

Titre Thèse Title	Etude de la réponse impédimétrique de souches de parasites appartenant au genre <i>Cryptosporidium</i> dans le cadre de la recherche de candidats médicaments.	
(Co)-Directeur	Jérôme FOLLET	E-mail : jerome.follet@junia.com
(Co)-Directeur	Karim Adjou	E-mail : karim.adjou@vet-alfort.fr
(Co)-Encadrant (s)	Alexis Vlandas	E-mail : alexis.vlandas@univ-lille.fr
Laboratoire(s)	IEMN	Web : https://www.iemn.fr/
Groupe(s)	BioMEMS	Web : https://www.iemn.fr/la-recherche/les-groupes/biomems/members
Financement acquis ?	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input checked="" type="checkbox"/>
	Origine :	
Financement demandé	Contrat Doctoral <input type="checkbox"/>	Etablissement porteur : Univ. Lille <input type="checkbox"/> Centrale Lille <input type="checkbox"/> JUNIA <input checked="" type="checkbox"/>
	Région <input checked="" type="checkbox"/>	Co-financement acquis : Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Préciser son origine (qu'il soit acquis ou non) :
	Autre : Le cofinancement est en cours de discussion avec Lesaffre et Ceva Therapeutic	

Résumé :

Contexte : Les récentes pandémies (Covid-19, Influenza aviaire...) ont montré l'impact sanitaire majeur des maladies se transmettant de l'animal à l'Homme (maladies dites zoonotiques). Les vagues successives de contamination liées à l'émergence de nouvelles souches ou variants ont montré qu'en plus de la caractérisation de l'agent incriminé (virus, bactérie, parasite etc...), il est important de caractériser le pouvoir infectieux des souches/variants détectés. Ce sujet de thèse s'inscrit ainsi dans la stratégie nationale du plan d'investissement d'avenir (PIA) et des programmes PEPR Prezode et MIE qui sont marqués par la volonté de financer des recherches interdisciplinaires pour se doter d'outils qui permettront d'éclairer la compréhension des maladies infectieuses émergentes

Enjeux : Mesurer le pouvoir infectieux de différentes souches d'agents pathogènes pour :

- Appréhender le risque lié à une souche afin de définir des stratégies de prévention
- Etudier l'impact de molécules à visée thérapeutique (futurs médicaments)
- Etudier l'influence de l'environnement microbien sur les relations hôte/pathogène

Actuellement les méthodes d'analyse quantifiant *in vitro* le pouvoir infectieux d'un agent pathogène sont limitées et ne sont pas réalisées en continue. Il faut systématiquement arrêter la culture cellulaire infectées pour effectuer l'analyse. De plus, ces techniques sont difficilement automatisables et requièrent un traitement manuel chronophage.

L'objectif de la thèse sera de développer un prototype de dispositif automatisé et miniaturisé (BioMEMS) pour quantifier le pouvoir infectieux d'un agent pathogène zoonotique.

Le défi technologique résidera dans la fabrication d'un réseau de micro-électrodes interdigitées rendues transparentes sur lesquelles seront cultivées des cellules sensibles à *C. parvum*. L'infection sera suivie en temps réel par spectroscopie d'impédance. Pour permettre l'observation par microscopie en Fluorescence, les cellules hôtes seront modifiées génétiquement afin de les rendre fluorescentes par une méthodologie de transfert viral (Méthode BacMAM).

Le modèle infectieux sera le parasite *C. parvum* qui est la principale espèce incriminée dans les épidémies de cryptosporidioses d'origine zoonotique et pour lequel il n'existe toujours pas de médicament.

- Différentes souches seront ainsi testées dans le dispositif : Nouzilly (France), IOWA (USA), Moredun (Ecosse).
- Des banques de molécules antiparasitaires (ou des extraits de plantes) seront testées pour définir les composés présentant une activité inhibitrice du pouvoir infectieux. Cette stratégie vise à permettre la requalification des composés thérapeutiques pour leur ciblage anti-cryptosporidies.
- Différentes conditions d'infection seront testées. L'ajout de molécules issues du métabolisme microbien permettra d'appréhender notamment l'influence du microbiote dans la relation hôte parasite.

Ce projet s'inscrit dans une stratégie menée par l'équipe BioMEMS de l'IEMN. Il est dans la continuité d'un projet Européen soutenu par le programme Interreg 2 mers (2019-2023). Il permettra notamment :

- De renforcer le partenariat initié avec l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort (EnvA, Maisons-Alfort)
- De renforcer le partenariat avec les entreprises développant des médicaments (Ceva thérapeutique) ou celles fabricant des compléments alimentaires influençant le microbiote (Société Industrielle Lesaffre).
- De fabriquer un prototype d'analyseur adaptable à un panel plus large d'agents pathogènes (i.e. d'autres parasites, des bactéries et des virus).

Mots Clés : BioMEMS, *Cryptosporidium*, Spectroscopie d'impédance, pouvoir infectieux, OGM.

Abstract:

Context :

Recent pandemics (Covid-19, Avian Influenza ...) have clearly shown the major impact such zoonotic diseases (diseases that can transmit from animals to humans) can have on humankind. The recent waves of infections produced by new strains or variants have shown that not only should one identify the propagating disease but that it is crucial to assess the infective power of the strain/variant in question. This thesis proposal fits in the global PIA (plan d'investissement d'avenir) strategy as well as the PEPR Prezode and MIE which aim to fund interdisciplinary research projects to develop new tools and methodology to better understand emerging diseases.

Scientific challenges :

Measure the infectious power of various pathogen strains to:

- Evaluate better the risk associated with this strain to adapt the prevention response
- Identify faster potential active compounds to treat the disease
- Understand better the influence of the microbiome on Host/parasite relationships

To date, the techniques used to measure *in vitro* the infectious potential of a pathogen are limited and mostly work as end point assays (one must stop cell culture to perform the analysis). These techniques are furthermore hard to automatize and therefore limited to a fairly low throughput.

Aims of the thesis

We will develop a BioMEMS type device to measure the infectious power of a parasite at high throughput and with automated data treatment.

Technological challenges

A first technological challenge will be to produce a fully transparent inter-digitated electrode device. This will enable impedance spectroscopy and fluorescence microscopy measurements to be performed simultaneously. To facilitate the latter, cells will be modified to be made fluorescent via the BacMAN method.

The chosen infectious model will be the *C. parvum* parasite which remains the principal cause of cryptosporidiosis and against which no drug exists.

Various strains will be tested with our device: Nouzilly (France), IOWA (USA), Moredun (Ecosse).

- Anti-parasitic compounds libraries will be screened to select those with an inhibitory effect. The aim is to requalify existing drugs to fight this disease.
- Various infection conditions will be tested. Molecules extracted from the microbiome secretome will be added to better understand mechanisms they might influence the host-pathogen relationship.

This project fits nicely in the current strategy of the BioMEMS research team at IEMN. It builds upon an existing Interreg 2 seas project (2019-2023) and will enable:

- To create a new collaboration with the Ecole nationale vétérinaire d'Alfort (EnvA, Maisons-Alfort) which is an expert at the European level on this topic
- To strengthen existing links with pharmaceutical companies (Ceva thérapeutique) and regional leaders in the field of ingredients acting on the microbiome (Lesaffre).
- To further develop our technology to address other pathogens of interest (e.g. other parasites, bacteria and viruses).

Keywords : BioMEMS, *Cryptosporidium*, impedance spectroscopy, infectious power, GMO