

Titre du projet de stage - Master 2 : Etude épidémiologique et moléculaire du Cryspovirus (CSPV-1) dans les espèces de cryptosporidium qui circulent dans les élevages en Afrique du Nord

Laboratoire d'accueil : Equipe PARALIM, UMR BIPAR – ENVA/ANSES/INRAE, 14 rue Pierre et Marie Curie, 94700 Maisons-Alfort.

Directeur de stage : Pr Karim ADJOU (karim.adjou@vet-alfort.fr)

Résumé

Les cryptosporidioses sont des parasitoses dues à des protozoaires intracellulaires du genre *Cryptosporidium* qui se développent au niveau des microvillosités des cellules épithéliales des tractus respiratoire, gastro-intestinal et parfois rénal. Bien que l'infection naturelle soit rapportée chez de nombreuses espèces animales, ces parasites sont des agents pathogènes de premier ordre chez les bovins, les ovins et les caprins. Les pertes économiques sont dues à la mortalité et la baisse de performance auxquelles s'ajoute le coût de traitements souvent inefficaces. En plus des pertes économiques, s'ajoute un problème de santé publique (zoonose) à cause de la contamination des eaux de surfaces et la possibilité d'infecter les êtres humains en particulier les sujets immunodéprimés. Les infections à *Cryptosporidium* spp. sont souvent décrites associées à d'autres agents pathogènes incluant des virus, des bactéries et des parasites. L'infection par *Cryptosporidium* est rapportée chez de nombreuses espèces animales sur les cinq continents.

Par ailleurs, Le virus *Cryptosporidium parvum* 1, du genre Cryspovirus, de la famille des Partitiviridae, a été observé pour la première fois dans le cytoplasme de *C. parvum* en 1997 (1, 2). Le génome viral est bisegmenté et les dsARN1 et dsARN2 renferment chacun un seul ORF. Des souches étroitement apparentées du Cryspovirus ont été trouvées dans des souches distinctes de *C. parvum* infectant les humains et les veaux, ainsi que dans *C. hominis*, *C. felis* et *C. meleagridis*, avec des similarités d'acides aminés supérieures à 92 % (3, 4).

Une seule étude a évalué la prévalence du Cryspovirus dans les populations de parasites (5). Elle a montré qu'au Japon, le CSPV1 possède une prévalence de 100 % et se co-diversifie avec *C. parvum*, de sorte que les séquences virales peuvent être utilisées pour la détection sensible de *C. parvum* et pour déterminer l'origine régionale des parasites (5, 6, 7). L'infection *in vitro* de cellules épithéliales iléocécales humaines (HCT-8) par *C. parvum* a révélé une augmentation de l'ARN viral dans le milieu de culture recouvrant les cellules qui est parallèle au développement du parasite, ce qui indique que le virus est soit excrété des cellules infectées, soit libéré lors de la lyse de la cellule hôte (8).

Le rôle du virus dans la pathogénèse et la virulence du parasite reste inconnu, mais une analyse comparative de différentes souches de *C. parvum* a révélé que la souche ayant une charge virale plus importante produisait également davantage d'oocystes, ce qui suggère que le virus pourrait contribuer à la multiplication du parasite (8).

Une étude menée récemment par notre équipe a permis de démontrer pour la première fois la présence du *Cryspovirus* dans les cryptosporidies circulant chez les bovins, caprins et ovins dans de nombreux départements français. Nos résultats ont ainsi montré la présence de ce cryspovirus avec une fréquence de 88,88 % chez les bovins, 83,33% chez les ovins et 75 % chez les caprins (9). Des génomes complets de virus ont été obtenus à partir de génotypes différents de *C. parvum*. Le sujet présenté pour l'étudiant(e) de Master 2 sera de continuer cette étude avec les objectifs suivants :

- i) Isoler et identifier sur le plan moléculaire les cryptosporidies puis les cryspovirus à partir de cryptosporidies provenant de ruminants infectés en Afrique du Nord ;
- ii) Séquençer les Cryspovirus afin de déterminer si le virus peut être utilisé comme traceur pour le suivi épidémiologique de la maladie dans les élevages ;
- iii) Déterminer par des techniques variées si le Cryspovirus est excrété lors de l'infection à *Cryptosporidium*, puis tester s'il peut infecter les cellules de vertébrés en présence ou non de *Cryptosporidium*.

A l'interface entre la virologie et la parasitologie, ce projet amènera l'étudiant à acquérir des compétences dans les méthodes diagnostique en parasitologie, en culture cellulaire, en biologie moléculaire, isolation de virus, séquençage et analyse de génome viral.

Références

1. Khramtsov, N. V., Woods, K. M., Nesterenko, M. V., Dykstra, C. C. & Upton, S. J. Virus-like, double-stranded RNAs in the parasitic protozoan *Cryptosporidium parvum*. *Mol Microbiol* **26**, 289-300 (1997).
2. Nibert, M. L., Woods, K. M., Upton, S. J. & Ghabrial, S. A. Cryspovirus: a new genus of protozoan viruses in the family Partitiviridae. *Archives of Virology* **154**, 1959-1965 (2009).
3. Leoni, F., Gallimore, C. I., Green, J. & McLauchlin, J. Characterisation of small double stranded RNA molecule in *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium felis* and *Cryptosporidium meleagridis*. *Parasitol Int* **55**, 299-306 (2006).
4. Khramtsov, N. V. *et al.* Presence of double-stranded RNAs in human and calf isolates of *Cryptosporidium parvum*. *J Parasitol* **86**, 275-282, 278 (2000).
5. Murakoshi, F. *et al.* Molecular epidemiological analyses of *Cryptosporidium parvum* virus 1 (CSpV1), a symbiotic virus of *Cryptosporidium parvum*, in Japan. *Virus Res* **211**, 69-72 (2016).
6. de Souza, M. S., O'Brien, C., Santin, M. & Jenkins, M. A highly sensitive method for detecting *Cryptosporidium parvum* oocysts recovered from source and finished water using RT-PCR directed to Cryspovirus RNA. *J Microb Meth* **156**, 77-80 (2019).
7. Tai, L. *et al.* A novel detection method of *Cryptosporidium parvum* infection in cattle based on *Cryptosporidium parvum* virus 1. *Acta Biochim Biophys Sin* **51**, 104-111.
8. Jenkins, M. C. *et al.* Fecundity of *Cryptosporidium parvum* is correlated with intracellular levels of the viral symbiont CPV. *International Journal for Parasitology* **38**, 1051-1055 (2008).
9. Adjou K.T., Chevillot, A., Lucas, P., Blanchard, Y., Louifi, H., Arab, R., Mammeri, M., Thomas, M., Polack, B., Karadjian, G., Dheilly, N.M. (2023). First identification of *Cryptosporidium parvum* virus 1 (CSpV1) in various subtypes of *Cryptosporidium parvum* from diarrheic calves, lambs and goat kids in France. *Veterinary Research* **54** :66.