

Lyon, 22-23 mars 2018



Consortium anti-parasitaire &-fongique (CaPF)

<https://acapf.wordpress.com>

8^{èmes} journées



Boehringer
Ingelheim



Boehringer Ingelheim – Le Boréal
29 avenue Tony Garnier, 69007 Lyon



Université Claude Bernard Lyon 1



Faculté des Sciences et Technologies



ONLY LYON
TOURISME ET CONGRÈS

Liste des participants

Prénom	Nom	Appartenance
Chérif	ADOUAMA	ICBMS, UCBL
Nushin	AGHAJARI	MMSB, UCBL, CaPF
Samira	AZZOUZ-MAACHE	UCBL, CaPF
Lionel	BALLUT	MMSB, UCBL, CaPF
Frédéric	BEUGNET	Boehringer, CaPF
Anne-Lise	BIENVENU	ICBMS, UCBL, CaPF
Guillaume	BONNOT	ICBMS, UCBL
Jean-Philippe	BOUILLON	COBRA Rouen, CAPF
Clotilde	BOUDOT	Univ. Limoges, CaPF
Bernard	BOUTEILLE	Univ. Limoges, CaPF
Alain	BUGUET	UCBL, CaPF
Raymond	CESPUGLIO	CRL, UCBL, CaPF
Thomas	CHEVIET	Univ. Montpellier, <i>PhD</i>
Lea	CONCHOU	MMSB, étudiante UCBL, CaPF
Eric	DANNOUI	Hopital Georges Pompidou, CaPF
Elisabeth	DAVIOUD-CHARVET	Univ. Strasbourg, CaPF
Françoise	DEBIERRE-GROCKIEGO	Univ. Limoges, CaPF
El Hadji	DIAWARA	Univ. Rouen, <i>PhD</i>
Christian	EPE	Boehringer, CaPF
Régine	FERREIRA	ICBMS, UCBL
Isabelle	FLORENT	MNHN, Paris, CapF
Frédéric	FREZARD	BIOCIS, Chatenay-Malabry, CaPF
Frédéric	GALISSON	MMSB, UCBL, CaPF
Gilles	GARGALA	Univ. Rouen, CapF
Gilles	GASSER	PSL, Paris, CaPF
Lénaïg	HALOS	Boehringer, CaPF
Ines	KOUAKOU	Etudiante UCBL
Adeline	LAVOIGNAT	ICBMS, UCBL
Philippe	LAWTON	UCBL, CaPF
Wilfried	LEBON	Boehringer, CaPF
Gilles	LEBOUCHER	HCL
Philippe	LOISEAU	BIOCIS, Chatenay-Malabry, CaPF
Maurice	MEDEBIELE	ICBMS, UCBL, CaPF
Flore	NARDELLA	Post-doc, Institut Pasteur
Alioune	NDOUR	INSERM Paris, CaPF
Julien	PEDRON	LCC, Toulouse, CaPF
Suzanne	PEYROTTE	Univ. Montpellier, CAPF
Stéphane	PICOT	ICBMS, UCBL, CaPF
Mickael	RIOU	INRA, CaPF
Anne	ROBERT	Univ. Toulouse, CapF
Jérémy	SCHNEIDER	Univ. Picardie, CaPF, <i>PhD</i>
Marielle	SERVONNET	Boehringer, CaPF
Alexis	VALENTIN	IRD, Univ. Toulouse, CaPF
Sébastien	VIOLOT	MMSB, UCBL, CaPF
Catherine	VONTHRON	Univ. Strasbourg, CaPF

Programme

Jeudi 22 Mars

- 13:00-14:00 Accueil et enregistrement des participants, remise des badges - Pause Snack
- 14:05-14:25 Ouverture du congrès - Anne-Lise Bienvenu, Présidente du CaPF et Comité local d'organisation
- 14:30-15:00 **PL1:** C. EPE - BOEHRINGER - INGELHEIM : Drug Discovery in Veterinary Parasitology: an overview
- 15:05-15:20 G. Gasser : Organometallic Compounds as Antiparasitical and Antifungal Drug Candidates
- 15:25-15:45 J. Pedron- C. Boudot: Synthèse et évaluations biologiques de nouvelles 8-nitroquinoléin-2(1H)-ones antiparasitaires
- 15:50-16:10 Pause-café
- 16:15-16:45 **PL2:** F. FREZARD - Universidade Federal de Minas Gerais : New antimony complexes and nanocarriers to target the leishmania parasite and the host-cell
- 16:45-17:00 P. Loiseau : Design of antileishmanial drugs targeting host cell vesicular trafficking : toward a drug candidate
- 17:05-17:20 A. Robert : L'hème, cible thérapeutique : de Plasmodium à Schistosoma
- 17:25-17:40 G. Gargala : Infection cryptique à Plasmodium ovale concomitante d'une infection mixte à P. falciparum et P. malariae chez deux enfants de République Centrafricaine
- 19:05-22:30 Apéritif de bienvenue et dîner
- 20:00-22:30 Dîner chez Argenson

Vendredi 23 Mars

- 08:45-9:00 F. Nardella : PfSET7 methyltransferase as a new target for transmission-blocking strategies against P. falciparum
- 9:00-9:15 J. Schneider : New Antimalarial Aminofluorene-methanol derivatives: Synthesis and Biological Evaluation
- 9:15-9:30 M. Médebielle : gamma-hydroxy-gamma-lactam derived tetramates as a new family of antimalarials

9:35-10h05 **PL3:** **N. AGHAJARI & L. BALLUT** - MMSB CNRS-UCBL : Apport de la cristallographie aux rayons X des protéines dans la conception des nouveaux médicaments

10:05-10:35 Pause-Café

10:35-11:15 **PL3** suite : **N. AGHAJARI & L. BALLUT** - MMSB CNRS-UCBL : Apport de la cristallographie aux rayons X des protéines dans la conception des nouveaux médicaments

11:20-11:35 S. Violot : Automation of differential scanning fluorimetry screening of bioactive molecules

11:40-11:55 A. Buguet : Le sommeil dans la maladie du sommeil : un développement décevant

12:00-14:00 Déjeuner

14:05-14:35 **PL4:** **G. LEBOUCHER** - HCL : Etapes de développement d'un médicament

14:40-14:55 M. Riou : Etude in vitro de l'effet ovicide et larvicide de dérivés ferrocéniques et quinoléiques des Benzimidazoles vis-à-vis d'*Haemonchus contortus*

15:00-15:15 E. Dannaoui : Apport du modèle invertébré *Galleria mellonella* pour évaluer l'efficacité des antifongiques dans l'aspergillose invasive

15:20-15:35 Pause-Café

15:40-15:55 E.H. Diawara : Efficacité anticryptosporidienne de l'administration parentérale d'aminoxanide (RM-5061) dans un modèle de gerbille immunodéprimée infectée par *C. parvum*

16:00-16:30 F. Debierre : Des imidazopyridazines ciblant la TgCDPK1 diminuent fortement la transmission de *Toxoplasma gondii* dans un modèle murin de toxoplasmose congénitale

16:35-16:50 I. Florent : Role des Bile Salt Hydrolases dans le contrôle de *Giardia* par des lactobacilles, in vitro et in vivo

16:50-17:00 Clôture des Journées

Liste des abstracts

Drug Discovery in Veterinary Parasitology: an overview

C. Epe^a, L. Le Hir de Fallois^a, and P. Selzer^{b*}

^aBoehringer Ingelheim Animal Health, Pharma Discovery & Research, Duluth, USA

^bBoehringer Ingelheim Animal Health, Pharma Discovery & Research, Ingelheim, Germany

**Corresponding author's e-mail address (Times New Roman, italicized in 10 pt.)*

Drug Discovery in Veterinary Parasitology is driven by different sources: there is the access to compound libraries in either the mother company's human health division which can be made accessible to a high throughput whole organism screen, but equally a crop science compound library is of interest as a potential source for compounds. In parallel, all AH companies run a more or less sophisticated surveillance system of published patents in the field of animal health, crop science and more and more adjacent disciplines like human parasites in neglected diseases (like filarioses). Those patents can be used to generate new, "own" IP space for patent protection, often called 'fast follower' projects. But in recent years, more and more potential and promising molecular targets are described in literature which triggers the need to establish a target identification approach to supplement the parasite screening.

Generalised Parasiticide Discovery setup

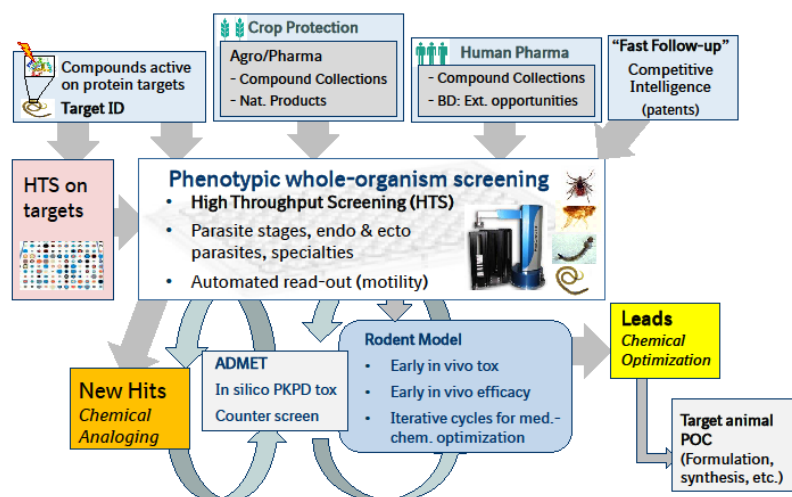


Fig 1.: Potential Generic Parasiticide Discovery Flowchart

The setup in best case is fairly agnostic to the source, and the assessment of the quality of compounds to apply is complex, often computational and more and more influenced by bioinformatics, cheminformatics [1] etc, and mainly chemistry driven. Each company seems

to believe to have the ‘best’ system [2]. Still, a good portion of serendipity is used particularly to describe novel mode of actions in the whole organism screen. An overview of potential parameters for including compounds will be given in the presentation, as well as a visualization of a screening cascade, prototyped in the Fig. 1:

The rational drug target approach is highly depending on external collaboration or published knowledge [3]. It is focused on Ion channel receptor classes right now, expanding rapidly, but still highly incomplete. Particularly true novel modes of action (moas) are not reliably identifiable as basic knowledge is a prerequisite for target ID work. The phenotypic high throughput screen, on the other hand, contains a bias towards a motility assay read out as a limitation, and mitigation of this bias is not trivial and remains imperfect.

In general, once hits show up and continue to produce favorable data in accompanying assays for assessing safety, physico-chemical characteristics predicting ‘drugability’, and if synthesis costs are not deemed to be prohibitive, this hit molecule can become a lead molecule. On top of med.-chem. optimization, parallel assessment of a complex cascade of other parameters like formulation, IP space, safety (including user safety) and of course in vivo efficacy is applied towards a successful proof of concept (POC) before entering the development stage which bears the heavy investment for generating the registration dossier.

Examples of successful compounds like ivermectin, fipronil and the recent class of isoxazolines will be described to show different strategies towards a drug registration and as a general benchmark of time and resource consumption of this.

In recent years, more work is seen and published from non-profit organisations like DNDI and BMGF (Bill and Melinda gates Foundation) or in collaborations with those and Health companies in the field of neglected diseases, tropical filariasis (Onchocerosis) and Schistosomosis. This work contributes significantly in the advancement of knowledge about target receptors of those parasites and beyond.

The presentation will cover in more detail current knowledge, obstacles and promises in drug discovery, give some examples, closing with an outlook of what might be or become possible in near future.

- [1] A. Krasky, A. Rohwer, J. Schroeder, P.M. Selzer, Genomics 89 (2007) 36-43.
- [2] R. Kaminsky, L. Rufener, J. Bouvier, R. Lizundia, S. Schorderet Weber, H. Sager, Vet Par. 195 (2013) 286-291
- [3] R. Martin, A. Wolstenholme, C. Caffrey IJP DDS 3 (2016) 297-298

Organometallic Compounds as Antiparasitical and Antifungal Drug Candidates

G. Gasser,^a

^aChimie ParisTech, PSL Research University, Laboratory for Inorganic Chemical Biology, Paris, France

*gilles.gasser@chimie-paristech.fr

Pioneered by the works of Brocard, Biot and co-workers, the use of organometallic compounds to fight parasitic diseases such as malaria is nowadays a hot topic in medicine.[1, 2] Our group has been working over the last years towards the development of novel organometallic drug candidates against the human parasitic disease schistosomiasis[3-7] (see Fig. 1 for examples of compounds investigated in our group), against parasites of livestock animals[8-10] as well as fungal infections.[11] During this talk, we will present our latest *in vitro* and *in vivo* results, emphasizing the role of the metal in the action of the metal-based drug candidates.

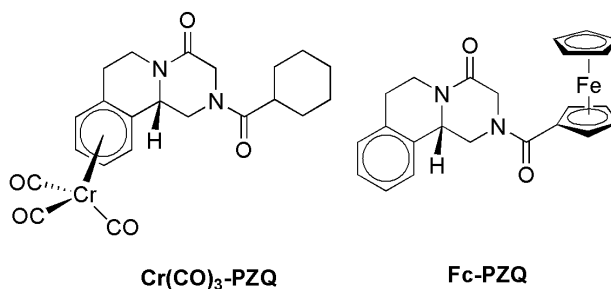


Figure 1. Structures of organometallic compounds studied as antischistosomal drug candidates in our group.

References

- [1] M. Patra, G. Gasser *Nature Rev. Chem.*, 1 (2017) 0066.
- [2] C. Biot, G. Glorian, L.A. Maciejewski, J. Brocard, *J. Med. Chem.*, 40 (1997) 3715-3718.
- [3] J. Hess, J. Keiser, G. Gasser *Future. Med. Chem.*, 8 (2015) 821-830.
- [4] J. Hess, G. Panic, M. Patra, L. Mastrobuoni, O. Blacque, S. Roy, J. Keiser, G. Gasser, *ACS Infect. Dis.*, 3 (2017) 645-652.
- [5] M. Patra, K. Ingram, V. Pierroz, S. Ferrari, B. Spingler, R.B. Gasser, J. Keiser, G. Gasser, *Chem. Eur. J.*, 19 (2013) 2232-2235.
- [6] M. Patra, K. Ingram, A. Leonidova, V. Pierroz, S. Ferrari, M. Robertson, M.H. Todd, J. Keiser, G. Gasser *J. Med. Chem.*, 56 (2013) 9192-9198.
- [7] M. Patra, K. Ingram, V. Pierroz, S. Ferrari, B. Spingler, J. Keiser, G. Gasser, *J. Med. Chem.*, 55 (2012) 8790-8798.
- [8] J. Hess, M. Patra, A. Jabbar, V. Pierroz, S. Konatschnig, B. Spingler, S. Ferrari, R.B. Gasser, G. Gasser, *Dalton Trans.*, 45 (2016) 17662-17671.
- [9] J. Hess, M. Patra, L. Rangasamy, S. Konatschnig, O. Blacque, A. Jabbar, P. Mac, E.M. Jorgensen, R.B. Gasser, *Chem. Eur. J.*, 22 (2016) 16602-16612.
- [10] J. Hess, M. Patra, V. Pierroz, B. Spingler, A. Jabbar, S. Ferrari, R.B. Gasser, G. Gasser, *Organometallics*, 35 (2016) 3369-3377.
- [11] R. Rubbiani, O. Blacque, G. Gasser *Dalton Trans.*, 45 (2016) 6619-6626.

Synthèse et évaluations biologiques de nouvelles 8-nitroquinoléin-2(1H)-ones antiparasitaires.

J. Pedron;^{a,*} C. Boudot;^{b,*} S. Hutter;^c S. Bourgeade-Delmas;^d L. Paloque;^a A. Sournia-Saquet;^a A. Moreau;^a J-L. Stigliani;^a
S. Wyllie;^e A. Fairlamb;^e M. Laget;^c G. Pratviel;^a N. Azas;^c B. Courtioux;^b A. Valentin;^d and P. Verhaeghe;^a.

^aLCC, Université de Toulouse, UPR CNRS 8241, 205 Route de Narbonne, 31400 Toulouse.

^bUniversité de Limoges, INSERM UMR 1094 NET, 2 rue du Dr Marcland, 87025 Limoges.

^cIHU Méditerranée Infection, UMR VITROME, 19-21 Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille

^dPHARMA-DEV, Université de Toulouse, UMR-IRD 152, 35 Chemin des Maraîchers, 31400 Toulouse.

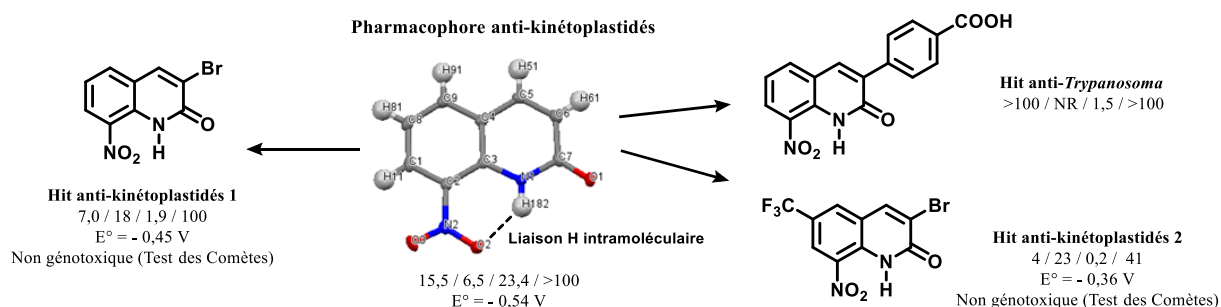
^eUniversity of Dundee, School of Life Sciences, DRUG DISCOVERY UNIT, Dow Street, Dundee DD1 5EH.

*julien.pedron@lcc-toulouse.fr et clotilde.boudot@unilim.fr

Les kinétoplastidés sont des protozoaires flagellés responsables de **maladies tropicales négligées mortelles** telles que la **leishmaniose viscérale** (*L. donovani* et *L. infantum*) ou la **trypanosomiase africaine** (*T. brucei*), auxquelles plus de 500 millions de personnes sont exposées et pour lesquelles les traitements disponibles sont très limités [1,2]. Depuis quelques années, on observe un regain d'intérêt pour le développement de **nitrohétérocycles** anti-infectieux tels que le delamanide et le **fexinidazole** [3,4]. De récentes études indiquent que l'activité anti-kinétoplastidés de ces dérivés repose sur leur réduction sélective par des **nitroréductases** parasitaires (**NTR1** et **NTR2** chez *Leishmania*, **NTR** chez *Trypanosoma*), conduisant à la formation de métabolites cytotoxiques [5-7].

Suite à des travaux préliminaires réalisés dans notre équipe en série 8-nitroquinoléin-2(1H)-ones [8-10], nous présentons ici la **synthèse** de 60 nouveaux hétérocycles nitro-aromatiques, l'étude de leurs **propriétés physico-chimiques** (incluant les potentiels de réduction) et **pharmacocinétiques in vitro** (stabilité microsomale et fixation aux protéines plasmatiques), de leur activité **anti-kinétoplastidés in vitro** de même que la recherche de leur **mécanisme d'action** et l'étude de leur cytotoxicité et génotoxicité. Ainsi, ce travail nous a permis d'identifier **3 nouveaux hits** (2 anti-kinétoplastidés et 1 sélectif de *Trypanosoma*) et d'observer une **corrélation** entre les potentiels de réduction et l'activité antileishmanienne et, pour les molécules concernées, de démontrer la **bioactivation** par la **NTR1** chez *L. donovani*. Enfin ces molécules n'étant pas génotoxiques vis-à-vis de cellules humaines, **des études in vivo** sur un modèle murin de trypanosomiase sont en cours dans le but de statuer sur le devenir de ces molécules en tant que candidats antiparasitaires humains ou vétérinaires.

Pour chaque molécule : CI₅₀ *L. infantum* ama. axé. (µM) / CI₅₀ *L. donovani* ama. intramacro. (µM) / CI₅₀ *T. brucei brucei* trypo. (µM) / CC₅₀ HepG2 (µM) / NR = Non relevant.



Composés de référence : Miltéfosine : 0,8 / 6,8 / NR / 85. Féxinidazole : 3,4 / >50 / 0,6 / >100. Suramine : NR / NR / 0,03 / >100.

Références : [1] B. Zulfiqar *et al.* Drug. Discov. Today., (2017) 1516-1531 [2] D. Pace *et al.* J. Infect., 69 (2014) S10-S18 [3] S. Wyllie *et al.* Sci. Transl. Med., 4 (2012) 1-7 [4] E. Torreele *et al.* Plos Negl. Trop. Dis., 12 (2010) e923 [5] S. Patterson *et al.* Trends Parasitol., 30 (2014) 289-298 [6] S. Wyllie *et al.* PLOS Pathogens, 12 (2016) e1005971 [7] B. Hall *et al.* Antimicrob. Agents Chemother., 54 (2010) 1193-1199 [8] L. Paloque *et al.* Eur. J. Med. Chem. 54 (2012) 75-86 [9] C. Kieffer *et al.* Eur. J. Med. Chem. 92 (2015) 282-294 [10] C. Kieffer *et al.* Bioorg. Med. Chem. 23 (2015) 2377-2386.

New antimony complexes and nanocarriers to target the leishmania parasite and the host-cell

J. S. Lanza;^a G. S. Ramos;^a M. L. Gomes;^b C. C. P. Dos Santos;^a A. Islam;^a S. M. Silva;^c R. Monte-Neto;^d G. Silva;^b M. N. Melo;^e R. T. Fujiwara;^e L. O. Ladeira;^f S. Cojean;^g S. Pomel;^g Y. M. Idemori;^b C. Demicheli;^b P. M. Loiseau^g and F. Frézard^{a,g,*}

^aDept. Physiology & Biophysics - ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

^bDept. Chemistry - ICEX, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

^cInstitute of Biomedical Sciences, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brazil

^dInstituto René Rachou - IRR/Fiocruz Minas, Belo Horizonte, Brazil

^eDept. Parasitology - ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

^fDept. Physics - ICEX, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

^gAntiparasitic Chemotherapy, UMR 8076 CNRS, IFR-IPSIT, Université Paris-Saclay, Chatenay-Malabry, France

*frezardf@gmail.com

Current treatments of leishmaniasis have several drawbacks including side effects, resistance development and high cost, requiring new more effective antileishmanial approaches. Considering that *Leishmania* species are obligate intracellular parasites of cells of the macrophage-dendritic cell lineage, strategies based on targeting the parasite and also the host cell have been explored. Here, we report the antileishmanial targeting strategies under investigation by our group and the most promising results. Targeting the parasite relies on the identification of essential parasite molecular pathways. In that sense, we have synthesized new metalloporphyrin derivatives,^[1] with the idea that they may interfere with the pathways of heme import or detoxification. An antimony(V)-porphyrin complex was found to be equally active against Sb(III)-sensitive and -resistant promastigotes. This complex was more active against intracellular amastigotes, when compared to the promastigote form. Evaluation of its in vitro cytotoxicity revealed a high selectivity index, in the range of 20-30. The complex also inhibited the sterol biosynthesis pathway. Whether it acts through impairment of the heme import pathway remains to be determined. Targeting strategies of the host-cell comprise those aimed at enhancing the host microbicidal activity and carrier-mediated drug delivery. In this context, we demonstrated that the immunomodulator fullerol is a potential antileishmanial agent, through in vitro and in vivo studies in experimental models of leishmaniasis. Its incorporation in liposomes further enhanced its antileishmanial activity in a murine model of visceral leishmaniasis. We also synthesized amphiphilic antimony(V) complexes,^[2] which showed high rate of antimony accumulation in the host-cell and were found to be active by the oral route. Finally, we developed different liposome formulations of antimonial drug that were investigated for their therapeutic efficacy and safety in naturally infected dogs.^[3] Financial support : from Brazilian agencies CNPq, CAPES and FAPEMIG and Programme d'Investissements d'Avenir de l'ANR.

Références

- [1] M.L. Gomes, G. DeFreitas-Silva, P.G. dos Reis, M.N. Melo, F. Frézard, C. Demicheli et Y.M. Idemori, J. Biol. Inorg. Chem., 20 (2015) 771-779.
- [2] J.S. Lanza, F.R. Fernandes, J.D. Corrêa-Júnior, J.M. Vilela, R. Magalhães-Paniago, L.A. Ferreira, M.S. Andrade, C. Demicheli, M.N. Melo et F. Frézard, Int. J. Nanomedicine, 11 (2016) 2305-2318.

[3] S.M. Da Silva, I.F. Amorim, R.R. Ribeiro, E.G. Azevedo, C. Demicheli, M.N. Melo, W.L. Tafuri, N.F. Gontijo, M.S. Michalick et F. Frézard, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 56 (2012) 2858-2867.

Design of antileishmanial drugs targeting host cell vesicular trafficking : toward a drug candidate

Sébastien Pomel¹, Sandrine Cojean¹, Yu Wu³, Alain Pruvost², Jean-Christophe Cintrat³, Joel Vacus⁴, Julien Barbier³, Daniel Gillet³, Philippe M. Loiseau¹

¹ Antiparasitic Chemotherapy, UMR 8076 CNRS BioCIS, Université Paris-Sud, Chatenay-Malabry, France,

² iBiTec-S SPI

³ SIMOPRO, CEA Saclay, France

⁴ Drugabilis, Chatenay-Malabry, France

*Corresponding author's e-mail address: philippe.loiseau@u-psud.fr

Leishmaniasis are a complex of tropical and sub-tropical diseases provoked by *Leishmania* protozoan parasites transmitted by the sandfly vector and presenting different clinical expressions. In 2017, about 12 million humans are affected by leishmaniasis but global climate warming and population movements increase spreading of the diseases.

The anti-leishmanial chemotherapy is expensive, as specific therefore toxic, and drug resistance is usual or at risk, mainly to antimonials, the most classical drugs, and recently to miltefosine and amphotericin B.

New therapeutic approaches are necessary. As parasites such as *Leishmania* successfully thrive in host cells because they divert the intracellular trafficking machinery to maintain their parasitophorous vacuole in which they proliferate, inhibitors of key elements of this diverted machinery should handicap the parasite survival.

From an identification by HTS of compounds blocking the retrograde transport of toxins and active against *Leishmania amazonensis*, this study aims to identify a drug-candidate for the treatment of leishmaniasis having the following characteristics:

- An original mechanism of action that interferes with vesicle trafficking in host-cell impairing the development of the vacuole in which the parasite proliferates
- No direct and intrinsic antiparasitic activity on the parasite itself in order to reduce the risk of drug resistance emergence
- A suitable drugability for oral or intravenous administration

A chemical series exhibits interesting activities both *in vitro* on intramacrophage amastigotes with IC₅₀ values around 40 nM, and *in vivo* on the *Leishmania infantum*/Balb/C mice model according to a flow-chart that has been established to select the most promising compounds. A confocal imaging approach showed that some compounds exert a blockage of the fusion between *Leishmania infantum* parasitophorous vacuoles and lysosomes during *Leishmania* infection. Up to now, two compounds emerge on the basis of *in vivo* activity, lack of toxicity, metabolic stability and pharmacokinetics profile.

L'hème, cible thérapeutique : de *Plasmodium* à *Schistosoma*

A. Robert^{a*} B. Meunier^{a,b}

^aLaboratoire de chimie de coordination du CNRS (LCC-CNRS), Toulouse, France.

^bGuangdong University of Technology (GDUT), Guangzhou, Chine.

*anne.robert@lcc-toulouse.fr

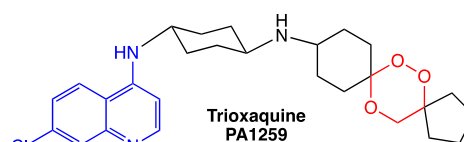
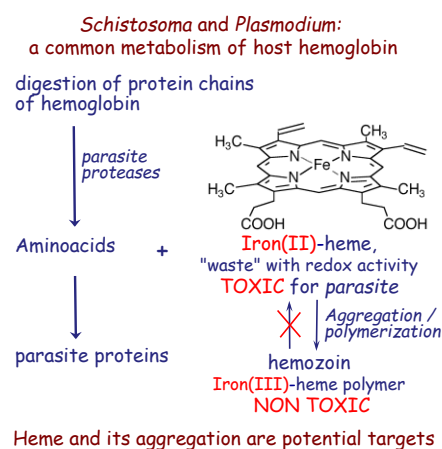
La schistosomiase (ou bilharziose), qui atteint plus de 200 millions de personnes, dans 75 pays. Peu de recherches ont été faites dans ce domaine depuis une trentaine d'années. De nombreux cas de résistance au praziquantel, seul médicament anti-schistosomiase actuellement utilisé en clinique humaine, sont maintenant décrits. En l'absence de vaccin, il est indispensable de trouver de nouvelles molécules actives.

Comme *Plasmodium*, *Schistosoma* est un parasite hématophage qui dégrade l'hémoglobine de son hôte. Ce processus métabolique libère de l'hème-fer(II), complexe métallique capable d'induire la réduction de l'oxygène moléculaire et de catalyser ainsi la production de radicaux hydroxyle toxiques. Pour éviter de s'empoisonner avec l'hème qu'il a lui-même généré, le parasite polymérise l'hème en hémozoïne, produit dans lequel le fer de l'hème est au degré d'oxydation (+III), incapable de réduire O₂. Ce métabolisme de détoxification, essentiel à la survie du parasite, est donc une cible thérapeutique privilégiée.

La similitude du métabolisme de l'hème chez *Plasmodium* et *Schistosoma* nous a conduits à évaluer, chez le schistosome, l'activité des trioxaquinés qui sont des antipaludiques comportant une fonction endoperoxyde, curatifs par voie orale chez la souris [1-4].

Après traitement par voie orale de souris infectées par *S. mansoni*, la trioxaquine PA1259 conduit à une réduction importante de la charge parasitaire. De plus, un effet synergique est observé sur les stades juvéniles du parasite, lorsque cette molécule est administrée en association avec le praziquantel.

À la différence de cibles biologiques sophistiquées, l'hème est un complexe de fer plan et achiral qui joue un rôle décisif dans l'activité biologique d'antiparasitaires sanguins comportant un endoperoxyde. Ce mécanisme d'action sera discuté.



[1] B. Meunier, A. Robert, Acc. Chem. Res., 43 (2010) 1444-1451.

[2] A. Robert, F. Benoit-Vical, C. Claparols, B. Meunier, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 102 (2005) 13676-13680.

[3] J. Boissier, F. Coslédan, A. Robert, B. Meunier, Antimicrob. Agents Chemother., 53 (2009) 4903-4906.

[4] J. Portela, J. Boissier, B. Gourbal, V. Pradines, V. Collière, F. Coslédan, B. Meunier, A. Robert, PLoS Negl. Trop. Dis., 6 (2012) 1474.

Infection cryptique à *Plasmodium ovale* concomitante d'une infection mixte à *P. falciparum* et *P. malariae* chez deux enfants de République Centrafricaine.

C. Bichara^a, P. Flahaut^b, D. Costa^a, AL. Bienvenu^{c,d}, S. Picot S^{c,d} and G. Gargala^{a*}

a - Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Rouen, F 76 000, Rouen, France

b - Département de Pédiatrie, CHU de Rouen, F 76 000, Rouen, France

c - Malaria Research Unit, SMITH, ICBMS UMR 5246 CNRS, University Lyon 1, Lyon, France.

d - Institut de Parasitologie-Mycologie Médicale, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

* gilles.gargala@univ-rouen.fr

Contexte : Dans une zone d'endémie palustre donnée, la présence de plusieurs espèces plasmodiales accroît la probabilité pour un individu infecté dans cette zone d'être co-infecté par plus d'une espèce de *Plasmodium*. Dans de nombreuses infections palustres mixtes, la parasitémie des espèces cryptiques est inférieure au seuil de détection par microscopie et dans la pratique clinique, ces infections mixtes sont souvent non diagnostiquées [1, 2, 3, 4].

Cas clinique : Un frère et sa sœur, respectivement âgés de 6 et 3 ans, récemment adoptés de République Centrafricaine, sont admis au CHU de Rouen en raison d'une fièvre intermittente. Des frottis sanguins minces (FS) colorés par le MGG révèlent une co-infection par *P. falciparum* et *P. malariae* chez les deux enfants lors de leur admission. Ils sont tous deux traités par l'association atovaquone-proguanil pendant trois jours. A J7, leurs FS respectifs sont négatifs mais à J28, leurs FS sont de nouveau positifs et révèlent la présence de trophozoïtes de *P. malariae* pour la fille et de *P. ovale* pour son frère. La PCR en temps réel réalisée sur les échantillons prélevés au à J1 et à J28 révèle la présence des 3 espèces plasmodiales (*P. falciparum*, *P. malariae* et *P. ovale*) dans les échantillons sanguins des 2 enfants prélevés à l'admission mais seulement de *P. ovale* à J28.

Conclusions : Un suivi de 28 jours après traitement a permis la détection d'une 3^{ème} espèce parasitaire dans le sang de ces deux enfants, suggérant une co-infection occulte et l'émergence retardée d'une espèce cryptique après traitement. Au cours d'une co-infection, chacune des espèces plasmodiales pourrait avoir un effet suppressif sur la croissance des autres, *P. falciparum* ayant tendance à dominer les autres espèces. On manque de recommandations concernant le traitement des infections mixtes et les cas cliniques comme celui présenté ici plaident en faveur de recommandations qui doivent prendre en compte ce risque d'infection par des espèces plasmodiales présentant une sensibilité différente aux antipaludiques. Cliniciens et biologistes ne doivent pas méconnaître d'une part l'existence de ces infections mixtes par des espèces cryptiques dont la fréquence est sous-estimée et d'autre part l'importance du suivi à J28 des patients traités. Les futures recommandations devraient préciser le traitement des infections mixtes et l'intérêt de l'utilisation de combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine pour les espèces *falciparum* et non *falciparum*.

Références :

- [1] M. Mayxay, S. Pukrittayakamee, PN. Newton et NJ. White. Trends Parasitol. 20 (2004) 233-240.
- [2] Snounou G. Trends Parasitol. 20 (2004) 262-265.
- [3] J. Black, M. Hommel, G. Snounou et M. Pinder. Lancet. 343 (1994)1095.
- [4] S. Looareesuwan, NJ. White, S. Chittamas, D. Bunnag et T. Harinasuta. Lancet. 2 (1987) 1052-4055.

PfSET7* methyltransferase as a new target for transmission-blocking strategies against *P. falciparum

F. Nardella^a P. Chen;^a S. Ding;^a R. Peronet;^a S. Mecheri^a and A. Scherf^{a,*}

^a *Unité Biologie des Interactions Hôte-Parasite, Département de Parasites et Insectes Vecteurs, Institut Pasteur, CNRS ERL 9195, INSERM Unit U1201, 25-28 Rue du Dr Roux, Paris 75015, France.*

**artur.scherf@pasteur.fr*

Malaria was responsible for 216 million cases and 445,000 deaths in 2016. It's the first year since the implementation of the WHO global malaria program that the death rate is not decreasing [1]. This can be partly attributed to the increasing resistance to antimalarials and notably to the artemisinin combination therapy Dihydroartemisinin-Piperaquine. New strategies to treat malaria are thus needed with an emphasis on transmission-blocking strategies to decrease the likeliness of drug resistance spreading.

We are interested in targeting the epigenetic pathways of *Plasmodium* since they are indispensable for the parasite adaptability to different environments and are implicated in the sexual stage commitment [2]. There are ten putative Histone Methyl Transferases (HMT) in *Plasmodium falciparum*, among which six are refractory to knock-out in asexual blood stages [3]. We produced specific antibody against five of them, allowing us to study their subcellular localization in the different stages of the *Plasmodium* life cycle. These proteins are expressed in every stage so far analyzed (asexual blood and hepatic stages, gametocytes and sporozoites), which make them attractive targets. We were able to produce an active form of PfSET7 that is methylating histone *in vitro* but which is more likely a non-histone protein methyltransferase given its subcellular localization outside the nucleus [4]. Recent work has shown that PfSET7 staining is punctuated in the stage II to V gametocytes and that the protein seems to be processed during the gametocytogenesis. We are currently working to understand the implications of this processing. In parallel, we are putting in place a high throughput assay to screen for inhibitors from GSK chemical library that may help us to better understand the function and targets of PfSET7.

Références

[1] World Malaria Report 2017.

[2] Poran, A., Nötzel, C., Aly, O., Mencia-Trinchant, N., Harris, C.T., Guzman, M.L., Hassane, D.C., Elemento, O., and Kafack, B.F.C. (2017). Single-cell RNA sequencing reveals a signature of sexual commitment in malaria parasites. *Nature*.

[3] Cui, L., Fan, Q., Cui, L., and Miao, J. (2008). Histone lysine methyltransferases and demethylases in *Plasmodium falciparum*. *Int. J. Parasitol.* 38, 1083–1097.

[4] Chen, P.B., Ding, S., Zanghi, G., Soulard, V., DiMaggio, P.A., Fuchter, M.J., Mecheri, S., Mazier, D., Scherf, A., and Malmquist, N.A. (2016). *Plasmodium falciparum* PfSET7: enzymatic characterization and cellular localization of a novel protein methyltransferase in sporozoite, liver and erythrocytic stage parasites. *Scientific Reports* 6.

New Antimalarial Aminofluorenemethanol derivatives: Synthesis and Biological Evaluation

J. Schneider^{*}; A. Dassonville-Klimpt; C. Demailly-Mullie and P. Sonnet

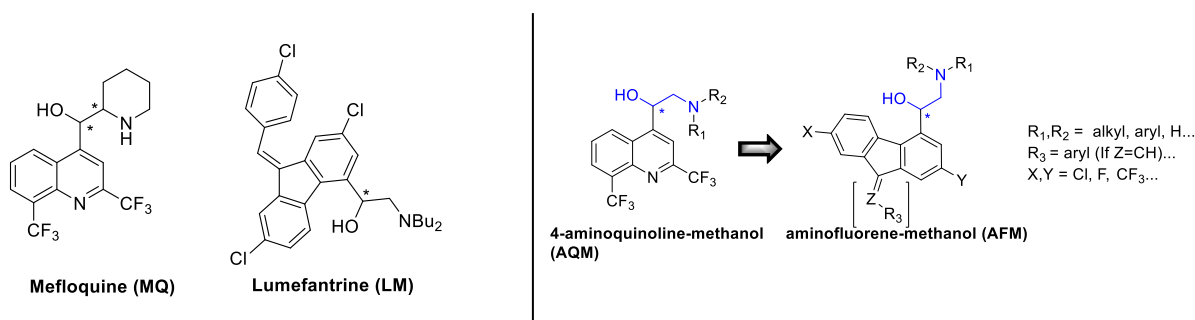
Agents Infectieux, Résistances et chimiothérapie (AGIR), UFR de pharmacie, Université de Picardie Jules-Verne, 1 rue des Louvels, 80037 Amiens Cedex, France.

**jeremy.schneider@etud.u-picardie.fr*

Malaria is a neglected tropical disease that remains a leading cause of morbidity and mortality among the world's poorest populations. This parasitosis is endemic in more than 100 tropical and sub-tropical countries. In 2015, 210 million cases were reported and almost 430 000 deaths, mainly affecting children.^a Among the five species of *Plasmodium* responsible for human malaria, *P. falciparum* is the parasite which causes the most serious form of the disease. More recent efforts focused on the development of antimalarial vaccines and since 2001, World Health Organization (WHO) recommends artemisinin-based combination therapies (ACTs).^{a,b} In drugs resistance areas, several antimalarial drugs, such as aminoaryl-alcohol (mefloquine (MQ), lumefantrine (LM)), are currently used in combination with artemisinin derivatives. However, the emergence of multi-drug-resistant parasites decreases efficacy of ACTs. Thus, the design of new active compounds on *Plasmodium*-resistant strains is urgently.

We have previously developed an asymmetric synthesis to prepare 4-aminoquinoline-methanol enantiomers (AQM) as MQ analogs.^c They were active on nanomolar range against 3D7 (chloroquine-sensitive) and W2 (chloroquine-resistant) *P. falciparum* strains. Interestingly, (*S*)-enantiomers displayed an activity increased by 2 to 15-fold as compared to their (*R*)-counterparts. These compounds, like aminoaryl-alcohol (MQ, LM), acts on the intra-erythrocytic asexual stages but their mechanisms of actions remain to be explored.^{d,e}

In continuation of our work, concerning the aminoaryl-alcohol families, we present here a series of new aminofluorenemethanol derivatives (AFM) as LM analogs. We will describe the synthesis and the antimalarial activity of this new fluorene family. Structure-activity relationships of these new synthetic compounds will be also discussed, especially in regard with the change of the heterocycle (fluorene vs quinoline).



Acknowledgements J.S. was the recipient of a grant from DGA (Direction Générale de l'Armement, Ministère de la Défense, France) and Région Picardie.

Références ^(a) World Malaria Report, WHO, **2016**, 2-81. ^(b) 1-Guidelines for the treatment of malaria, 3RD edition, WHO, **2015**, 214-219. ^(c) Jonet A., *et al.*, *Tetrahedron*, **2011**, 128-143. ^(d) Mullié C., *et al.*, *Malaria Journal*, **2012**, 11 : 65. ^(e) Petersen I., Eastman R., Lanzer M., *FEBS Letters* 585, **2011**, 1551-1562..

γ -Hydroxy- γ -lactam derived tetramates as a new family of antimalarials.

M. Médebielle,^{a,*} N. Chopin,^a S. Iikawa,^a J. Bosson,^a S. Picot,^a A.-L. Biennu,^a A. Lavoignat,^a G. Bonnot,^a J.-P. Bouillon,^b V. Datinska,^b M. Riou,^c C. Beaugé,^c V. Guillory,^{c,d} C. Biot,^e E. Davioud-Charvet,^f M. Chessé,^f and M. Elhabiri^f

^a Univ. Lyon, Université Lyon 1, CNRS, INSA, CPE-Lyon, ICBMS, UMR 5246, Villeurbanne, France

^b Normandie Université, COBRA, UMR 6014 et FR 3038, Université de Rouen, INSA Rouen, CNRS
76821 Mont Saint-Aignan Cedex, France

^c UE-1277 Plateforme d'Infectiologie expérimentale (PFIE), INRA Centre Val de Loire, Nouzilly, France
UMR-1282 Infectiologie et Santé publique, INRA Centre Val de Loire – Université de Tours, Nouzilly, France

^e UMR-8576 Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle (UGSF) - Université de Lille, Lille, France

^f Université de Strasbourg, CNRS (ECPM), LIMA, UMR 704225, Equipe de Chimie Bioorganique et Médicinale,
25 Rue Becquerel, 67000 Strasbourg, France

*maurice.medebielle@univ-lyon1.fr

We report on an efficient and short 2-3 step synthesis of γ -hydroxy- γ -lactam derived-tetramates bearing either a 7-chloro-4-aminoquinoline [1] or a ferrocene skeleton and their evaluation as potent antimalarials. These molecules were obtained through ring opening-ring closure (RORC) process of γ -ylidene-tetronate derivatives in the presence of primary amines (Figure 1).

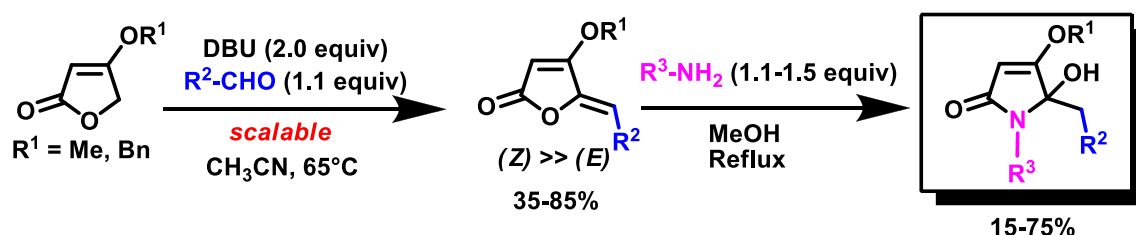


Figure 1. Synthesis of the γ -hydroxy- γ -lactam derived-tetramates from tetronic acid

In vitro antimalarial activities of these new γ -lactams were evaluated against *P. falciparum* strains expressing variable sensitivity towards chloroquine (3D7 and W2). The derivatives were found to be active in the range of 14-827 nM with generally high selectivity index. The most potent compounds did not show *in vitro* cytotoxicity when tested against Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) up to concentration of 50 μ M and were stable at pH 7.4 for at least 48 h.

The mechanism of action of the most potent compound, SI243-C2, an hybrid molecule, including a 7-chloro-4-aminoquinoline and some ferrocene γ -hydroxy- γ -lactam tetramates (Figure 2), was studied and SI243-C2 was found to be a strong inhibitor of β -hematin formation, while the ferrocene analogues were not. However, production of hydroxyl radicals was clearly evidenced with the ferrocene derivatives in comparison with the clinical candidate ferroquine used as a model compound.[2]

Oxidation potentials of these ferrocene γ -hydroxy- γ -lactam derived-tetramates were measured in acetonitrile and compared with ferrocene and the clinical candidate ferroquine.

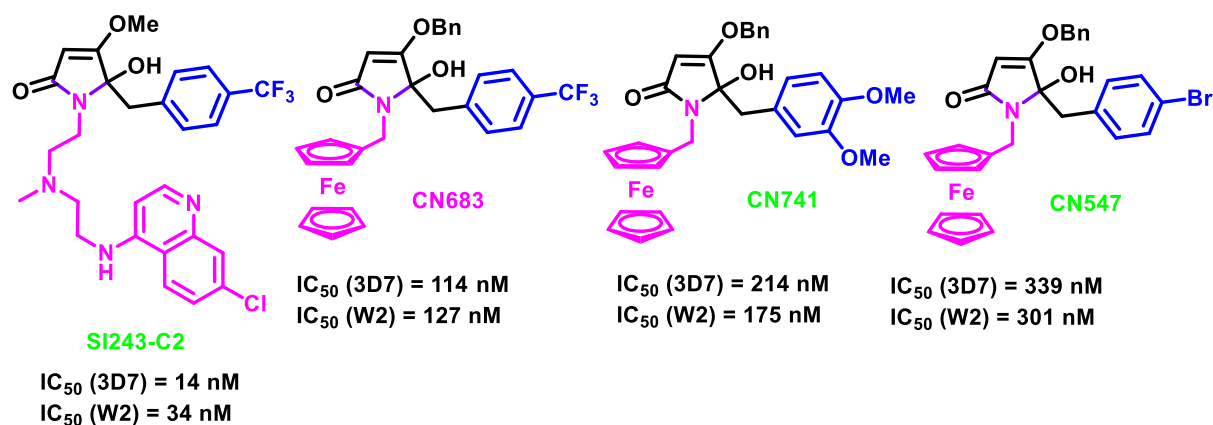


Figure 2. Most active γ -hydroxy- γ -lactam derived-tetramates

ne major issue with these γ -hydroxy- γ -lactam derived-tetramates is their poor aqueous solubility limiting their possible *in vivo* evaluation by an i.p. route. We found however that these molecules could be solubilized in peanut oil, the most appropriate vehicle to study their *in vivo* efficacy by oral route. Administered at 20 mg/kg and 50 mg/kg dosages, no clear decrease of parasitemia and no obvious toxicity effects could be observed suggesting that optimization of pharmacokinetics properties is required.

This work was supported in part by Agence Nationale de la Recherche (ANR-11-EMMA-04-QUINOLAC), the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), the Université Lyon 1, the University of Strasbourg, the Laboratoire d'Excellence (LabEx) ParaFrap (grant LabEx ParaFrap ANR-11-LABX-0024 to E.D.-C.), the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (Ph. D fellowship to S. I.). The authors thank also the Consortium Antiparasitaire et Fongique (CaPF) for support and the Centre Commun de Spectrométrie de Masse (CCSM) of Université Lyon 1 for their assistance and access to the mass spectrometry facility.

References: [1] N. Chopin, S. Iikawa, J. Bosson, A. Lavoignat, G. Bonnot, A.-L. Bienvenu, S. Picot, J.-P. Bouillon, M. Médebielle. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **2016**, 26, 5308. [2] N. Chopin, S. Iikawa, J. Bosson, A. Lavoignat, G. Bonnot, S. Picot, A.-L. Bienvenu, M. Riou, C. Beaugé, V. Guillory, J.-P. Bouillon, V. Datinska, C. Biot, E. Davioud-Charvet, M. Chessé, M. Elhabiri and M. Médebielle, *manuscript in preparation*.

Automation of differential scanning fluorimetry screening of bioactive molecules

S. Violot^a, L. Ballut^a, V. Gueguen-Chaignon^b, N. Aghajari^{a,*}

^a*Molecular Microbiology and Structural Biochemistry, Unité Mixte de Recherche 5086, Université Claude Bernard Lyon 1, Centre National de la Recherche Scientifique, Lyon, France.*

^b*Protein Science Facility, Structure Fédérative de Recherche Biosciences/UMS3444/US8, Université Claude Bernard Lyon 1, Ecole Normale Supérieure de Lyon, INSERM, Centre National de la Recherche Scientifique, Lyon, France.*

**Corresponding author's e-mail address: nushin.aghajari@ibcp.fr*

Our team, Biocrystallography and Structural Biology of Therapeutic Targets, conducts research on protein targets from the purine metabolic pathway related to infectious diseases and cancer (1,2,3) with the aim of understanding the structure-function-activity relationships of the studied proteins and ultimately design and develop new bioactive molecules (drug candidates). For these purposes we use molecular biology, biochemistry, X-ray crystallography, Small Angle X-ray Scattering and bioinformatics techniques and methods. In this context, the team has implemented a high throughput screening system in which we use Thermal Shift Assays to study the thermal stabilization of proteins upon ligand binding, a method which has been used extensively on purified proteins in the drug discovery industry and in academia to detect interactions (4). This screening has been implemented within the Protein Science Facility, thereby allowing a performing and innovative screening service which so far was lacking for many teams working on protein targets of therapeutic interest. This implementation presents an integrative aspect allowing chemists to exploit their stock of molecules.

On a longer time scale, results obtained through this pipeline may be strengthened by a thorough characterization of the hit-compounds calculating quantitative parameters (K_d , K_i) using techniques as Isothermal Titration Calorimetry (ITC), Thermophoresis or Surface Plasmonic Resonance (SPR).

Références

- [1] Z. Marton, R. Guillon, I. Krimm, Preeti, R. Rahimova, D. Egron, L.P. Jordheim, N. Aghajari, C. Dumontet, C. Périgaud, C. Lionne, S. Peyrottes et L. Chaloin (2015) Identification of Noncompetitive Inhibitors of Cytosolic 5'-Nucleotidase II Using a Fragment-Based Approach. *J. Med. Chem.*, 58(24), 9680-96.
- [2] Ballut L., Violot S., Shivakumaraswamy S., Thota L.P., Sathya M., Kunala J., Dijkstra B.W., Terreux R., Haser R., Balaram H., et Aghajari N. (2015) Active site coupling in Plasmodium falciparum GMP synthetase is triggered by domain rotation. *Nature Comm.* 6, 8930.
- [3] Jordheim L.P., Marton Z., Rhimi M., Cros-Perrial E., Lionne C., Peyrottes S., Dumontet C., Aghajari N. et Chaloin L. (2013) Identification and characterization of inhibitors of cytoplasmic 5'-nucleotidase cN-II issued from virtual screening. *Biochem. Pharmacol.* 85(4), 497-506.
- [4] Niesen F.H., Berglund H. et Vedadi M. (2007) The use of differential scanning fluorimetry to detect ligand interaction that promote protein stability. *Nature protocols.* 2(9), 2212 – 21.

Le sommeil dans la maladie du sommeil : un développement décevant*

A. Buguet^a, B. Bouteille^b, S. Picot^a, R. Cespuglio^c

^aMalaria Research Unit, UMR 5246 CNRS, Université Claude-Bernard Lyon-1, France

^bCHRU Dupuytren, Département de parasitologie, Limoges, France

^cCentre de recherche en neuroscience de Lyon, France.

Corresponding author's e-mail address: buguet.alain@orange.fr

La trypanosomose humaine africaine (THA, maladie du sommeil) est causée par la piqure de la glossine, qui, en Afrique de l'Ouest et en Afrique Centrale, infecte l'homme par *Trypanosoma brucei* (*T.b.*) *gambiense* résultant en une maladie rurale qui évolue en deux stades. Au stade 1 lymphaticosanguin, le trypanosome se multiplie dans le sang et les organes lymphatiques. Au bout de quelques mois, le parasite pénètre dans le système nerveux central (SNC) provoquant une méningoencéphalite (stade 2). Non traité, le patient meurt dans un tableau de misère physiologique, la cachexie sommeilleuse. Le diagnostic d'infection est réalisé sur les villageois par un test sérologique (individu "suspect" si positif) suivi de la recherche du parasite dans le sang et le suc ganglionnaire ("patient" si positive). La détermination du stade 2 nécessite l'examen du liquide céphalorachidien (LCR, présence du parasite et/ou comptage cellulaire). Les seuils cellulaires ont varié dans le temps d'un pays à l'autre et selon les traitements disponibles. L'analyse du sommeil par polysomnographie a été comparée aux outils diagnostiques conventionnels. Depuis 1988, 286 enregistrements polysomnographiques de 24 heures ont été réalisés : 110 chez des patients au stade 2, 102 au stade 1 et 74 chez des volontaires sains. Au stade 2, nous avons décrit un syndrome polysomnographique, constitué de deux symptômes majeurs : i) *Altération de l'alternance nycthémérale* de la veille et du sommeil proportionnelle à la gravité de la maladie, le sommeil survenant sur un mode polyphasique tant le jour que la nuit. Cette altération est réversible sous traitement spécifique. ii) *La structure du sommeil est altérée*, des épisodes de sommeil débutant par du sommeil paradoxal (Sleep Onset REM Periods, SOREM). Les SOREMs diminuent et disparaissent après traitement. La survenue de SOREMs a été observée chez le rat 12 à 14 jours après infection par *T.b. brucei* conjointement à la pénétration du trypanosome dans le SNC. Nous proposons que seuls les patients présentant ce syndrome aient une ponction lombaire afin de vérifier l'état du LCR. Actuellement, tous les patients ont une ponction lombaire. Nous avons proposé l'utilisation de nouveaux enregistreurs miniaturisés et la détection automatique des anomalies (alarme détectant le rythme de sommeil anormal et les SOREMs) grâce à une adaptation de notre logiciel d'analyse. Nous n'avons trouvé aucun bailleur de fonds pour financer ce projet de diagnostic non invasif, qui s'est révélé être un excellent moyen de suivi post-thérapeutique (prédiction des rechutes). Mais, les bailleurs de fonds jugent plus facile de financer les multiples tests immunologiques ou biochimiques, sans doute plus rentables. D'où notre déception, d'autant que la technique proposée pourrait également servir au développement du télédiagnostic d'autres pathologies neurologiques (épilepsie, trauma crânien, tumeur, etc.) grâce au transfert des données par Internet.

*Specific funding from WHO (WHO Technical Services Agreement #T7/83/2, for years 2005–2006), WHO/Tropical Diseases Research (Grant #A50468, for years 2006-2009)

Etude *in vitro* de l'effet ovicide et larvicide de dérivés ferrocéniques et quinoléiques des Benzimidazoles vis-à-vis d'un helminthe parasite de petits ruminants, *Haemonchus contortus*

M. Riou^{a,*}, F. Dubar^b, C. Koch^c, F. Guégnard^c, D. Kerboeuf^d and C. Biot^b

^a UE-1277 Plateforme d'Infectiologie expérimentale (PFIE), INRA Centre Val de Loire, Nouzilly, France.

^b UMR-8576 Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle (UGSF) - Université de Lille, Lille, France.

^c UMR-1282 Infectiologie et Santé publique (ISP), INRA Centre Val de Loire – Université de Tours, Nouzilly, France.

^d Directeur honoraire de recherche, INRA Centre Val de Loire, Membre de l'Académie Vétérinaire, Nouzilly, France

*Corresponding author's : mickael.riou@inra.fr. C'est un projet CAPF.

L'émergence de résistance aux antiparasitaires est l'un des principaux obstacles rencontrés dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux. Les phénomènes de résistance sont devenus, depuis une vingtaine d'années et sur tous les continents, très préoccupants pour l'avenir de l'élevage des petits ruminants, ovins et caprins [1]. Les principales familles d'anthelminthiques utilisées pour traiter les petits ruminants sont les benzimidazoles, les tétrahydropyrimidines (pyrantel) et les lactones macrocycliques. Actuellement, les hauts niveaux de résistance aux anthelminthiques concernent surtout les benzimidazoles, bien qu'il y ait de plus en plus des cas de résistance vis-à-vis des lactones macrocycliques. Les anthelminthiques administrés de façon continue en période d'infestation, représentent un coût considérable pour les élevages. Les mécanismes sous-jacents sont de deux types : spécifiques ou non spécifiques. Ces derniers sont générateurs de résistance multiple aux différentes familles d'antiparasitaires. Leurs conséquences pour la prophylaxie sont donc beaucoup plus graves. Ils comprennent plusieurs étapes (biotransformation, conjugaison et élimination) plus ou moins liées entre elles de détoxification des substances étrangères à la cellule, les xénobiotiques [2]. L'élimination des xénobiotiques fait intervenir le système MDR "Multi-Drug Resistance", bien connu par ailleurs pour induire la résistance des cellules tumorales aux anticancéreux.

Les strongles gastro-intestinaux appartiennent principalement à la famille des *Trichonstrongylidae*. Cette famille regroupe quatre sous-familles dont les *Haemonchinae* (*Haemonchus contortus*). Cette dernière espèce a été choisie pour cette étude en raison de son pouvoir hautement pathogène chez les petits ruminants. Il est hématophage et peut provoquer chez l'hôte une anémie importante conduisant parfois à la mort de l'animal. De plus, il peut devenir rapidement résistant aux anthelminthiques. Enfin, sa forte prolificité permet l'obtention d'un nombre important d'œufs et de larves. Il est localisé dans la caillette des petits ruminants [3]. L'impact de ce parasite est mondial car il possède des capacités importantes d'adaptation aux variations climatiques (température et humidité).

Afin de lutter contre l'ensemble des mécanismes de résistance, la production de nouveaux anthelminthiques ou la modification chimique de ceux existants semblent permettre d'ouvrir de nouveaux moyens de lutte contre les helminthes. Nous avons donc choisi la famille des benzimidazoles et tout particulièrement le thiabendazole (TBZ). Le TBZ est le premier anthelminthique utilisé en santé vétérinaire et présente la propriété d'être efficace à la fois contre les œufs d'helminthes (effet ovicide) et les autres stades larvaires des helminthes (effet larvicide). Des modulations chimiques ont été menées autour du noyau benzénique [4, 5] afin d'augmenter l'efficacité du TBZ et de contourner la résistance. Six dérivés ferrocéniques et deux dérivés quinoléiques ont été synthétisés. Pour mesurer l'efficacité *in vitro* de ces 8 dérivés, nous avons réalisé des tests ovicides et larvicides contre deux isolats d'*H. contortus*, l'un sensible *H.c. Weybridge* et l'autre résistant *H.c. Guadeloupe* aux anthelminthiques. En parallèle de ces nouveaux composés, deux anthelminthiques de

référence ont été utilisés : le TBZ pour les effets ovicide et larvicide et la doramectine (DOR) pour l'effet larvicide seul.

Sur les huit dérivés, trois présentent une activité anthelminthique prometteuse. Le tableau 1 montre les doses létales 50 (DL₅₀) pour les trois molécules actives ayant la plus forte activité antiparasitaire contre *H. contortus*.

Table n°1 : Mesure des doses létales 50 (DL₅₀) pour l'effet ovicide et larvicide des composés antiparasitaires contre *H. contortus*.

	EFFET OVICIDE		EFFET LARVICIDE	
	DL ₅₀ (µg/mL)			
Produits antiparasitaires et dérivés	<i>H.c. WB</i> *	<i>H.c. Gua</i> **	<i>H.c. WB</i> *	<i>H.c. Gua</i> **
TBZ	0,079	0,719	0,015	0,134
DOR	ND	ND	0,002	0,015
FD-493 (F)	1,34	3,02	4,07	1,38
FD-498 (Q)	2,57	4,24	3,91	1,01
FD-510 (O)	3,06	4,82	2,01	0,68

* (sensible aux benzimidazoles et lactones macrocycliques) et ** (résistante aux benzimidazoles et lactones macrocycliques)

Ces premiers résultats montrent que les deux dérivés quinoléiques FD-498 et FD-510, ainsi qu'un dérivé ferrocénique (FD-493), inhibent à la fois le développement du stade œuf et du stade larvaire à des concentrations comprise entre 0,5 et 4 µg/mL pour les deux isolats. Néanmoins, les DL₅₀ de ces nouveaux composés restent supérieures à celles des composés de référence (TBZ et DOR), à la fois pour les parasites sensibles ou résistants. Les observations microscopiques des œufs et des larves semblent montrer que les trois dérivés agissent, entre autres, sur les enveloppes externes du parasite, laissant supposer un mode d'action non spécifique.

Il serait aussi intéressant de tester l'effet de ces composés vis-à-vis d'autres strongles gastro-intestinaux parasites des ruminants pour voir leur spectre d'actions et mieux identifier la ou les cibles intracellulaires.

Ces trois composés pourraient donc représenter de nouveaux outils stratégiques pour l'amélioration des thérapeutiques vétérinaires contre les strongles parasites multirésistants, en complément des antiparasitaires actuels.

Références :

- [1] Kotze A. C. and Prichard R. K. *Adv Parasitol.*, 96 (2016) 397-428.
- [2] Maréchal E, Riou M, Kerboeuf D, Beugnet F, Chaminade P, Loiseau PM. *Trends Parasitol.*, 27 (2011) 496-504.
- [3] Kerboeuf D., Hubert J., Mallet S. *Vet. Rec.*, 124 (1989) 399-400.
- [4] Hottin A., Dubar F., Steenackers, A., Delannoy P., Biot C. and Behr J. B. *Org Biomol Chem.*, 20 (2012) 5592-5597.
- [5] Dubar F., Slomianny C., Khalife J., Dive D., Kalamou H., Guerardel Y., Grellier P. and Biot C., *Angew Chem. Int. Ed. Engl., Chem. Comm.*, 52 (2013) 5653-5656.

Apport du modèle invertébré *Galleria mellonella* pour évaluer l'efficacité des antifongiques dans l'aspergillose invasive

Jemel S.¹, Julien V.², Billaud EM.², Melloul E.¹, Jenot D.¹, Guillot J.¹, Botterel F.^{1,3}, Dannaoui E.^{1,4,*}

¹ EA DYNAMYC UPEC, ENVA, Faculté de Médecine de Créteil, 8 rue du Général Sarrail 94010 Créteil, France

² Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine, APHP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Service de Pharmacologie, Paris, France

³ Unité de Parasitologie - Mycologie, Département de Bactériologie Virologie Hygiène Mycologie Parasitologie, DHU VIC, CHU Henri Mondor, 51 avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil, France

⁴ Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine, APHP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Unité de Parasitologie-Mycologie, Service de Microbiologie, Paris, France

*eric.dannaoui@aphp.fr

Objectifs

L'aspergillose invasive constitue un problème de santé public d'une part par la complexité du traitement et par l'augmentation de sa fréquence, et d'autre part par l'émergence des résistances aux azolés. Le recours à des moyens d'évaluations fiables des différents protocoles thérapeutiques est indispensable. Des modèles animaux d'infections fongiques sont classiquement réalisés chez des rongeurs (souris, rat) ou chez le lapin. Malgré leur forte pertinence, ces modèles présentent tous les inconvénients liés à l'expérimentation animale. Ceci a motivé la recherche de modèles alternatifs. Ces modèles ont l'avantage d'être moins coûteux et plus facile à mettre en oeuvre.

G. mellonella, connue aussi sous le nom de « fausse-teigne » de ruche, est un insecte de l'ordre des Lépidoptères (papillons). Le stade larvaire de *G. mellonella* mesure entre 14 et 38mm, il est thermotolérant et possède un système immunitaire humoral et cellulaire qui présente beaucoup de similarité avec celui de l'homme. L'objectif de notre travail était de mettre au point un modèle d'aspergillose invasive chez le stade larvaire de *G. mellonella* et d'évaluer l'efficacité des antifongiques sur ce modèle.

Matériel et Méthodes :

Dans un premier temps, la dose létale 90% (DL90) a été déterminée pour chaque souche. Des suspensions de conidies de concentrations croissantes (10^5 , 10^6 , 3.10^6 , 10^7 , 3.10^7 , 10^8 conidies/ml) ont été préparées à partir des cultures de souche d'*Aspergillus fumigatus* (HEGP 064, HEGP4017). A partir de chaque inoculum, 10 µL ont été inoculés au niveau de la face ventrale du dernier segment chez des groupes de 10 larves. Les groupes de larves ont été incubés à 37°C à l'obscurité et la mortalité estimée quotidiennement pendant 7 jours. L'infection fongique invasive a été objectivée à partir de frottis de broyat de larves infectées colorés à la coloration argentique de Gomori-grocott et sur des coupes anatomopathologiques longitudinales de larves infectées colorées à l'hématoxyline éosine Safran (HES). Pour l'évaluation thérapeutique, des groupes de 10 larves ont été infectées par la DL90 et traitées par du voriconazole (VRZ, [Vfend®]) à 0,5, 1, 4 et 8 µg/larve) et de l'amphotéricine B (AMB, [Fungizone®]) à 0,5, 1, et 4 µg/larve) et ce à 2, 24 et 48 heures après infection.

Résultats :

L'aspergillose invasive a été objectivée par la mise en évidence de filaments mycéliens dans les tissus. Les DL₉₀ des souches HEGP064 et HEGP4017 étaient respectivement de 4.38×10^7 et 1.89×10^8 CFU/ml. Chez les groupes infectés et non traités, la mortalité était de 90% à J7 post infection. Chez les larves traitées par VRZ, la mortalité était de 40% et 10% pour la souche HEGP064 et de 70 et 20% pour la souche HEGP4017, pour les posologies de 4 et 8 µg/larve respectivement avec une amélioration de la survie statistiquement significative ($p=0.0001$) par rapport aux larves contrôles non traitées. Pour les groupes traités par de l'AMB, la mortalité était de 60% et 30% pour HEGP064 et de 65% et 55% pour la souche HEGP4017 pour une posologie de 1 et 4 µg/larve respectivement.

Conclusion :

G. mellonella convient au développement d'une aspergillose invasive. Ce modèle constitue une alternative intéressante pour tester et évaluer l'efficacité des antifongiques *in vivo*.

Efficacité anticryptosporidienne de l'administration parentérale d'aminoxanide (RM-5061) dans un modèle de gerbille immunodéprimée infectée par *Cryptosporidium parvum*

E. Diawara^{a*}, A. Francois^b, R. Razakandrainibe^a, L. Le Goff^a, L. Favennec^a, AV. Stachulski^c, JF. Rossignol^d and G. Gargala^a.

a. Laboratoire de Parasitologie, CHU de Rouen & EA 3800, Université de Rouen, France.

b. Laboratoire d'Anatomie-Pathologique, CHU de Rouen & EA 3800, Université de Rouen, France.

c. Robert Robinson Laboratories, Department of Chemistry, University of Liverpool, Liverpool L69 7ZD, UK.

d. Romark Laboratories, L.C., Tampa, 33609 FL, United States.

* el-hadji-ibrahima.diawara@univ-rouen.fr

Cryptosporidium spp. est une cause importante de diarrhée dans les pays en voie de développement comme dans les pays développés. La cryptosporidiose peut être sévère et mettre en jeu le pronostic vital des personnes immunocompromises. Les options thérapeutiques actuelles sont limitées et seulement partiellement efficaces. Le nitazoxanide (NTZ), chef de file des thiazolides et seul médicament approuvé par la FDA dans le traitement de la cryptosporidiose humaine aux Etats-Unis et les thiazolides de deuxième génération se sont révélés efficaces in vitro et in vivo contre *Cryptosporidium parvum*. Leur absorption par le tractus gastro-intestinal est médiocre or, *Cryptosporidium* pouvant infecter les voies biliaires et les voies respiratoires, l'utilisation d'un traitement par voie parentérale est nécessaire en cas de cryptosporidiose sévère et/ou extra-digestive. Afin d'obtenir un thiazolide injectable, un nouveau dérivé amino-ester, le RM-5061 (aminoxanide), promédicament du tizoxanide (métabolite actif du NTZ), où un acide aminé (isoleucine) a été ajouté sur le cycle benzène, a été conçu et synthétisé par les laboratoires Romark [1]. Nous avons testé son efficacité anticryptosporidienne in vitro sur des cellules entérocytaires (HCT-8) et les résultats montrent que la concentration inhibitrice 50 du RM-5061 (0,4 mg/L) est plus faible que celle du NTZ (1,2 mg/L). Nous avons testé le RM-5061 dans un modèle de gerbille de Mongolie (*Meriones unguiculatus*) immunosupprimée par la dexaméthasone et infectée par *C. parvum*. Les gerbilles infectées depuis 24 heures ont reçu pendant 5 jours soit une dose de 50 mg/kg de RM-5061 injectée 2 fois par jour par voie intrapéritonéale ou intramusculaire soit une dose de 200 mg/kg de NTZ administrée per os 2 fois par jour. L'excrétion des oocystes chez les gerbilles traitées par RM-5061 quelque soit le mode d'injection est diminuée par rapport à celle des gerbilles non traitées ($P < 0,01$) et est similaire à celle des gerbilles traitées par le NTZ ($P > 0,05$). Cette réduction de l'excrétion est corrélée à la diminution de la colonisation parasitaire des entérocytes observée sur les coupes histologiques de jéjunum et d'iléon ($P \leq 0,01$). Chez les gerbilles infectées traitées, comparées aux gerbilles infectées et non traitées, les coupes histologiques révèlent une amélioration des lésions épithéliales intestinales ($P < 0,01$), une augmentation des cellules sécrétrices de mucus ($P < 0,01$) et une diminution de l'infiltration lymphocytaire ($P < 0,01$). L'administration parentérale du RM-5061, troisième génération de thiazolides, est donc efficace pour inhiber le développement intestinal de *C. parvum* et pour restaurer l'intégrité de la muqueuse intestinale. En conclusion, le dérivé amino-thiazolide RM5061 ou aminoxanide est la première forme soluble et injectable de NTZ et est un candidat pour le premier traitement injectable de la cryptosporidiose. L'aminoxanide a fait l'objet en novembre 2014 d'un dépôt de brevet et des études de Phase 1 chez le volontaire sain sont en cours.

Références : [1] AV. Stachulski, K. Swift, M. Cooper, S. Reynolds, D. Norton, SD. Slonecker et JF. Rossignol. Eur J Med Chem. 126 (2017) 154-159.

Des imidazopyridazines ciblant la *TgCDPK1* diminuent fortement la transmission de *Toxoplasma gondii* dans un modèle murin de toxoplasmose congénitale

H. Débare^a; F. Baron^a; N. Moiré^a; L. Lantier^a; B. Héraut^a; C. Ducournau^a; N. Van Langendonck^b; C. Denevault-Sabourin^c; I. Dimier-Poisson^a and F. Debierre-Grockiego^{a,*}

^aISP, INRA, Université Tours, Nouzilly, France

^b Service de Parasitologie-Mycologie-Médecine Tropicale, CHRU de Tours, Tours, France

^c GICC UMR 7292 CNRS, Team Molecular Innovation and Therapy, Université de Tours, Tours, France

*francoise.debierre@univ-tours.fr

Le passage transplacentaire des tachyzoïtes (forme de réplication) de *Toxoplasma gondii* au cours d'une primo-infection chez la femme enceinte peut entraîner la contamination du fœtus et causer des lésions oculaires et neurologiques ainsi que des malformations et des avortements. Le traitement actuel est une association de pyriméthamine et de sulfadiazine ciblant la voie de synthèse des folates. Ces molécules ont une efficacité modérée sur le parasite et leur prise quotidienne jusqu'au terme de la grossesse n'empêche pas toujours sa transmission au fœtus. En plus des risques d'allergies graves, la forte toxicité hématologique de la pyriméthamine rend obligatoire une supplémentation en acide folique pendant toute la durée du traitement. De plus, en raison des propriétés tératogènes potentielles de la pyriméthamine, seule la spiramycine (incapable de passer la barrière placentaire) est prescrite en cas d'infection de la femme enceinte au cours du premier trimestre. Afin de permettre une meilleure prise en charge de la toxoplasmose congénitale, il est important que de nouveaux traitements plus spécifiques du parasite et moins toxiques soient développés.

Dans ce contexte, nous avons conçu et synthétisé des imidazo[1,2-*b*]pyridazines ciblant la calcium-dependent protein kinase 1 de *T. gondii* (*TgCDPK1*), une enzyme sans homologue chez les mammifères et indispensable à l'invasion des cellules hôtes par le tachyzoïte. Certaines de ces imidazo[1,2-*b*]pyridazines étaient capables d'inhiber l'enzyme et la prolifération des tachyzoïtes *in vitro* à des concentrations de l'ordre du sub-micromolaire [1]. En traitement par voie intrapéritonéale dans un modèle murin de toxoplasmose aiguë (7 jours d'infection), la forme salifiée de ces inhibiteurs a diminué de plus de 90% la charge parasitaire cérébrale et pulmonaire [2]. Ces expériences préliminaires *in vivo* ont également donné des indications importantes sur la toxicité à court terme, la clairance intrinsèque et la pharmacocinétique des sels d'imidazo[1,2-*b*]pyridazines.

Afin de déterminer si ces nos imidazo[1,2-*b*]pyridazines peuvent bloquer la transmission des tachyzoïtes au fœtus, des souris Swiss OF1 ont été infectées à mi gestation (J10) avec des tachyzoïtes de la souche ME49 de *T. gondii* par voie intrapéritonéale ou avec des kystes de la même souche par voie orale et traitées avec 50 mg/kg d'imidazo[1,2-*b*]pyridazine de J10 à J15 par la même voie que pour l'infection. Les fœtus et les organes (cerveau, poumons) des femelles adultes ont été prélevés à J17 pour déterminer la charge parasitaire par PCR quantitative. Le traitement par voie intrapéritonéale a induit une réduction du nombre de parasites de plus de 95% dans le cerveau et les poumons des femelles adultes et d'environ 60% dans les fœtus. Le traitement par voie orale a induit une réduction du nombre de

parasites de plus de 90% dans le cerveau et de 50% dans les poumons des femelles adultes et de plus de 95% dans les fœtus.

Ces résultats montrent que les imidazo[1,2-*b*]pyridazines sont des molécules prometteuses en alternative thérapeutique de la toxoplasmose congénitale humaine.

Références

- [1] E Moine, I. Dimier-Poisson*, C. Enguehard-Gueiffier*, C. Logé, M. Pénichon, N. Moiré, C. Delehouzé, B. Foll-Josselin, S. Ruchaud, S. Bach, A. Gueiffier, F. Debierre-Grockieo[#], C. Denevault-Sabourin[#], Eur. J. Med. Chem. 105 (2015) 80-105. *Co-deuxièmes auteurs, [#]co-derniers auteurs.
- [2] E. Moine*, N. Moiré*, I. Dimier-Poisson, K. Brunet, W. Couet, C. Colas, N. Van Langendonck, C. Enguehard-Gueiffier, A. Gueiffier, B. Héraut, C. Denevault-Sabourin[#], F. Debierre-Grockieo[#], Int. J. Parasitol., (2018) sous presse. *Co-premiers auteurs, [#]co-derniers auteurs.

Role des Bile Salt Hydrolases dans le contrôle de *Giardia* par des lactobacilles, *in vitro* et *in vivo*

T. Allain^{a,b,*}, S. Chaouch^a, M. Thomas^c, I. Vallée^c, A.G. Buret^d, P. Langella^b, P. Grellier^a, B. Polack^e, L.G. Bermúdez-Humarán^b & Isabelle Florent^a

^aUMR7245, Muséum National d'Histoire Naturelle, CNRS, Sorbonne-Universités, 75005 Paris, France

^bINRA, Micalis Institute, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France

^cAnses, Laboratoire de Santé Animale, UMR BIPAR, Anses, ENVA, INRA, 94701 Maisons-Alfort, France

^dDepartment of Biological Sciences, University of Calgary, Calgary, AB T2N 1N4, Canada

^eUniversité Paris-Est, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, UMR BIPAR, ENVA, Anses, INRA, 94704, Maisons-Alfort, France

*actuellement: Department of Biological Sciences, University of Calgary, Calgary, AB T2N 1N4, Canada

Giardia duodenalis (syn. *G. lamblia*, *G. intestinalis*) est un protiste parasite responsable de la giardiose, une affection intestinale qui peut être mortelle. Présent dans les environnements sous forme de kystes, *G. duodenalis* infecte de nombreux mammifères dont les humains et constitue un enjeu de santé publique principalement dans les pays en développement où elle peut entraîner d'importantes déficiences nutritionnelles, en particulier chez les enfants (prévalence chez l'Homme adulte de 12 à 30 %) mais aussi dans les pays développés (prévalence chez l'Homme adulte de 2 à 7,5 %). Chez les animaux, la giardiose provoque également des troubles digestifs (diarrhée et maldigestion) chez ~15,6 % des chiens et ~10,3 % des chats, pour ne citer que les animaux de compagnie. Les traitements actuels contre la giardiose (5-nitro-imidazoles et benzimidazoles) sont limités chez l'Homme et seul le métronidazole dispose d'une autorisation de mise sur le marché chez le chien et le chat. Des souches résistantes à ces médicaments émergent, nécessitant le développement de thérapies de substitution aux antimicrobiens actuellement disponibles.

Suite à l'infection par ingestion de kystes présents dans des aliments ou l'eau contaminée, la forme trophozoïte du parasite, proliférative et responsable des effets pathogènes, se développe dans l'intestin grêle proximal des hôtes où elle cohabite avec le microbiote intestinal. La littérature récente documente que ce microbiote et/ou certaines souches probiotiques, protègent les hôtes contre des infections par *Giardia*, mais les mécanismes protecteurs sont très mal compris (voir [1], pour revue).

Nous appuyant sur des données de la littérature relatant l'activité anti-*Giardia in vitro*, de surnageants de la souche probiotique *Lactobacillus johnsonii* LA1 [2] ainsi que l'activité *in vivo* de cette souche, administrée par gavage dans un modèle murin (gerbille) de la giardiose [3], notre consortium a entrepris, dès 2012, de décrypter les mécanismes moléculaires mis en jeu dans cette interaction probiotique – parasite, dans un objectif global à long terme de pouvoir proposer le développement de nouvelles approches prophylactique et/ou thérapeutique appliquées à cette parasitose négligée.

En combinant des approches biologiques, biochimiques et métabolomiques sur le modèle *in vitro* d'interaction *Giardia* /*L. johnsonii* LA1, nous avons découvert un mécanisme d'action, indirect, qui résulte de l'activité d'enzymes de type « Bile-Salt-Hydrolase (BSH) », produites par ce lactobacille, induisant indirectement la mort des parasites en convertissant des composants de la bile, non toxiques pour *Giardia*, en composés toxiques [4].

Nous avons alors confirmé l'action délétère de sels biliaires déconjugués sur les parasites *in vitro* [4] puis montré que des BSH recombinantes de ce probiotique, produites chez *Escherichia coli* (actuellement 2 sur les 3 codées dans son génome : les BSH-47 et BSH-56), permettent de bloquer la prolifération parasitaire *in vitro* en présence de bile et *in vivo* dans un modèle murin de la giardiose : souriceau nouveau-né, lignée OF1 [5].

En parallèle de ces travaux, nous avons testé 29 souches de lactobacilles et probiotiques issus d'une diversité d'environnements, pour leurs propriétés « anti-*Giardia* » et « activité BSH » [6]. Deux résultats majeurs ont émergé de cette étude : (1), la mise en évidence d'une corrélation positive entre ces deux propriétés, permettant de proposer un crible de sélection de souches potentiellement anti-*Giardia* par le biais du crible de leurs activités « BSH » et (2), la découverte d'une nouvelle souche, *Lactobacillus gasseri* CNCM I-4884, qui s'est révélée être aussi active que la souche *Lactobacillus johnsonii* LA1 *in vitro* mais beaucoup plus active *in vivo*, dans le modèle murin de souriceau nouveau-né OF1 [6].

Ces résultats prometteurs, qui ont fait l'objet d'un dépôt de brevet [7], ouvrent de nouvelles perspectives dans la lutte contre la Giardiose, *via* l'utilisation de lactobacilles probiotiques produisant ou sécrétant des bile-salt-hydrolases. Mais n'excluent pas l'existence d'autres mécanismes d'actions, également médiés par des bactéries probiotiques ou du microbiote sur la Giardiose.

- [1] M.A. Travers, I. Florent, L. Kohl, P. Grellier. Probiotics for the control of parasites: an overview. J Parasitol Res. (2011) 2011:610769.
- [2] P.F. Pérez, J. Minnaard, M. Rouvet, C. Knabenhans, D. Brassart, G.L. et al. Inhibition of *Giardia intestinalis* by extracellular factors from *Lactobacilli*: an *in vitro* study. Appl. Environ. Microbiol. 67 (2001), 5037–5042.
- [3] M.A. Humen, G.L. DeAntoni, J. Benyacou, M.E. Costas, M.I. Cardozo, L. Kozubsky, et al. *Lactobacillus johnsonii* La1 antagonizes *Giardia intestinalis* *in vivo*. Infect.Immun. 73 (2005), 1265–1269.
- [4] M.A. Travers, C. Sow, S. Zirah, C. Deregnaucourt, S. Chaouch, R.M. Queiroz, S. Charneau, T. Allain, I. Florent, P. Grellier. Deconjugated bile salts produced by extracellular bile-salt hydrolase-like activities from the probiotic *Lactobacillus johnsonii* La1 inhibit *Giardia duodenalis* *in vitro* growth, Frontiers in Microbiology (2016) 7:1453.
- [5] T. Allain, S. Chaouch, M. Thomas, I. Vallée, A.G. Buret, P. Langella, P. Grellier, B. Polack, L.G. Bermúdez-Humarán, I. Florent. 2018a. Bile-Salt-Hydrolases from the probiotic strain *Lactobacillus johnsonii* La1 mediate anti-giardial activity *in vitro* and *in vivo*. Frontiers in Microbiology (2018), 8:2017.
- [6] T. Allain, S. Chaouch, M. Thomas, M.A. Travers, I. Vallée, P. Langella, P. Grellier, B. Polack, I. Florent, L.G. Bermúdez-Humarán. Bile Salt Hydrolase Activities: A Novel Target to Screen Anti-*Giardia* *Lactobacilli*? Frontiers in Microbiology (2018), 9:89.
- [7] L.G. Bermúdez-Humarán, T. Allain, I. Florent, P. Langella, P. Grellier, M.A. Travers, B. Polack, Compositions for the Inhibition of *Giardia lamblia*. Brevet (2016): WO2016020544 (A1).