

Année 2024-2025

PROPOSITION DE STAGE DE RECHERCHE DE MASTER 2

Période de stage : du 01 / 01 / début janvier à fin juin 2025

COORDONNÉES DU LABORATOIRE D'ACCUEIL :

Anses
Laboratoire de Santé Animale
14 Rue pierre et marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex

Nom de l'équipe 1:

Parasites Négligés et Emergents (ParaNEM)

Nom du directeur de l'équipe :

Dr Grégory Karadjian

Unité d'affiliation :

UMR biologie moléculaire et d'immunologie parasitaires (Bipar)

Responsable du projet de l'étudiant :

Nom : Karadjian
Prénom : Grégory
Qualité : Chef de Projet
Téléphone : +33 1 49 77 28 18
Courriel : gregory.karadjian@anses.fr

Nom de l'équipe 2:

Parasitologie

Nom du directeur de l'équipe :

Dr Gérald Umhang

Unité d'affiliation :

Unité INfecTologie - Eco-épidémiologie - Risque - FAune Sauvage (INTERFAS)

Responsable du projet de l'étudiant :

Nom : Umhang
Prénom : Gérald
Qualité : Chargé de Projet
Téléphone : +33 3 83 29 89 86
Courriel : gerald.umhang@anses.fr

Nom de l'équipe 3:SinaPS

Nom du directeur de l'équipe :Nicolas PAUC

Unité d'affiliation :

CEA

Responsable du projet de l'étudiant :

Nom : PICARD

Prénom : Emmanuel

Qualité : Ingénieur Chercheur

Téléphone : 0438789097

Courriel : emmanuel.picard@cea.fr

Thématiques de recherche de l'équipe :

Le groupe ParaNEm (Parasites Négligés et Emergents) s'intéresse tout particulièrement aux parasites émergents mais également à des parasites négligés (PN), non prioritaires, à l'origine de nombreuses pathologies différentes chez l'humain ou dans les élevages. Ces PN sont zoonotiques ou enzootiques et peuvent provoquer de nombreuses pertes dans les élevages. De plus en plus de résistances aux antiparasitaires administrés sont observées et il est urgent de proposer de nouvelles alternatives. Les parasites négligés et émergents sont majoritairement issus de la faune sauvage ou de l'environnement et il est essentiel d'aborder ces parasites dans une approche « One Health ». L'équipe développe 4 axes de recherche. L'axe 3 est celui dans lequel ce sujet de stage s'intègre : développement d'outils innovants pour la surveillance des parasites circulants chez les animaux domestiques ou sauvages, en France (métropolitaine et outre-mer), dans les pays européens et dans le monde, en s'appuyant sur la biologie moléculaire classique (PCR, qPCR, rt-PCR), la technologie MALDI-TOF et les nouvelles technologies de séquençage (Illumina, nanopore,...) ou d'imagerie.

L'unité INTERFAS est une unité multidisciplinaire qui contribue, au travers de projets en propre et de collaborations nationales et internationales, à une meilleure connaissance de l'état sanitaire de la faune sauvage et à la compréhension de son rôle dans la circulation d'agents pathogènes (AP) notamment responsable de zoonoses ou de maladies affectant les animaux domestiques. L'Unité porte plusieurs thématiques scientifiques (virologie-immunologie, virologie moléculaire, parasitologie, tiques et AP transmis par les tiques, épidémiologie) et des mandats de référence (Laboratoires nationaux de référence pour la rage et pour *Echinococcus* spp., Laboratoires de référence européens pour la rage et la sérologie rage). Ses activités scientifiques ciblent notamment les virus de la rage, les échinocoques, les coronavirus, les tiques et AP qu'elles vectorisent et *Mycobacterium bovis* (l'agent de la tuberculose bovine). Les espèces animales étudiées sont variées, avec des modèles expérimentaux et des études in natura.

Titre du sujet: Mise en place d'un outil de détection d'œufs de parasites par diffraction de la lumière assistée par intelligence artificielle

Contexte du sujet de stage de Master 2 :

Dans le contexte « One Health », la recherche et l'identification des agents pathogènes dans le domaine vétérinaire est une étape clé dans la réussite du concept. Alors que pour les infections virales et bactériennes, il existe souvent des signes cliniques qui orientent le diagnostic vers des méthodes de détection rapide (bactériogramme, PCR, etc.), pour les infections parasitaires, les hôtes définitifs se présentent souvent sans symptômes ou avec des symptômes minimes, ce qui rend le diagnostic beaucoup plus complexe.

Dans la plupart des cycles parasitaires, la phase libre passe par un stade d'œuf, qui est libéré par l'hôte dans l'environnement via une matrice fécale complexe avec des concentrations d'œufs très variables et souvent faibles. La méthode de détection classique repose sur la détection

microscopique de ces œufs, ce qui implique une préparation fastidieuse et longue de l'échantillon pour concentrer les œufs, avec des valeurs de sensibilité très variables. Parallèlement, une fois dispersés, les œufs contaminent l'environnement et les denrées alimentaires, entraînant des cas de zoonoses chez l'homme. La détection dans les matrices environnementales et alimentaires est encore plus complexe que pour les matières fécales en raison du très faible nombre d'œufs présents (1 à 10 par échantillon) dans la grande majorité des cas.

En utilisant des capteurs CMOS et des sources lumineuses de différentes longueurs d'onde, le CEA a développé un système d'imagerie sans lentille qui, couplé à un système d'intelligence artificielle (IA), permet d'identifier des colonies bactériennes au niveau de l'espèce. Sur la base de cette technologie, il est prévu de faciliter l'identification des œufs de parasites tout en augmentant la sensibilité. Cela permettra d'automatiser la détection, ouvrant ainsi des perspectives d'investigation dans des populations animales plus importantes.

En collaboration avec le CEA de Grenoble, nous avons testé le prototype déjà développé avec des œufs de parasites préalablement identifiés et caractérisés (*Echinococcus* sp., *Baylisascaris* sp., *Toxocara* sp., *Parascaris* sp.). Les résultats préliminaires obtenus nous ont permis d'obtenir des diffractogrammes caractéristiques de chacun de ces œufs de parasites, qui peuvent être identifiés au milieu d'une matrice complexe.

Ces résultats préliminaires sont très encourageants et ont démontré la valeur de cette technologie pour la détection d'œufs de parasites et la preuve de concept pour l'utilisation du système Lensfree dans des applications de parasitologie. Combiné à la détection, à la reconnaissance et à la lecture automatisée de l'IA, ce procédé pourrait trouver de nombreuses applications dans les laboratoires de recherche vétérinaire et humaine, ainsi que pour le diagnostic de routine, comme c'est le cas dans les laboratoires départementaux des hôpitaux vétérinaires et humains.

Objectifs du stage de Master :

L'objectif principal est d'optimiser la détection des œufs par imagerie sans lentille.

Après une première phase de formation à l'approche de diffraction de la lumière sur un objet afin d'obtenir un diffractogramme, au CEA de Grenoble, le stagiaire aura en charge l'optimisation des différents paramètres qui permettront, au sein d'une matrice donnée, de récupérer le signal le plus informatif possible pour détecter des œufs de parasites : longueur d'onde d'excitation, distance source lumineuse-objet, distance objet-capteur, ... Dans les matières fécales, de nombreux éléments peuvent être retrouvés comme des pollens, d'autres débris végétaux, des restes de repas d'origine animale, ... qui auront également une signature au diffractogramme. Au sein des résultats, le stagiaire analysera les différences entre les diffractogrammes afin, par la suite, de différencier les éléments parasitaires par rapport aux autres composants de la matrice.

Perspectives :

Le stage de Master 2 n'est qu'une étape afin d'atteindre une technologie permettant des applications en parasitologie animale et humaine. Une thèse de recherche à la suite de ce projet de Master est déjà prévue et dépendra des résultats obtenus lors de ce stage. Une fois les différents paramètres connus sur le prototype « type », 2 nouveaux prototypes à façon seront produits afin de permettre une meilleure acquisition. A partir de l'acquisition de nombreux œufs de la même espèce, une IA sera instruite. Puis une base de données (par matrice, ou par animal hôte, ...) sera générée afin d'aboutir à une automatisation de l'ensemble du processus d'identification.

Compétences recherchées : formation en biologie parasitaire et fort intérêt pour le traitement d'images.

Publications récentes des équipes:

Equipe 1 :

Healy S.R., Morgan E.R., Prada J.M., **Karadjian G.**, Chevillot A., Betson M. First use of tissue exudate serology to identify *Toxocara* spp. infection in food animals. *International Journal for Parasitology*, 2024. 54(6):303-310.

Adjou K.T., Chevillot A., Lucas P., Blanchard Y., Louifi H., Arab R., Mammeri M., Thomas M., Polak B., **Karadjian G.**, Dheilly N.M. 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*, 2023. 54:66

Brosseau NE, Vallée I, Mayer-Scholl A, Ndao M, **Karadjian G.** Aptamer-Based Technologies for Parasite Detection. *Sensors*. 2023; 23(2):562.

Karadjian G., Kaestner C, Laboutière L, Adicéam E, Wagner T, Johne A, Thomas M, Polack B, Mayer-Scholl A, Vallée I. A two-step morphology-PCR strategy for the Identification of Nematode larvae recovered from muscles after artificial digestion at meat inspection. *Parasitology Research*. 2020,119(12):4113-4122.

Karadjian G., Bilska-Zajac E, Bahn P, Py JS, Johne A, Gassilloud B, Różycki M, Cencek T, Mayer-Scholl A, Vallée I. Species identification of *Trichinella* originated from various host and different geographical location by MALDI-TOF. *Experimental parasitology*. 2020, 107890.

Equipe 2 :

Presence of *Echinococcus* eggs in the environment and food: a review of current data and future prospects. R. Barosi & **G. Umhang**, *Parasitology*, 2024, in Press.

Surveys on *Baylisascaris procyonis* in two of the three French wild raccoon populations. **Umhang G.**, Frantz AC, Ferté H, Fournier Chambrillon C, Gautrelet M, Gritti T, Thenon N, Le Loc'h G, Isère-Laoué E, Egal F, Caillot C, Lippert S, Heddergott M, Fournier P, Richomme C. *Int J Parasitol Parasites Wildl*. 2024 Mar 21;23:100928. doi: 10.1016/j.ijppaw.2024.100928. eCollection 2024 Apr.

Gray wolves as sentinels for the presence of *Echinococcus* spp. and other gastrointestinal parasites in France. **Umhang G.**, Duchamp C, Boucher JM, Caillot C, Legras L, Demerson JM, Lucas J, Gauthier D, **Boué F.** *Int J Parasitol Parasites Wildl*. 2023 Sep 20;22:101-107. doi: 10.1016/j.ijppaw.2023.09.007. eCollection 2023 Dec.

High variability in the number of *E. multilocularis* eggs in cat feces collected in the field. **Umhang G.**, Bastien M, Bastid V, Poulle ML, **Boué F.** *Parasitol Int*. 2022 Aug;89:102583. doi: 10.1016/j.parint.2022.102583. Epub 2022 Apr 6.

Soil contamination by *Echinococcus multilocularis* in rural and urban vegetable gardens in relation to fox, cat and dog faecal deposits. Da Silva AM, Bastien M, **Umhang G.**, **Boué F.**, Bastid V, Boucher JM, Caillot C, de Garam CP, Renault C, Faisse M, Courquet S, Scalabrino V, Millon L, Knapp J, Poulle ML. *Parasite*. 2021;28:74. doi: 10.1051/parasite/2021073. Epub 2021 Nov 1.

Equipe 3 :

Simple imaging system for label-free identification of bacterial pathogens in resource-limited settings. Douarre C, Dylan D, Fangazio M, **Picard E.**, **Hadji E.**, Vandenberg O, Barbé B, Hardy L, **Marcoux PR.** Accepted for publication in *International Journal of Bioimaging* doi: 10.21203/rs.3.rs-4176525/v1



Phage susceptibility testing and infectious titer determination through wide-field lensless monitoring of phage plaque growth. Perlemoine P, **Marcoux PR**, **Picard E**, **Hadji E**, Zelsmann M, Mugnier G, Marchet A, Resch G, O'Connell L, Lacot E. PLoS ONE. 2021;16(3):e0248917. doi: 10.1371/journal.pone.0248917

Spatio-temporal based deep learning for rapid detection and identification of bacterial colonies through lens-free microscopy time-lapses. Paquin P, Durmort C, Paulus C, Vernet T, **Marcoux PR**, Morales S. PLoS Digital Health. 2022;18(3):e0280885 doi: 10.1371/journal.pdig.0000122