Seq :	Séquençage de l'ARN
SEM :	Erreur Standard de la Moyenne (Standard Error of the Mean)
SII :	Syndrome de l'intestin Irritable
SPF :	Sans Pathogènes Spécifiques (SpecificPathogen-Free)
TLR4 :	Récepteur de type Toll 4 (Toll-Like Receptor 4)
TNF-α :	Facteur de Nécrose Tumorale Alpha
TUNEL :	Terminal deoxynucleotidyl transferased UTP Nick End Labeling
WGA:	Agglutinine de Germe de Blé (Wheat Germ Agglutinin)
WT :	Sauvage (Wild Type)
ZO-1 :	Zonula Occludens-1

Glossaire :

AhR (Récepteur aryl hydrocarbure) : Protéine régulant l'immunité et la réponse aux métabolites microbiens.

Apoptose : Mort cellulaire programmée, exacerbée par certaines infections parasitaires.

Axénique : Environnement ou organisme dépourvu de microbiote (ex. souris axéniques).

Biofilm : Structure microbienne organisée, encapsulée dans une matrice extracellulaire (EPS), offrant une résistance aux antibiotiques.

Cryptosporidiose : Infection par *Cryptosporidium spp.*, provoquant des diarrhées sévères, surtout chez les immunodéprimés.

Cytokines : Molécules de signalisation immunitaire (ex. IL-6, TNF- α) modulées par les infections parasitaires.

Dérivés d'acides aminés : Métabolites (ex. indoles) produits par le microbiote, influençant l'hôte.

Dysbiose : Déséquilibre du microbiote intestinal, souvent lié à des infections ou des perturbations immunitaires.

Giardiose : Infection causée par *Giardia intestinalis*, caractérisée par des diarrhées, des crampes et une malabsorption.

Helminthes : Vers pluricellulaires divisés en nématodes (vers ronds) et plathelminthes (vers plats comme les trématodes et cestodes).

Homéostasie intestinale : Équilibre dynamique et régulé des fonctions physiologiques de l'intestin, incluant la digestion, l'absorption des nutriments, et la protection contre les pathogènes, assuré par des mécanismes immunitaires, neuronaux et microbiens.

Inflammation : Réponse immunitaire complexe à une agression (infection, lésion tissulaire, etc.), caractérisée par une activation des cellules immunitaires, une production de cytokines (ex. IL-6, TNF- α), et des symptômes tels que rougeur, chaleur, ou douleur. Dans l'intestin, elle peut être aiguë (protectrice) ou chronique (pathologique, comme dans les MICI).

Jonctions serrées : Complexes protéiques (ex. ZO-1) régulant la perméabilité intestinale

Kyste : Forme dormante et résistante des protozoaires, facilitant la transmission.

Métabolites microbiens : Composés produits par le microbiote (ex. AGCC, indoles) influençant l'immunité et la santé intestinale.

MICI (Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin) : Pathologies comme la maladie de Crohn, exacerbées par des déséquilibres microbiens.

Microbiote intestinal : Communauté complexe de micro-organismes (bactéries, virus, champignons) résidant dans l'intestin, essentielle à l'homéostasie.

Mucus intestinal : Barrière physique protégeant l'épithélium, souvent ciblée par les parasites.

Oocystes : Formes résistantes de parasites (ex. *Cryptosporidium*) excrétées dans les selles.

Parasites intestinaux : Micro-organismes qui colonisent le tube digestif pour survivre, transmis par ingestion orale ou pénétration cutanée.

Perméabilité intestinale : Augmentation de la fuite de substances à travers la barrière intestinale, liée à l'inflammation.

Probiotiques : Micro-organismes bénéfiques (ex. *Lactobacillus*) utilisés pour restaurer le microbiote.

Protozoaires : Parasites unicellulaires classés selon leur mode de locomotion (flagellés, ciliés, rhizopodes, sporozoaires).

Quorum sensing : Communication bactérienne coordonnant la formation de biofilms.

Séquençage 16S rRNA : Technique pour analyser la composition bactérienne du microbiote.

Toll-like récepteur 4 : Récepteur immunitaire activé par des pathogènes, impliqué dans l'inflammation intestinale.

Translocation bactérienne : Passage de bactéries ou de leurs produits à travers la barrière intestinale vers la circulation systémique, souvent lié à une perméabilité accrue.

Trophozoïte : Forme active et mobile des protozoaires parasites.

I. Introduction :

Les parasites intestinaux, tels que *Giardia intestinalis* et *Cryptosporidium* spp., représentent une définition majeure de santé publique, particulièrement dans les régions où les conditions d'hygiène sont précaires (HAMDANI & BENAOUA, 2018) Ces organismes perturbent l'homéostasie intestinale, entraînant des symptômes comme des diarrhées, des malabsorptions et des déséquilibres immunitaires (Bouyakoub & Mezidi, 2018) Parallèlement, les biofilms microbiens, structures complexes encapsulées dans une matrice extracellulaire (EPS), jouent un rôle clé dans la résistance aux antibiotiques et aux défenses de l'hôte (Yin, *et al.*, 2021) Ces biofilms, formés par des communautés bactériennes organisées, sont impliqués dans plus de 65 % des infections humaines, et leur interaction avec les parasites intestinaux peut exacerber ou atténuer les pathologies.

Les études récentes montrent que les parasites intestinaux modifient la composition du microbiote, induisant une dysbiose caractérisée par une augmentation des *Bifidobacterium* et une réduction des *Enterobacteriaceae* (Burgess, *et al.*, 2017) Inversement, le microbiote influence la virulence parasitaire, comme le démontre l'action inhibitrice des métabolites microbiens (ex. indoles) sur *Cryptosporidium parvum* (Grondin, *et al.*, 2024). Ces interactions bidirectionnelles, médiées par des mécanismes immunitaires et nutritionnels, soulignent l'importance des biofilms comme niche écologique où parasites et bactéries coexistent (Al-Rashidi & El-Wakil, 2024) Cette synthèse explore les dynamiques complexes entre parasites intestinaux et biofilms, en mettant en lumière leurs implications pour la santé humaine et les stratégies thérapeutiques émergentes.

En comprenant ces interactions, nous pouvons envisager des approches innovantes, comme l'utilisation de probiotiques ou inhibiteurs de protéases, pour cibler simultanément les parasites et leurs biofilms associés. (Beatty, *et al.*, 2017) ; (Chen, *et al.*, 2024))

L'objectif de ce travail est d'étudier les interactions complexes entre les parasites intestinaux (comme *Giardia intestinalis* et *Cryptosporidium* spp.) et les biofilms microbiens du microbiote intestinal, en analysant leurs impacts sur l'homéostasie intestinale et l'inflammation.

I SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE :

I. Généralité sur les parasites intestinaux :

Ce mémoire présente une analyse consolidée des connaissances actuelles sur le sujet, synthétisant de manière critique les travaux fondateurs de la littérature scientifique. Les résultats de l'étude de l'impact des parasites sur le microbiote proviennent de l'article de (Beatty, *et al.*, 2017) ; et ce de l'impact de microbiote sur les parasites de l'article de (Chen, *et al.*, 2024).

I.1. Définition de parasite intestinal :

Un parasite intestinal est un micro-organisme qui colonise le tube digestif pour survivre intruse dans le corps survient par ingestion orale ou pénétration cutanée. (Ameli., 2020).

I.2. Classification des parasites intestinaux :

Les parasites intestinaux sont classés selon une hiérarchie taxonomique (Embranchement, Classe, Ordre, Genre, Espèce). Chez l'humain, ils se répartissent en deux embranchements principaux : les protozoaires (unicellulaires) et les métazoaires (pluricellulaires), principalement représentés par les helminthes (HAMDANI & BENAOUA, 2018).

I.2.2 Protozoaires :

Organismes unicellulaires sans chlorophylle, ils se reproduisent par scissiparité ou voie sexuée. Leur classification repose sur leur mode de locomotion, divisant cet embranchement en quatre classes : rhizopodes (mouvement par pseudopodes), flagellés (flagelles), ciliés (cils) et sporozoaires (absence de structures motrice). (HAMDANI & BENAOUA, 2018) ; (Bouyakoub & Mezidi, 2018)

I.2.2 Helminthes :

Vers pluricellulaires se subdivisent en deux groupes mentionner dans le (tableau 1) :

- **Nématelminthes** : Vers ronds (classe des nématodes).
- **Plathelminthes** : Vers plats comprenant et classe des **trématodes** : non segmentés, hermaphrodites (ex. douves) ou à sexes séparés (ex. Schistosomes).et classe des

cestodes : Corps segmentés et hermaphrodites (ex. ténias) (HAMDANI & BENAOUA, 2018)

Tableau 1 : Classification des parasites intestinaux (HAMDANI & BENAOUA, 2018)

Parasites	
Flagellés	- <i>Giardia (lamblia) intestinalis</i> - <i>Trichomonas intestinalis</i> (= <i>Pentatrichomonas hominis</i>). - <i>Chilomastix mesnili</i> - <i>Enteromonas hominis</i> – <i>Embadomonas intestinalis</i> (= <i>Retortamonas intestinalis</i>) – <i>Dientamoeba fragilis</i>
Ciliés	- <i>Balantidium coli</i>
Rhizopodes	- <i>Entamoeba histolytica</i> - <i>Entamoeba coli</i> - <i>Entamoeba polecki</i> - <i>Entamoeba hartmanni</i> - <i>Endolimax nanus</i> - <i>Pseudolimax butschlii</i>
Sporozoaires	
Coccidies	- <i>Isospora belli</i> - <i>Cyclosporacayetanensis</i> - <i>Blastocystis</i> - <i>Sarcocystis hominis</i> - <i>Cryptosporidium parvum</i>, <i>C. muris</i>
Microsporidies	- <i>Enterocytozoon bieneusi</i> - <i>Encephalitozoon</i> (= <i>Septata</i>) <i>intestinalis</i>

1.3. Giardia intestinalis:

I.3.1. Définition de *Giardia intestinalis*:

Giardia est un protozoaire flagellé parasite de l'intestin de l'homme et les animaux, appartenant à l'embranchement des Metamonada, sous embranchement des Trichozoa, superclasse des Eopharyngia, classe des Trepomonadea, sous classe des Diplozoa, ordre des Giardiida, famille des Giardiidae), causée maladie appelée « *Giardiose*». (HAMDANI & BENAOUA, 2018) L'enfant est le plus touché par rapport à l'adulte. (Bouyakoub & Mezidi, 2018).

I.3.2.Mode de transmission :

Giardia transmis à l'homme par l'ingestion des kystes à partir de matière souillée par les selles des sujets infecte ou par l'ingestion de kystes à partir de l'eau de boisson, par contact féco-oral direct ou manuporté. (Bouyakoub & Mezidi, 2018).

I.3.3.Cycle évolutif :

Le cycle évolutif de *Giardia intestinalis* comprend deux phases distinctes : une phase végétative sous forme de trophozoïtes et une phase de kystes résistants aux conditions extérieures. La transmission s'effectue principalement via l'ingestion d'aliments contaminés par des kystes infectieux excrétés dans les matières fécales. Une fois exposés au suc gastrique, la paroi kystique est dégradée, libérant les trophozoïtes dans le duodénum. Ces derniers se multiplient activement par division binaire, colonisant ainsi le duodénum et la partie supérieure de l'intestin grêle. Sous l'influence des sels biliaires, les trophozoïtes se transforment à nouveau en kystes, qui sont ensuite évacués dans les selles, perpétuant le cycle infectieux. (HAMDANI & BENAOUA, 2018)

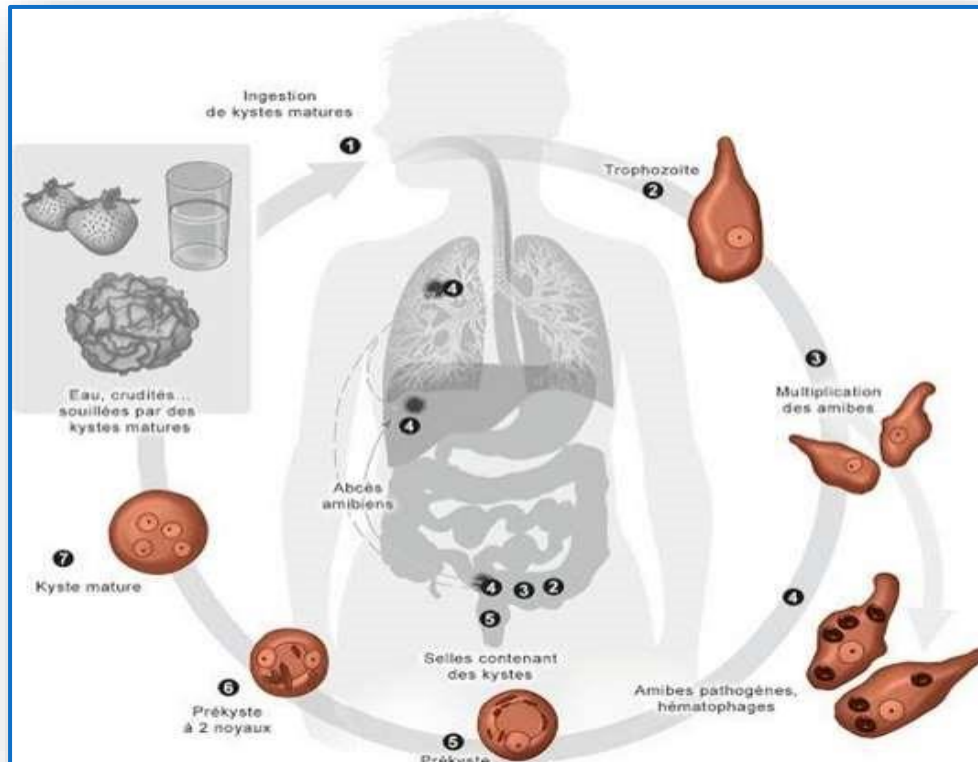


Figure 1: cycle évolutif de *Giardia.intestinalis* (Bouyakoub & Mezidi, 2018)

I.3.4. Les symptômes cliniques :

Les symptômes les plus fréquents sont les suivants :

- Diarrhée, Flatulence, Selles malodorantes, crampes, distension, fatigue, anorexie, nausées, perte de poids et Vomissements (HAMDANI & BENAOUA, 2018)
- Un syndrome de malabsorption intestinale caractérisé par : Hypotrophie, une malabsorption biologique le plus souvent partielle, portant sur les graisses, les sucres, l'acide Folique, les vitamines A et B12, une atrophie villositaire (totale, partielle ou subtotale) (Bouyakoub & Mezidi, 2018).

I.4. *Cryptosporidium* spp :

I.4.1.Définition :

Cryptosporidium, un parasite microscopique de la famille des Apicomplexa, infecte le système gastro-intestinal et respiratoire de divers hôtes, notamment les humains, les mammifères, les oiseaux et les poissons. Strictement dépendant d'un hôte vivant pour se développer, ce parasite partage avec les coccidies un cycle évolutif complexe, distinct des autres protozoaires hydriques. Chez les individus affaiblis par un système immunitaire déficient, l'infection peut persister durablement, prenant une forme chronique (HAMDANI & BENAOUA, 2018) .

I.4.2.Mode de transmission :

Modes de transmission des oocystes :

- Ingestion (parfois via inhalation et déglutition).
- Contact avec des animaux infectés (ex. : veaux, chevreux).
- Transmission interhumaine directe par voie fécale-orale.
- Contamination indirecte par de l'eau ou des aliments contaminés (liée à un risque fécal environnemental) (Bouyakoub & Mezidi, 2018).

I.4.3.Cycle évolutif :

Le cycle parasitaire débute par l'ingestion d'oocystes par l'hôte. Sous l'effet de la trypsine et des sels biliaires, ces oocystes libèrent des sporozoïtes mobiles qui envahissent les cellules épithéliales intestinales. À l'intérieur d'une vacuole intracellulaire (hors du cytoplasme), les sporozoïtes évoluent en trophozoïtes, puis en mérozoïtes, déclenchant une reproduction asexuée (mérogonie) en infectant de nouvelles cellules. Par la suite, les mérozoïtes initient une reproduction sexuée, produisant des gamètes qui se transforment en oocystes. Environ 20 % de ces oocystes, dotés d'une paroi fine, favorisent la persistance de l'infection chez l'hôte. Les 80 % restants développent une double paroi épaisse, sporulent dans l'intestin et sont excrétés via les selles, contaminant ainsi l'environnement (HAMDANI & BENAOUA, 2018).

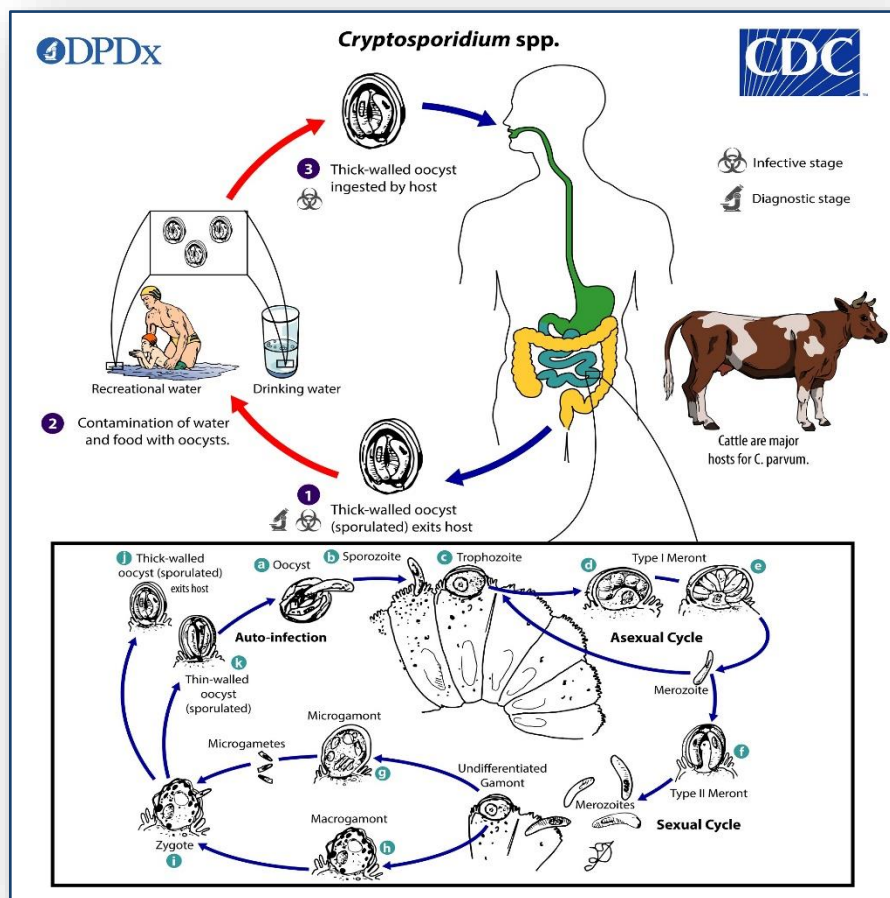


Figure 2: cycle évolutif de *Cryptosporidium* spp (CDC).

I.4.4. Les symptômes cliniques :

- Chez les Immunocompétents :**

L'infection peut être asymptomatique, traduit en diarrhée et les symptômes gastro-intestinaux comme d'un syndrome grippal, vomissements, anorexie et flatulences (HAMDANI & BENAOUA, 2018).

- Chez les immunodéprimés :**

Les patients atteints de SIDA ou prenant des médicaments immunosuppresseurs peuvent présenter des symptômes graves similaires au choléra, avec des nausées incoercibles, une

perte de poids et une déshydratation importante, pouvant être fatale (HAMDANI & BENAOUA, 2018).

II. Microbiote intestinale et Biofilms :

II.1. Le microbiote intestinal :

II.1.1. Définition :

Le microbiote intestinal désigne un écosystème diversifié et dynamique de microorganismes, comprenant des bactéries, des virus, des protozoaires et des champignons, qui résident en étroite association avec la muqueuse gastro-intestinale. Ces communautés microbiennes interagissent de manière complexe avec l'hôte, contribuant de manière significative au maintien de l'homéostasie intestinale et à la santé physiologique globale. (Fekete, *et al.*, 2021).

II.1.2. Composition de microbiote intestinal :

Le microbiote intestinal humain constitue un écosystème d'une extrême complexité, abritant une communauté diversifiée de bactéries et d'archées réparties en près de 1 000 espèces. Son patrimoine génétique, estimé à 150 fois celui de l'être humain. Structuré en cinq phylums principaux majeurs classés par ordre, **les Firmicutes** et de **Bacteroidetes**, qui représentent plus de 90 % des espèces identifiées dans un intestin sain, tandis que **les Actinobacteria**, **Proteobacteria** et **Verrucomicrobia** y occupent une place secondaire. **Les Firmicutes** sont des bactéries à gram positif, dominent avec près de 80 % des micro-organismes, incluant des genres clés comme *Clostridium* ou *actobacillus*, répartis en trois classes : **Clostridia**, **Mollicutes** et **Bacilli**. **Les Bacteroidetes**, représentant jusqu'à 30 % de la flore, regroupent des bacilles Gram négatif anaérobies tels que **Bacteroides** et **Prevotella**. Enfin, **les Actinobacteria**, généralement minoritaires (5-10 %), comprennent des espèces Gram positif comme **Bifidobacterium**, jouant un rôle notable malgré leur faible proportion (HADIOUCHE & KERFOUF, 2023).

II.2. Définition des biofilms :

Les biofilms sont des communautés microbiennes organisées, fixées sur des surfaces (Organiques ou non), et entourées d'une matrice protectrice produite par elles-mêmes. Cette structure, composée de substances polymères extracellulaires (EPS), offre une résistance

accrue aux agressions externes (antibiotiques, stress environnemental, etc.) et peut intégrer une ou plusieurs espèces microbiennes (Yin, *et al.*, 2021).

II.2.1.Rôle des biofilms :

Les biofilms bénéfiques contribuent activement à des mécanismes écologiques essentiels, incluant l'épuration des eaux résiduaires, la biodégradation de substances polluantes et la régulation des cycles biogéochimiques (tels que le carbone et l'azote). à l'opposé, les biofilms pathogènes représentent une menace significative dans le domaine médical, où leur adhésion aux tissus biologiques, implants et équipements médicaux favorise le développement d'infections chroniques résistantes aux antibiothérapies standards. Quant aux biofilms neutres, généralement observés dans des écosystèmes éloignés de l'activité humaine, ils n'exercent aucune influence directe notable, bien que leur potentiel évolutif puisse les amener à jouer un rôle écologique positif dans des contextes spécifiques (Yin, *et al.*, 2021).

II.2.2.Architecture du biofilm :

Les biofilms sont des assemblages microbiens organisés, où 10 à 25 % de cellules sont intégrées dans une matrice extracellulaire (EPS, 75–90 % de la masse), composée de polysaccharides (ex. : alginate adhésif), protéines, ADN extracellulaire (renfort mécanique), lipides et surfactants. Leur structure mature forme des microcolonies (« champignons » ou « tours ») interconnectées par des canaux aqueux, avec des variations morphologiques selon les espèces : agrégats irréguliers (*E. coli*), amas compacts (*S. aureus*), ou structures en relief (*P. aeruginosa*). Des systèmes de régulation (quorum sensing, c-di-GMP) et des protéines spécialisées (ex. : fibronectines) coordonnent la synthèse de l'EPS et l'agrégation. Cette architecture complexe réduit la pénétration des antibiotiques et protège les cellules dormantes, induisant une résistance accrue aux traitements. (Karygianni, *et al.*, 2020).

II.2.3.Composition et organisation du biofilm :

La composition et l'organisation des EPS dépendent de multiples éléments, incluant les espèces microbiennes, les ressources nutritives et le milieu de l'hôte. Ces polymères assurent des fonctions structurelles et opérationnelles déterminantes pour les caractéristiques émergentes des biofilms : ils soutiennent l'adhésion aux surfaces (biotiques ou non), renforcent la résistance aux agents antimicrobiens et aux réponses immunitaires, et génèrent

des environnements chimiques et mécaniques stables, indispensables au développement et à la survie des biofilms (Karygianni, *et al.*, 2020).

II.2.3. Formation des biofilms :

La formation des biofilms intestinaux se déroule en cinq phases séquentielles (**figure 3**):

II.2.4.1. Adhésion réversible :

Les bactéries à l'état libre (planctonique) interagissent avec la surface intestinale via des forces physiques (interactions électrostatiques, forces de van der Waals, effets hydrophobes).

Des appendices comme les flagelles et les pili facilitent le mouvement et l'adhésion temporaire. À ce stade, l'attachement est réversible et les bactéries peuvent se détacher si les forces répulsives dominent (Gong, *et al.*, 2024).

II.2.3.2. Adhésion irréversible :

L'adhésion transitoire devient permanente grâce à des liaisons moléculaires (ponts hydrogène, liaisons ioniques). Des protéines de surface (ex. SadB chez *Pseudomonas aeruginosa*) et les substances polymériques extracellulaires (EPS) renforcent l'adhésion. Une augmentation des niveaux de la molécule de signalisation c-di-GMP stimule la production d'adhésines et de polysaccharides, fixant les bactéries (Gong, *et al.*, 2024).

II.2.3.3. Formation de microcolonies :

Les bactéries fixées se multiplient et sécrètent des composants de l'EPS (exopolysaccharides, protéines, ADN extracellulaire), formant des microcolonies agrégées. La matrice EPS sert d'échafaudage, stabilisant la structure et créant un microenvironnement protecteur (Gong, *et al.*, 2024).

II.2.3.4. Maturation :

Les microcolonies évoluent en structures tridimensionnelles complexes avec des canaux nutritifs. La matrice EPS se diversifie, intégrant des composants spécifiques (ex. alginate chez *P. aeruginosa*, cellulose chez *E. coli*), augmentant la résistance aux antibiotiques et aux réponses immunitaires (Gong, *et al.*, 2024).

II.2.3.5. Dispersion :

Les biofilms matures libèrent des cellules planctoniques pour coloniser de nouveaux sites. Cette phase est déclenchée par des signaux environnementaux (manque de nutriments, gradients d'oxygène) et une baisse des niveaux de c-di-GMP. Des enzymes comme la DNase I dégradent les composants de l'EPS (ex. ADN extracellulaire), fragilisant la structure du biofilm (Gong, *et al.*, 2024).

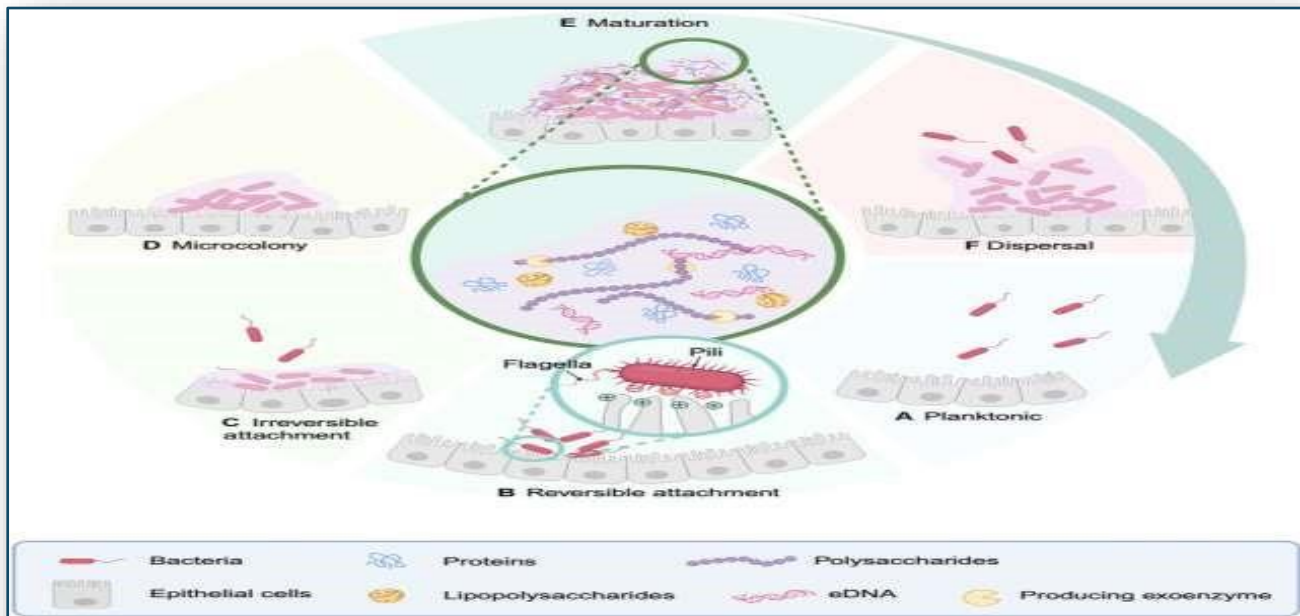


Figure 3: Représentation schématique des processus de formation, développement et mécanismes des biofilms dans l'intestin. Les biofilms bactériens se forment régulièrement sur la surface intestinale (Gong, *et al.*, 2024).

(A) Des bactéries planctoniques libres dans la lumière intestinale. (B) Adhésion bactérienne réversible à la couche muqueuse. (C) Transition vers une adhésion irréversible des bactéries à la surface épithéliale. (D) Multiplication bactérienne et production d'une faible quantité de matrice extracellulaire, conduisant à la formation de micro-colonies. (E) Prolifération bactérienne et maturation du biofilm. (F) Libération de bactéries planctoniques du biofilm pour coloniser de nouveaux sites épithéliaux.

Lors de l'adhésion réversible, des structures bactériennes comme les pili (ou fimbriae) et les flagelles médient les interactions avec les surfaces. Les propriétés électrostatiques, telles que la charge négative, influencent également le processus d'adhésion.

III. Interaction entre les parasites intestinaux et microbiote intestinale :

III.1. Impact des parasites sur le microbiote intestinal :

Les parasites intestinaux, tels que *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica*, et *Blastocystis hominis*, modifient significativement la composition du microbiote intestinal. Ces modifications varient selon l'espèce parasite : par exemple, une infection par *Giardia* est associée à une augmentation de *Bifidobacterium*, tandis que *Blastocystis* favorise les **Clostridia** et réduit les **Enterobacteriaceae**. Les helminthes comme *Trichuris muris* ou *Heligmosomo idespolygyrus* peuvent également induire des changements dans le microbiote en augmentant l'abondance de bactéries anti-inflammatoires telles que *Lactobacillus*. En revanche, d'autres parasites, notamment *Giardia*, produisent des enzymes mucolytiques qui dégradent la barrière muqueuse intestinale, perturbant ainsi son épaisseur et provoquant une dysbiose caractérisée par un déficit en bactéries mucivores (Firmicutes et Bacteroidetes) et une croissance de pathobiontes opportunistes. Ces altérations de la muqueuse entraînent une diminution de la perméabilité intestinale, exposant le microbiote à des stress environnementaux et influençant indirectement sa structure et sa fonctionnalité. ((Burgess, *et al.*, 2017) ; (Grondin, *et al.*, 2024)) .

Par ailleurs, ces parasites influencent également le microbiote via des mécanismes immunitaires et nutritionnels. Par exemple, certains helminthes stimulent la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC) et induisent une réponse immunitaire Th2, renforçant ainsi la barrière muqueuse et promouvant un équilibre immunitaire tolérant. En revanche, des parasites comme *Giardia* activent les cellules T CD8+ et perturbent les disaccharidases, ce qui altère la fonction intestinale et modifie l'environnement bactérien. De plus, les parasites modifient la disponibilité des nutriments pour les bactéries commensales en affectant la production de mucus et en affaiblissant les jonctions tight (Al-Rashidi & El-Wakil, 2024).

Cette interaction complexe entre parasites et microbiote peut non seulement influencer la pathogénicité des agents infectieux mais aussi aggraver l'inflammation intestinale, comme observé dans certaines infections parasitaires comme celle par *Toxoplasma gondii* (Al-Rashidi & El-Wakil, 2024).

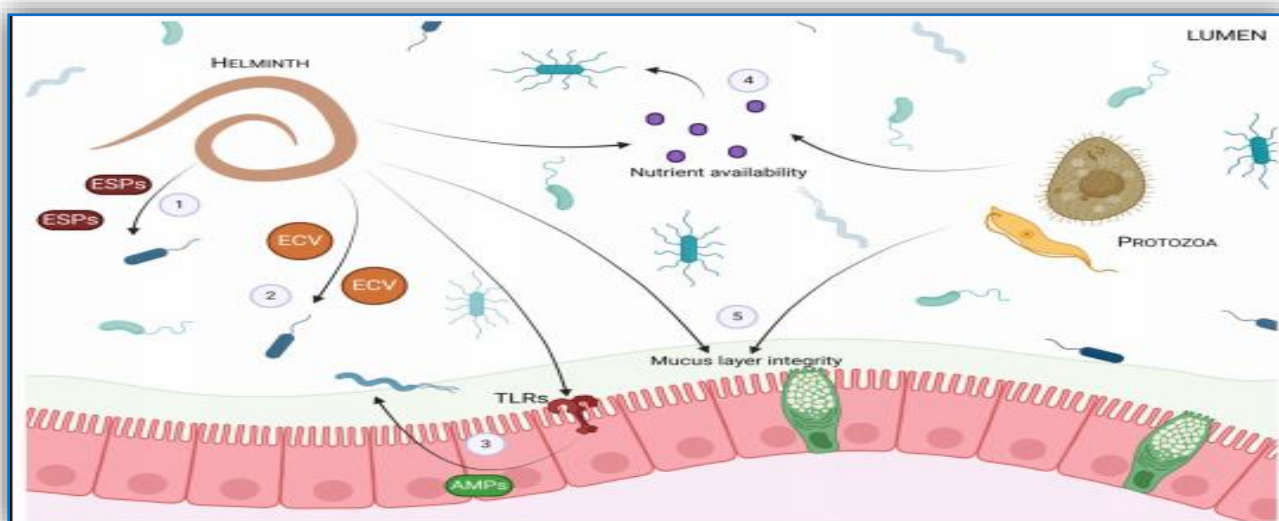


Figure 4 : Vue d'ensemble de l'impact que les infections par des protozoaires et des helminthes peuvent avoir sur le microbiote intestinal. Les infections intestinales par des protozoaires et des helminthes ont été rapportées pour induire des modifications de la composition et de la diversité microbienne chez l'être humain et les modèles animaux. Les helminthes ont été montrés à impacter le microbiote intestinal de plusieurs manières, notamment : (1) la libération de produits excrétoires-sécrètes (ESPs), (2) la libération de vésicules extracellulaires (ECVs), et (3) la modulation de la libération de peptides antimicrobiens d'origine hôte (AMPs) via les récepteurs Toll-like (TLR). Les infections par des protozoaires et des helminthes dans l'intestin peuvent également : (4) impacter la disponibilité des nutriments et (5) altérer l'intégrité de la barrière muqueuse, et ainsi affecter indirectement les microbes intestinaux . (Al-Rashidi & El-Wakil, 2024).

III.4.Impact du microbiote intestinal sur les parasites intestinaux :

III.4.1.Rôle du microbiome dans la facilitation des infections parasitaires :

L'interaction entre les parasites intestinaux et le microbiome est une relation bidirectionnelle, où le microbiome facilite l'établissement et la prolifération des parasites via des mécanismes spécifiques. Les études sur modèles animaux (comme les souris axéniques GF) montrent que l'absence de microbiome affaiblit la capacité de parasites tels que *H. polygyrus* et *Eimeria tenella* à infecter l'hôte et modifie leurs profils d'expression génique. À l'inverse, certaines bactéries (comme *E. coli* et *P. aeruginosa*) favorisent l'éclosion des œufs de parasites comme *T. muris* grâce à une adhésion directe, tandis que les antibiotiques (ex.

enrofloxacin) réduisent la gravité de l'infection, confirmant le rôle des signaux microbiens dans la réussite de l'invasion parasitaire.

III.4.2.Mécanismes de défense du microbiome contre les parasites :

Le microbiome ne se limite pas à faciliter l'infection : il constitue aussi une première ligne de défense via des mécanismes antiparasitaires. Les métabolites bactériens (comme les indoles) inhibent la croissance de parasites tels que *Cryptosporidium parvum* en induisant un stress mitochondrial et du réticulum endoplasmique dans les cellules hôtes. De plus, le microbiome potentialise l'efficacité des traitements adjuvants ; le composé lentinane (β -glucane) est plus efficace contre *T. spiralis* en présence d'un microbiome intact, restaurant l'équilibre bactérien (ex.*Bacteroidetes* et *Clostridiales*). Chez l'homme, la diversité du microbiome (comme dans les cas de *Blastocystis* sp. ST3) est corrélée à une réduction du nombre de parasites et de leur pouvoir inflammatoire (Grondin, *et al.*, 2024).

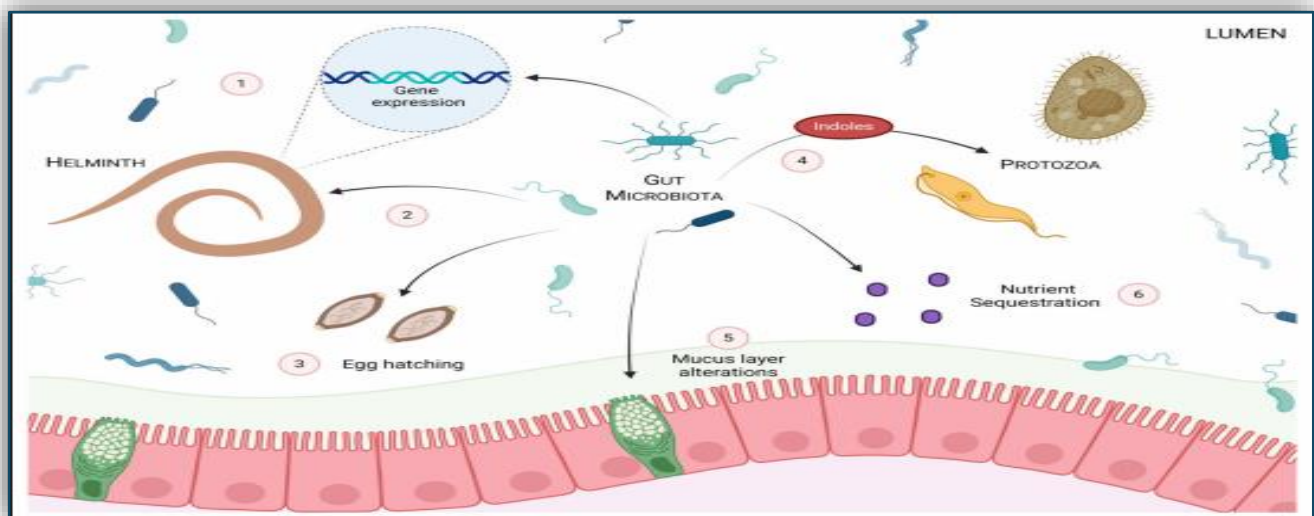


Figure 5:résumé des voies potentielles par lesquelles le microbiote intestinal peut influencer la fitness et l'infectivité des parasites. Le microbiote intestinal peut à la fois agir directement et indirectement sur l'établissement, la survie, la colonisation et l'élimination des parasites intestinaux chez l'hôte. Les microbes ont été montrés à : (1) induire une expression génique modifiée chez les helminthes, (2) influencer directement leur fitness, et (3) favoriser l'éclosion de leurs œufs. Le microbiote peut également : (4) inhiber la croissance de certains protozoaires grâce à la production

de métabolites tels que les indoles. de plus, les microbes modifient l'environnement intestinal en (5) affectant l'intégrité de la couche muqueuse et (6) en séquestrant des nutriments, ce qui influence directement le fitness des parasites (**Grondin, *et al.*, 2024**).

II . MATERIEL ET METHODES :

1. Matériel :

1.1. Matériel biologique : *Giardia duodenalis* (Beatty, et al., 2017)*Toxoplasma gondii* (Chen, et al., 2024) .

1.1.1. Impact de parasite sur microbiote intestinale :

Afin d’analyser l’impact de *Giardia duodenalis* sur le microbiote intestinal, le tableau 2 liste le matériel et les produits utilisés dans l’étude de (Beatty, et al., 2017).

- **Tableau 2:**matériel et produits utiliser dans l’étude de (Beatty, et al., 2017) :

	Milieu/souches	Solution/Suppléments/ Inhibiteurs/produits	Anticorps	Matériel utilisés /test
Milieu de base	Tryptic soy broth (BD Biosciences)	- Extrait de levure (4 g/L, BD Biosciences). -Solution de L-cysteineHCl (5%, 1 mL/L, Sigma) - Solution hémimine/ménadione (1 mg/mL de ménadione dans 95% d'éthanol et 50 mg d'hémimine bovine, Sigma). - K ₂ HPO ₄ (1,74 g/L) et NaOH (0,4 g/L).	- Anti-GAPDH (1:1000, Santa Cruz Biotechnology). - Anti-ZO-1 (1:500/1:10 000, Abcam). - Anti-TLR4 (1:500/1:10 000, Abcam). - Anti-CD45R (1:10 000, Abcam). - Anti-Thy-1.2 (CD90, Abcam).	
Milieu pour <i>Giardia duodenalis</i>	- Milieu Diamond’s TYI-S-33 (sTSY) : Pour la culture des trophozoïtes Souche NF (isolée d’une épidémie humaine à Terre-Neuve, Canada			Centrifugeuse
Milieu pour cellules Caco-2	Milieu Minimum Essential Medium Eagle (MEME, Sigma)	-Supplémenté avec 20% de sérum fœtal bovin (FBS), pénicilline-streptomycine (10 mL/L), L-glutamine (2 mM), et pyruvate de sodium (1 mM). -E-64d (1 µM, Sigma) : Inhibiteur de protéase à cystéine à large spectre. -CA-074Me** (1 µM, Peptides International) : Inhibiteur spécifique de la cathepsine B		plaques 6 puits filtres Transwell, ou lamelles Lab-Tek.

Biofilms microbiens (MBBF)				Calgary Biofilm Device (CBD, Innovotech Inc. Incubateure Agitation orbitale
Techniques d'analyse		Glutaraldéhyde (2,5%) revêtement or-palladium N-acétylglucosamine substrat fluorogénique Z-Phe-Arg-AMC (200 µM)		Microscopie électronique à balayage (SEM) microscope FEI XL30 (30 kV) Test WGA (Wheat-germ Agglutinin) Test XTT
Souris germ-free	Souche C57BL/6	Biofilms microbiens		

1.1.2. Impact du microbiote intestinal sur un parasite intestinal :

Dans l'étude de (Chen, *et al.*, 2024) le **Tableau 3** dresse la liste du matériel et des produits utilisés pour analyser l'impact du microbiote intestinal sur *Toxoplasma gondii*

- **Tableau 3:**matériel et produits utiliser dans l'étude de (Chen, *et al.*, 2024)

Catégorie	Matériel/Outils	Référence/Détails
Animaux expérimentaux	Souris sv129-WT et sv129-vim	(SPF) Âgées de 8 semaines Specificpathogen-free (SPF) male sv129-WT and sv129-vim
Souches parasitaires	<i>Toxoplasma gondii</i> (souche ME49)	Conservée en laboratoire <i>Toxoplasma gondii</i> ME49 strain
Souches bactériennes	<i>Lactobacillus murinus</i>	souche ATCC 35020
	<i>Lactobacillus gasseri</i>	souche ATCC 33323
Milieux de culture	MRS medium	DeMan, Rogosa and Sharpe pour la culture des bactéries
Réactifs chimiques	Indole-3-lactic acid (ILA)	Indole-3-lactic acid Macklin

2. Méthodes :

2.1. Impact du parasite sur le microbiote intestinal :

Cette étude (Beatty, *et al.*, 2017) repose sur une approche expérimentale *in vitro* visant à examiner les effets de *Giardia duodenalis* sur les communautés biofilms du microbiote intestinal humain. Cette équipe a mis en œuvre un système de culture dynamique, à l'aide de réacteurs à colonnes, simulant l'environnement intestinal humain afin d'observer les interactions entre le parasite et le microbiote au sein de biofilms mucosaux :

2.1.1 Collecte et traitement des biopsies coliques :

Des biopsies de la partie descendante du côlon ont été prélevées chez des volontaires sains lors de dépistages de cancer colorectal, conformément aux directives éthiques approuvées. Les échantillons ont été immédiatement placés dans des tubes anaérobies (BBL Para-Pak) pour préserver l'intégrité des communautés microbiennes. Dans une chambre anaérobie (90 % N₂, 5 % H₂, 5 % CO₂), les biopsies ont été lavées à l'éthanol, au dithiothréitol (DTT) et au PBS, puis homogénéisées dans un milieu enrichi (STSY). Les suspensions bactériennes ont été congelées à -70 °C jusqu'à leur utilisation pour la culture de biofilms.

2.1.2. Culture de biofilms microbiens :

Les biofilms ont été générés à l'aide du Calgary Biofilm Device (CBD), un système permettant la formation contrôlée de biofilms en conditions microaérobies. Les échantillons ont été inoculés dans des plaques à 96 puits contenant un milieu de culture enrichi en nutriments (trypticase-soja, extrait de levure, L-cystéine, hémine et ménadione). Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 72 heures sous agitation orbitale (75 rpm), favorisant la formation de biofilms matures à l'interface air-liquide.

2.1.3. Exposition des biofilms à *Giardia duodenalis*:

Des trophozoïtes vivants de *Giardia duodenalis* (souche NF) ou leur milieu de culture conditionné (contenant des métabolites et protéases sécrétées) ont été ajoutés aux biofilms. Les interactions parasite-biofilm ont été étudiées pendant 24 heures. Pour évaluer le rôle des protéases à cystéine de *Giardia*, des inhibiteurs spécifiques (E-64d et CA-074Me) ont été utilisés pour prétraiter les trophozoïtes avant leur application.

2.1.4. Analyses structurales et biochimiques des biofilms :

La microscopie électronique à balayage (MEB) a permis d'observer les modifications morphologiques des biofilms et de leur matrice extracellulaire (MEC). La composition de la MEC a été quantifiée à l'aide de la lectine Wheat Germ Agglutinin (WGA), marquée fluorescentement pour détecter les résidus de N-acétylglucosamine. La viabilité bactérienne a été mesurée via le test XTT, basé sur la réduction du sel de tétrazolium par des cellules métaboliquement actives. L'activité des protéases a été évaluée par fluorimétrie à l'aide de substrats spécifiques libérant de la 7-amino-4-méthylcoumarine (AMC).

2.1.5. Co-culture avec cellules épithéliales Caco-2 :

Les bactéries planctoniques libérées des biofilms ont été incubées avec des monocouches de cellules Caco-2, un modèle d'épithélium intestinal. L'apoptose a été mesurée par détection des nucléosomes libérés (ELISA). La perméabilité épithéliale a été évaluée en quantifiant la translocation bactérienne à travers des membranes Transwell. L'intégrité des jonctions serrées (ZO-1) et l'expression du récepteur TLR4 ont été analysées par immuno_buvarpage et immunofluorescence.

2.2. Impact de microbiote intestinal sur un parasite intestinal :

Pour explorer les interactions entre le microbiote intestinal et l'infection par *Toxoplasma gondii*, ont combiné plusieurs approches expérimentales complémentaires dans cette étude de (Chen, *et al.*, 2024).

2.2.2. Séquençage de l'ARN ribosomal 16S :

Le séquençage 16S rRNA a été réalisé sur des échantillons fécaux pour analyser la composition du microbiote intestinal à différents temps post-infection. Cette méthode repose sur l'amplification et la lecture des régions variables du gène codant pour l'ARN ribosomal 16S, spécifique aux bactéries.

- **Principe :** Elle permet d'identifier et de quantifier les populations bactériennes présentes.

2.2.3. Transplantation de probiotiques (*Lactobacillus murinus* et *L. gasseri*) :

Deux souches probiotiques ont été administrées oralement à des souris infectées pour évaluer leur effet sur la charge parasitaire et la réparation des tissus. Cette méthode teste

directement l'effet de bactéries bénéfiques sur l'infection parasitaire. Les *Lactobacillus* ont été cultivés, quantifiés, puis donnés pendant 8 jours.

2.2.4. QPCR pour quantification de la charge parasitaire :

L'ADN des tissus (intestin, foie, cerveau) a été extrait, puis la charge de *T. gondii* a été mesurée par PCR quantitative (qPCR), ciblant le gène B1 du parasite. Le principe est de détecter et quantifier le matériel génétique spécifique du parasite, indiquant son niveau de prolifération.

2.2.5. Cytométrie en flux :

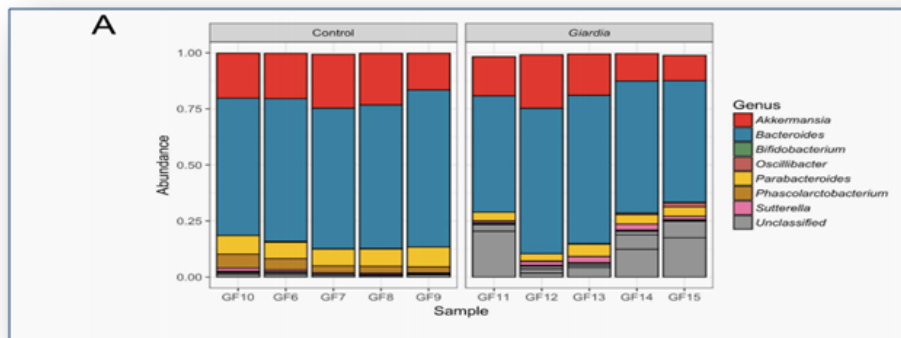
Elle a permis d'identifier les populations immunitaires (cellules NK, T, B, macrophages M1/M2) dans le sang et le liquide péritonéal. Cette technique détecte des marqueurs cellulaires grâce à des anticorps fluorescents, et permet de quantifier et caractériser les types cellulaires activés.

III . Résultats :

I.Impact des parasites sur le microbiote intestinal :

I.1.Modification de la composition microbienne intestinale par *Giardia duodenalis* :

L'étude de (Beatty, *et al.*, 2017) a révélé que l'exposition à *Giardia duodenalis* altère significativement la composition des communautés microbiennes intestinales. Des analyses par séquençage de l'ARNr 16S ont montré une augmentation des bactéries de l'ordre des *Clostridiales* (phylum Firmicutes) et une diminution des *Bacteroidales* dans les biofilms traités par *Giardia* (Figure 6 A) (Beatty, *et al.*, 2017).



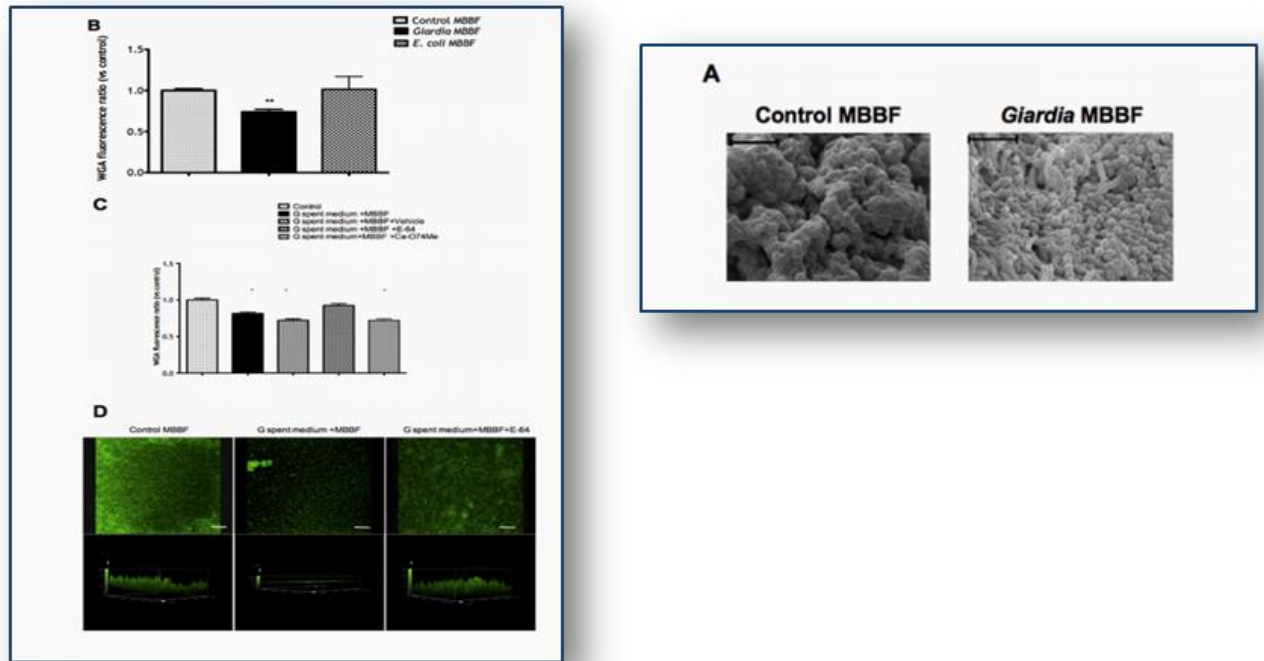
- **Figure 6A** : Profil des communautés microbiennes fécales de souris axéniques colonisées par des biofilms microbiens humains (BEATTY, ET AL., 2017)

I.2. Altération structurelle des biofilms par les protéases de *Giardia* :

La microscopie électronique à balayage (MEB) a démontré que *Giardia* réduit l'épaisseur des biofilms et dégrade leur matrice extracellulaire (MEC) riche en polysaccharides (Figure 5A-B). Des tests spectrofluorométriques utilisant la lectine WGA ont confirmé une diminution des résidus N-acétylglucosamine dans la MEC après exposition à *Giardia* (Figure 5C).

Cet effet était atténué par l'inhibiteur de protéases E-64, impliquant les cystéines protéases sécrétées par *Giardia* dans la perturbation de la MEC (Figure 5D). En revanche, l'inhibiteur spécifique de la cathepsine B (CA-074Me) n'a eu aucun effet, suggérant le rôle prédominant d'autres protéases. TLR4.

De plus, une perméabilité accrue de la barrière intestinale a été mesurée par translocation bactérienne à travers des inserts Transwell (Beatty, *et al.*, 2017)



- **Figure 7A-D:** Impact de Giardia sur la structure de la matrice extracellulaire des biofilms (BEATTY, ET AL., 2017)

II. Impact du microbiote intestinal sur un parasite intestinal :

II.1. Effondrement des *Lactobacillus* durant la Phase de Colonisation Intestinale :

À 7 jours post-infection, les souris WT perdent 70 % de *Lactobacillus murinus* et 85 % de *Lactobacillus gasseri*, remplacés par des pathobiontes comme Akkermansiamuciniphila. Cette dysbiose coïncide avec une inflammation intestinale aiguë (infiltration de lymphocytes, destruction des villosités), aggravant la perméabilité intestinale (Fig.8) (Chen *et al.*, 2024).

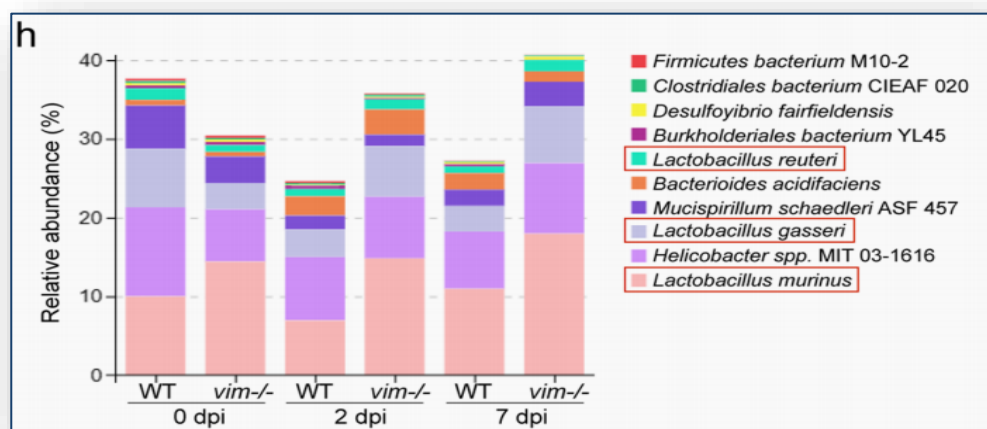


Figure 8 : Abondance de *Lactobacillus. Murinus* et *Lactobacillus Gasseri*

II.2. Déséquilibre durable du microbiote intestinal chez les souris WT :

La figure 9 montre comment la restauration du microbiote intestinal (via des probiotiques spécifiques) peut inhiber la prolifération du parasite et atténuer les dommages tissulaires.

- Sur l'axe des ordonnées (Y) :

"*T. gondii* B1 copies/ml DNA" (nombre de copies du gène B1 par mg d'ADN). Cela quantifie la charge parasitaire dans les tissus (intestin, foie, cerveau).

- Sur l'Axe des abscisses (X) :

Les groupes comparés :

UI-MRS (non infecté + milieu de culture témoin),

ME49-MRS (infecté + milieu de culture témoin),

ME49-LM (infecté + *Lactobacillus murinus*),

ME49-LG (infecté + *Lactobacillus gasseri*).

Ces graphiques montrent la charge parasitaire de *T. gondii* dans l'intestin (Jejunum), le foie (Liver) et le cerveau (Brain) après transplantation de *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus gasseri*. La charge parasitaire est significativement réduite dans les groupes traités avec ces probiotiques. (Fig9) (Chen *et al.*, 2024).

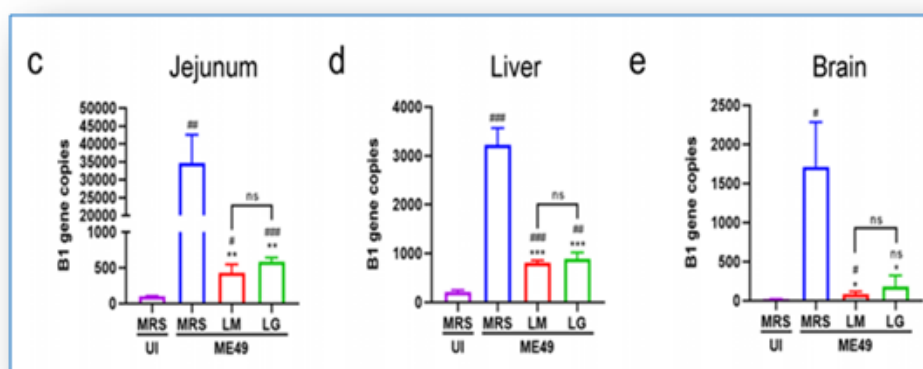


Figure 9C_E : Détection de la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte lors d'une infection à *T. gondii* après transplantation de deux souches de *Lactobacillus*. **c-e** Les souris ont été disséquées à 8 jours après l'injection pour détecter la charge de *T. gondii* dans les tissus du **jéjunum (c)**, du **foie (d)** et du **cerveau (e)**

IV. Discussion et conclusion

:

Discussion :

Les infections à *Toxoplasma gondii* et *Giardia* induisent une dysbiose intestinale sévère caractérisée par une réduction des *Lactobacillus* et une dégradation des biofilms microbiens. au *Giardia*, cette déstructuration libère des bactéries planctoniques pro-inflammatoires (Clostridiales, Bacteroidetes) qui déclenchent une cascade immunitaire via la sécrétion de cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α), l'activation des récepteurs TLR4, et l'augmentation de la perméabilité intestinale par altération des jonctions serrées (ZO-1), mécanismes démontrés dans des modèles murins expliquant la persistance des déséquilibres microbiens dans les syndromes post-infectieux comme le syndrome de l'intestin irritable . L'action des protéases de *Giardia* (cathepsines) sur la matrice extracellulaire des biofilms initie un cercle vicieux de translocation bactérienne $\rightarrow$ activation de TLR4 $\rightarrow$ sécrétion de CXCL-8 $\rightarrow$ destruction de la barrière intestinale, mimant la pathogénèse des maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) et reliant directement la dysbiose à l'inflammation systémique. Bien que l'inhibition des protéases émerge comme stratégie thérapeutique prometteuse, l'hétérogénéité interindividuelle du microbiote et les facteurs génétiques limitent son applicabilité universelle, nécessitant des recherches futures pour élucider la persistance des altérations microbiennes post-éradication parasitaire. Ces dynamiques s'inscrivent dans des interactions bidirectionnelles complexes : le microbiote module la virulence parasitaire, comme l'effet inhibiteur des *Lactobacillus* sur *Toxoplasma gondii* et des métabolites bactériens (indoles) sur *Cryptosporidium*, tandis que certaines bactéries (*E. coli*, *P. aeruginosa*) facilitent l'éclosion des œufs de parasites comme *Trichuris muris*, et que les probiotiques ou métabolites microbiens (acides gras à chaîne courte) induisent un stress métabolique réduisant l'infectivité parasitaire. Inversement, les parasites altèrent profondément le microbiote, *Giardia* et *Cryptosporidium* provoquant une dysbiose avec diminution des Bacteroidetes et augmentation des Clostridiales, dégradant les biofilms par leurs protéases (ex. cathepsines) pour libérer des bactéries pathogènes, et perturbant la barrière intestinale via l'altération des jonctions serrées (ZO-1) favorisant la translocation bactérienne. Ces interactions soulignent l'importance cruciale du microbiote dans la lutte contre les infections parasitaires et ouvrent la voie à des thérapies ciblant simultanément les parasites et la restauration de l'écosystème microbien.

Conclusion :

Les parasites intestinaux, notamment *Giardia duodenalis* et *Toxoplasma gondii*, perturbent significativement l'équilibre du microbiote intestinal en dégradant les biofilms

protecteurs via la sécrétion de protéases (cathepsines), ce qui libère des bactéries planctoniques pro-inflammatoires. Cette dysbiose induit une cascade immunopathologique : activation des récepteurs TLR4, altération des jonctions serrées (ZO-1), et augmentation de la perméabilité intestinale, favorisant une inflammation systémique similaire aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Si l'inhibition des protéases (par exemple avec l'E-64) émerge comme stratégie thérapeutique prometteuse pour préserver les biofilms et l'homéostasie, son efficacité reste limitée par l'hétérogénéité individuelle du microbiote et les facteurs génétiques. Ainsi, le développement de nouvelles approches ciblant simultanément les parasites et la résilience des biofilms microbiens est essentiel pour restaurer durablement la barrière intestinale et prévenir les complications post-infectieuses.

V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

Bibliographie :

- Al-Rashidi, H. S., & El-Wakil, E. S. (2024). Parasites and Microbiota: Dual Interactions and Therapeutic Perspectives. (M. Marangi, Éd.) *Microorganisms*, 3_6.
- Beatty, J. K., Akierman, S. V., Motta, J.-P., S. M., Workentine, M. L., Harrison, J. J., . . . Buret, A. G. (2017). Giardia duodenalis induces pathogenic dysbiosis of human intestinal microbiota biofilms. *International Journal for Parasitology*, 2_6.
- Bouyakoub, s., & Mezidi, i. (2018). *Parasites gastro_intestinaux chez les enfants : Etude epidemiologique*. BLIDA: universite de blida 1.
- Burgess, S., Gilchrist, C., Lynn, T., Petri, WA, & Jr. (2017). Parasitic Protozoa and Interactions with the Host Intestinal Microbiota. *MINIREVIEW*, 1_6.
- Chen, J., Zhang, C., Yang, Z., Wu, W., Zou, W., Xin, Z., . . . Peng, a. H. (2024). Intestinal microbiota imbalance resulted by anti-Toxoplasma gondii immune responses aggravate gut and brain injury. *Parasites & Vectors*, 3_7.
- Fekete, Elena , Allain, T., Affan, S., Olivia Sosnowski, & Buret, A. (2021). Giardia spp. and the Gut Microbiota: Dangerous Liaisons. *frontiers in microbiology*.
- Gong, F., Shuzi, X., Xiaohui ,Liu, Chengwe, i., Xinyi, Y., Luming , P., . . . Jingdong, X. (2024). Multiple biological characteristics and functions of intestinal biofilm extracellular polymers: friend or foe? *Frontiers* , 2_5.
- Grondin, A., J., Jamal, A., Mowna, S., Seto, T., & Waliul, I. K. (2024). Interaction between Intestinal Parasites and the Gut Microbiota:Implications for the Intestinal Immune Response and Host Defence. *pathogens*, 2_4.
- HADIOUCHE, N., & KERFOUF, Y. (2023). *Produits alimentaires symbiotiques : cas d'association entre la gamme d'Acacia arabica (prébiotique) et les bactéries lactobacilles (probiotique)*. BOUIRA: UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA.
- HAMDANI, I., & BENAOUA, S. (2018). *ÉLUCIDATION DU PORTAGE PARASITAIRE : ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE SUR LES PARASITOSEs INTESTINALES ET L'IMPLICATION DE L'EPS SUR LEURS DIAGNOSTICS*. Mostaganem: Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

- Karygianni, Ren, Z, Koo, H, Thurnheer, & T. (2020). Biofilm Matrixome: Extracellular Components in. *Trends in Microbiology*.
- Konduri, R., & Chinthala, R. S. (2021). Biofilm-Forming Potential of Ocular Fluid Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis on Ex Vivo Human Corneas from Attachment to Dispersal Phase. *Microorganisms*.
- Yin, w., Siyang, X., Yiting, W., Yuling, Z., Shan-Ho, C., M. Y., & Jin, H. (2021). Ways to control harmful biofilms: Prevention, inhibition, and. *Critical Reviews in microbiol*, 57_78.