

PROJET DE THESE pour l'ANNEE 2018-2019

IMPORTANT : Les étudiants titulaires de Master ou équivalent doivent envoyer leur dossier complet au porteur du projet de thèse et au laboratoire indiqué, et pas à l'Ecole Doctorale

Date limite de dépôt par le laboratoire du dossier du candidat sélectionné, à l'Ecole Doctorale :
le, vendredi 22 juin 2018, 13h heure de Guyane.

Discipline et Mention du Doctorat	Discipline : Sciences et technologies Mention : Biologie
Domaine scientifique principal	Maladies à transmission vectorielle
Domaines scientifiques secondaires	Microbiologie
Unités de rattachement - Unités adossés à l'ED : UMR EcoFoG, UMR Espace-Dev, UMR QualiSud, UMSR LEEISA, EA EPaT, EA MINEA, IPG)	Institut Pasteur de la Guyane (IPG)
Autre Unité de rattachement de l'Université de Guyane (UG) ou convention en cours.	
Projet Structurant autour des thèmes de l'ED 587	Santé et écologie de la santé en milieu tropical
Direction de la thèse	M. Siegfried Hapfelmeier - siegfried.hapfelmeier@ifik.unibe.ch (à contacter en anglais) Mme Mathilde Gendrin - mathilde.gendrin@pasteur.fr (non HDR)
Collaborations extérieures éventuelles envisagées (convention de codirection, - de cotutelle ; entreprise...)	Siegfried Hapfelmeier - Université de Bern - Suisse
Connaissances et compétences requises chez l'étudiant	Master d'une discipline liée à la biologie; Expérience lors d'un stage ou d'un projet dans au moins l'une des disciplines suivantes: biologie moléculaire, bioinformatique, relations hôtes-microbes, microbiologie, métabolisme, entomologie; Compréhension et expression en anglais scientifique
Titre de la thèse	<i>Etude des relations métaboliques entre le moustique et son microbiote : quelle influence sur la transmission vectorielle ?</i>
Résumé 1 (5-8 lignes, police Arial 10) : Présentation explicite du projet de thèse – Aspects scientifiques <i>Finalité, méthodologie et problématique, intérêt scientifique, caractère innovant</i>	Le microbiote des moustiques vecteurs influence leur infectivité par le parasite du paludisme et les arbovirus. Cela est dû à l'induction de réponses immunitaires par le microbiote ainsi qu'à la production de molécules toxiques. Un 3 ^e effet connu chez d'autres hôtes n'a pas encore été

	<p>étudié chez le moustique : les bactéries du microbiote produisent et consomment des nutriments et peuvent ainsi entrer en compétition métabolique avec l'agent infectieux ou au contraire favoriser son développement. Ce projet vise (1) à identifier les voies moléculaires impliquées dans ces relations par analyse métabolomique et transcriptomique de l'intestin de moustique et (2) à tester des métabolites et gènes candidats influençant l'infection par <i>Plasmodium</i> ou des arbovirus.</p>
<p>Résumé 2 (5-8 lignes, police Arial 10) : Présentation des enjeux de la thèse <i>Adéquation avec la politique scientifique de l'Etablissement - Intérêt de cette thèse dans le cadre du développement régional</i></p>	<p>Ce projet s'intègre dans le pôle thématique de l'Université « Santé et écologie de la santé en milieu tropical ». En effet, les maladies vectorielles, incluant notamment le paludisme et les arbovirus, sont un fardeau pour la santé humaine au niveau mondial et touchent en particulier la Guyane, dont le climat est propice au développement des moustiques vecteurs <i>Anopheles darlingi</i> et <i>Aedes aegypti</i>. Les microbes présents naturellement dans l'intestin de ces moustiques agissent comme des barrières à la transmission de maladies. Dans ce contexte, ce sujet de thèse vise à étudier les relations nutritionnelles entre les moustiques et ces microbes, et à leur influence sur la transmission vectorielle, dans le but de découvrir des molécules permettant de bloquer cette transmission.</p>

Explication du Projet de thèse

1°) Présentation des aspects scientifiques du projet de thèse et état de l'art

Finalité, méthodologie et problématique, intérêt scientifique, caractère innovant

Les maladies à transmission vectorielle, notamment le paludisme et les arbovirus, posent un lourd fardeau sur la santé humaine et l'économie des régions qu'elles touchent, principalement dans la zone intertropicale. Un moustique qui transmet un agent infectieux est, d'une façon générale, infecté lors d'une piqûre sur un hôte infecté. L'agent infectieux se développe alors dans l'intestin puis colonise d'autres tissus du moustique et infecte les glandes salivaires, d'où il sera transmis à des hôtes sains lors des prochaines piqûres du moustique, tout au long de sa vie. Le moustique est capable d'éliminer une bonne partie des microbes qu'il ingère, ce qui est dû en partie aux conditions physico-chimiques de l'intestin et à son système immunitaire, mais également au microbiote qu'il héberge dans son intestin (revu dans Gendrin and Christophides, 2013; Ramirez et al., 2012). En effet, ce dernier induit des réponses immunitaires à spectre large et produit des molécules toxiques. Un 3^e mécanisme est connu chez d'autres hôtes et suggéré, mais pas encore caractérisé, chez le moustique (Angleró-Rodríguez et al., 2017; Jadin, 1967) : les bactéries du microbiote produisent et consomment des nutriments et peuvent ainsi entrer en compétition métabolique avec l'agent infectieux ou au contraire favoriser son développement. La protection assurée par le microbiote envers ces agents infectieux dépend des souches bactériennes du microbiote étudiées (Cirimotich et al., 2011; Ramirez et al., 2014), suggérant que la composition du microbiote, très variable chez les moustiques de terrain (Osei-Poku et al., 2012), affecte fortement la capacité des moustiques à maîtriser l'infection et donc à transmettre ou non la maladie.

Ce projet vise à étudier les relations métaboliques tripartites entre le moustique, son microbiote et un agent infectieux – paludisme ou arbovirus, à définir avec le candidat. Cela permettra de définir si ces relations sont de type compétition, commensalisme et/ou bénéfice réciproque. Le projet répondra à deux objectifs. Le premier est d'identifier selon une approche non-biaisée les voies moléculaires impliquées dans les relations moustique-microbiote. Pour cela, une analyse du transcriptome et du métabolome de l'intestin sera réalisée chez plusieurs groupes de moustiques, chacun portant un microbiote manipulé mimant de façon simplifiée chaque type de composition microbienne couramment observé chez des moustiques de terrain, selon des protocoles mis en place au laboratoire. Le deuxième objectif est d'analyser l'implication de métabolites candidats – appartenant aux voies moléculaires identifiées lors du premier objectif et d'une étude préliminaire réalisée par l'encadrante de thèse – dans la capacité des moustiques à transmettre le paludisme ou les arbovirus. Dans ce but, les interactions métaboliques seront manipulées par plusieurs méthodes : les métabolites candidats seront ajoutés au repas de sang infectieux et les gènes régulant ces voies moléculaires seront ciblés chez le moustique par interférence ARN et chez les bactéries du microbiote

par manipulation génétique, selon des protocoles expérimentaux maîtrisés par les encadrants de thèse (Cuenca et al., 2016; Gendrin et al., 2015, 2017). L'impact de ces traitements sur l'infection sera quantifié en suivant la proportion de moustiques infectés et la charge infectieuse, et l'influence sur la fitness du moustique sera également évaluée.

Dans l'ensemble, ce projet apportera un éclairage nouveau sur l'implication du microbiote dans la transmission vectorielle, et pourra identifier de nouvelles molécules candidates pour le blocage de la transmission.

2°) Présentation des objectifs et enjeux de la thèse

Adéquation avec la politique scientifique de l'UG - Intérêt de la recherche dans le cadre du développement régional.

Ce projet s'intègre dans le pôle thématique de l'Université « Santé et écologie de la santé en milieu tropical ». En effet, les maladies vectorielles, incluant notamment le paludisme et les arboviroses, sont un fardeau pour la santé humaine au niveau mondial et touchent en particulier la Guyane, dont le climat est propice au développement des moustiques *Anopheles darlingi* et *Aedes aegypti*, respectivement vecteurs du paludisme et d'arboviroses (notamment dues aux virus du chikungunya, de la dengue et de Zika). Au niveau régional, 3 observations soulignent l'importance de plus en plus marquée de la lutte contre les maladies à transmission vectorielle : une recrudescence de paludisme a été observée en 2017 ; la dernière épidémie arbovirale, de Zika, a eu lieu il y a moins de 2 ans ; et enfin, les épidémies de dengue sont de plus en plus fréquentes, intenses et sévères depuis les années 1990. Cette lutte ne peut pas reposer uniquement sur l'utilisation d'insecticides existants du fait de la propagation de résistances aux insecticides en Guyane. Le développement de nouveaux moyens de lutte est donc particulièrement nécessaire.

Les microbes présents naturellement dans l'intestin de ces moustiques agissent comme des barrières à la transmission de ces maladies. Ce sujet de thèse vise à étudier les relations nutritionnelles entre les moustiques et ces microbes, et à leur influence sur la transmission vectorielle. Un tel effet des relations nutritionnelles sur les agents infectieux chez le moustique est suggéré par certaines publications, mais cela n'a pas encore été spécifiquement étudié.

Les résultats apportés par ce projet de thèse contribueront non seulement au rayonnement scientifique de la Guyane en caractérisant les interactions entre microbiote, agents infectieux et moustique selon un angle très novateur. Ils seront également un apport de santé publique, en avançant dans l'identification de molécules permettant de bloquer la transmission de ces maladies par les moustiques.

Références bibliographiques :

- Angleró-Rodríguez, Y.I., Talyuli, O.A., Blumberg, B.J., Kang, S., Demby, C., Shields, A., Carlson, J., Jupatanakul, N., and Dimopoulos, G. (2017). An *Aedes aegypti*-associated fungus increases susceptibility to dengue virus by modulating gut trypsin activity. *ELife* 6.
- Cirimotich, C.M., Dong, Y., Clayton, A.M., Sandiford, S.L., Souza-Neto, J.A., Mulenga, M., and Dimopoulos, G. (2011). Natural microbe-mediated refractoriness to *Plasmodium* infection in *Anopheles gambiae*. *Science* 332, 855–858.
- Cuenca, M., Pfister, S.P., Buschor, S., Bayramova, F., Hernandez, S.B., Cava, F., Kuru, E., Van Nieuwenhze, M.S., Brun, Y.V., Coelho, F.M., et al. (2016). D-Alanine-Controlled Transient Intestinal Mono-Colonization with Non-Laboratory-Adapted Commensal *E. coli* Strain HS. *PLOS ONE* 11, e0151872.
- Gendrin, M., and Christophides, G.K. (2013). The *Anopheles* Mosquito Microbiota and Their Impact on Pathogen Transmission. In *Anopheles Mosquitoes - New Insights into Malaria Vectors*, S. Manguin, ed. (InTech), p.
- Gendrin, M., Rodgers, F.H., Yerbanga, R.S., Ouédraogo, J.B., Basáñez, M.-G., Cohuet, A., and Christophides, G.K. (2015). Antibiotics in ingested human blood affect the mosquito microbiota and capacity to transmit malaria. *Nat. Commun.* 6, 5921.
- Gendrin, M., Turlure, F., Rodgers, F.H., Cohuet, A., Morlais, I., and Christophides, G.K. (2017). The Peptidoglycan Recognition Proteins PGRPLA and PGRPLB Regulate *Anopheles* Immunity to Bacteria and Affect Infection by *Plasmodium*. *J. Innate Immun.* 9, 333–342.
- Jadin, J. (1967). [Role of bacteria in the digestive tube of insects, vectors of plasmodidae and trypanosomidae]. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop. Parasitol. Mycol.* 47, 331–342.
- Osei-Poku, J., Mbogo, C.M., Palmer, W.J., and Jiggins, F.M. (2012). Deep sequencing reveals extensive variation in the gut microbiota of wild mosquitoes from Kenya. *Mol. Ecol.* 21, 5138–5150.
- Ramirez, J.L., Souza-Neto, J., Torres Cosme, R., Rovira, J., Ortiz, A., Pascale, J.M., and Dimopoulos,

G. (2012). Reciprocal tripartite interactions between the *Aedes aegypti* midgut microbiota, innate immune system and dengue virus influences vector competence. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6, e1561.
Ramirez, J.L., Short, S.M., Bahia, A.C., Saraiva, R.G., Dong, Y., Kang, S., Tripathi, A., Mlambo, G., and Dimopoulos, G. (2014). *Chromobacterium Csp_P* reduces malaria and dengue infection in vector mosquitoes and has entomopathogenic and in vitro anti-pathogen activities. *PLoS Pathog.* 10, e1004398.

Les étudiants candidats au sujet de thèse proposé doivent fournir aux porteurs du sujet et leur directeur de laboratoire les pièces suivantes :

Pièces à joindre au dossier :

- Copie d'une pièce d'identité
- Copie du diplôme Master (DEA ou équivalent)
- Copies des relevés de notes licence (L3) et master (M1 et M2)
- Une lettre de motivation du candidat
- CV complet
- Justificatif activité professionnelle si salarié(e)

 **LES DOSSIERS INCOMPLETS SERONT REFUSÉS**