

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

Responsables : Dr. Fabien JOUX (SU) / Pr. Cécile BERNARD (MNHN)

Madame, Monsieur,

Le parcours de Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé » est une formation proposée au sein du Master de Sorbonne Université « Biologie Moléculaire et Cellulaire » parcours « Microbiologie » et du Master du MNHN « Evolution Patrimoine Naturel et Sociétés » spécialité « Mécanismes du Vivant et Environnement ».

Cette formation orientée à la fois recherche et professionnelle vise à répondre aux demandes grandissantes des laboratoires académiques et des entreprises dans des domaines variés comme la recherche fondamentale en écologie microbienne, la valorisation des microorganismes dans l'industrie, les écotecnologies, l'évaluation du risque sanitaire dans l'environnement, le diagnostic environnemental, l'analyse de l'anthropisation des milieux ...

Cette deuxième année de master se déroule en deux parties : un enseignement théorique et pratique de septembre à mi janvier et la réalisation d'un **stage en laboratoire ou dans une entreprise de mi-janvier à mi-juin 2020**. Le stage de Master 2 doit permettre aux étudiants de se familiariser avec une démarche scientifique (faire un bilan des connaissances, identifier les problèmes à résoudre, élaborer des hypothèses, définir un plan d'expérience, mettre en œuvre un protocole, interpréter et discuter des résultats) et de favoriser leur insertion professionnelle.

La durée totale du stage ne doit pas excéder 6 mois. Les étudiants sont gratifiés sur la durée totale de leur stage suivant les règles en vigueur (3,75 € par heure de présence effective en 2019).

L'étudiant aura à réaliser durant la première partie de son enseignement une étude bibliographique en lien avec son projet de stage (thème défini en concertation avec le responsable du stage) ainsi qu'un échéancier des expériences à réaliser pour mener à bien son projet. C'est pour cette raison qu'il est nécessaire que vous nous transmettiez vos propositions de stage le plus tôt possible.

A l'issue du stage, les étudiants auront à rédiger un rapport (d'une trentaine de pages) et à présenter oralement leur travail lors d'une soutenance, confidentielle ou non, prévue fin juin.

Merci par avance pour votre aide à la formation de nos étudiants et pour vos propositions de stages.

Cécile Bernard & Fabien Joux
Responsables du parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé » (SU-MNHN)

Les propositions de stage sont à renvoyer par e-mail aux adresses suivantes :

Fabien Joux : fabien.joux@obs-banyuls.fr

Cécile Bernard : cecile.bernard@mnhn.fr

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Equipe « *Bacillus* et Clostridies » (responsable : Dr Olivier Firmesse),

Unité « Staphylocoques, *Bacillus* et Clostridies » (SBCL, directeur : Dr Jacques-Antoine Hennekinne),

Laboratoire de Sécurité des Aliments (LSAI),

Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'environnement et du travail (Anses).

14, rue Pierre et Marie Curie, 94700 Maisons-Alfort.

L'équipe « *Bacillus* et Clostridies » de l'Unité « Staphylocoques, *Bacillus* et Clostridies » (SBCL) fait partie du Laboratoire de sécurité des aliments qui regroupe 150 personnes dont l'activité est principalement tournée vers la maîtrise de la qualité et de l'hygiène des aliments. L'unité SBCL a développé une grande expertise sur les espèces bactériennes pathogènes alimentaires productrices de toxines (*S. aureus*, *B. cereus* et *C. perfringens*) et abrite notamment le Laboratoire de Référence de l'Union Européenne pour les staphylocoques à coagulase positive. Dans le cadre de son expertise en analyse génomique de pathogènes alimentaires, l'unité SBCL travaille en étroite collaboration avec la mission transversale « Genome Analysis Modelling Risk » (GAMeR).

Responsables de l'encadrement :

1/ Dr Mathilde Bonis (microbiologiste, SBCL)

Téléphone : 01 49 77 46 06

E-mail : mathilde.bonis@anses.fr

2/ Arnaud Felten (bioinformaticien, GAMeR)

Téléphone : 01 49 77 27 01

E-mail : Arnaud.felten@anses.fr

2. Description du stage (2 pages maximum) :

Titre : « Développement d'outils de surveillance de *Bacillus thuringiensis* dans l'alimentation »

Mots clés : *Bacillus thuringiensis*, pesticide, bioanalyse, microbiologie, bioinformatique

Contexte et objectifs généraux :

Bacillus thuringiensis (Bt) est une bactérie sporulante à Gram positif, bien connue pour son activité entomopathogène via l'action de cristaux insecticides produits lors de la sporulation (1). Grâce à cette spécificité, elle occupe le premier rang des ventes de pesticides bactériens, utilisés dans la lutte contre les insectes ravageurs de diverses cultures maraîchères. Or de récents travaux suggèrent que cette bactérie, une fois ingérée, puisse déclencher la survenue de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) chez l'homme, au même titre que d'autres espèces du groupe *Bacillus cereus sensu lato* (Bc) auquel elle appartient, et avec lesquelles elle partage d'ailleurs certains gènes de virulence (2). Dans ce contexte, l'agence européenne de sécurité alimentaire

(EFSA) a publié un rapport préconisant de plus amples investigations sur le sujet, ainsi que la mise à disposition de méthodes de détection robustes pour la surveillance de Bt dans l'alimentation (3).

Projet de stage /objectifs :

A. Le présent stage aura ainsi pour 1^{er} objectif de développer et valider une méthode de détection, la plus spécifique possible, d'un panel de souches commerciales de Bt. Il se déroulera en 4 grandes étapes :

- (i) Analyse comparative de séquences génomiques de Bt disponibles au laboratoire (« reads » et assemblages, issus de séquençage haut débit), en vue de sélectionner des marqueurs candidats pertinents pour le développement de méthodes de détection.
- (ii) Mise au point de méthodes de détection de type PCR conventionnelle, RT-PCR, ou séquençage ciblé, selon les marqueurs identifiés en (i).
- (iii) Evaluation de l'efficacité et de la spécificité des différentes méthodes testées au moyen d'une collection de souches de Bt/Bc et d'autres espèces bactériennes isolées d'aliments lors d'épisodes de TIAC.
- (iv) Validation de la méthode sur matrices alimentaires de type crudité (tomates, laitue) contaminées au laboratoire, en aveugle, par des pesticides Bt.

B. En parallèle, si l'avancement du projet le permet, l'étudiant aura pour 2^d objectif d'évaluer la capacité de mutation naturelle (ou plasticité du génome) de *Bacillus thuringiensis*. En effet, l'une des principales limites d'interprétation lors de la comparaison génomique de 2 souches de Bt génétiquement proches, est l'absence de seuil de distance génétique en dessous duquel, 2 souches bactériennes peuvent être considérées comme « identiques » (par exemple une souche de Bt isolée de TIAC, comparée à une souche de Bt pesticide). Ainsi, pour faire une première estimation de ce seuil, 2 souches de Bt seront cultivées sur différents milieux de culture pendant 10³ temps de génération. Puis, leurs ADN génomiques seront extraits, séquencés et comparés par analyse de variant, au moyen du pipeline iVARCALL2 (4), utilisé en routine au laboratoire.

Bibliographie :

1. Bravo A, et al. (2011) *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochem Mol Biol.* 2011 Jul;41(7):423-31
2. Bonis M, Felten A, et al. Characterizations of *Bacillus thuringiensis* isolates associated to foodborne outbreaks bring to light common features with commercial biopesticides. Article en soumission.

3. EFSA BIOHAZ Panel (2016) Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. efsa.2016.4524.
4. Felten A, et al. (2017) First gene-ontology enrichment analysis based on bacterial coregenome variants: insights into adaptations of *Salmonella* serovars to mammalian- and avian-hosts. *BMC Microbiol* 17: 222.

Sélection d'autres publications de l'équipe sur le sujet:

- Glasset B, Herbin S, Granier SA, et al. (2018) *Bacillus cereus*, a serious cause of nosocomial infections: Epidemiologic and genetic survey. *PLoS One* 13: e0194346.
- Glasset B, Herbin S, Guillier L, et al. (2016) *Bacillus cereus*-induced food-borne outbreaks in France, 2007 to 2014: epidemiology and genetic characterisation. *Euro Surveill* 21.
- Abdelrahim A.M. et al. (2019) Large-scale Genomic Analyses and Toxinotyping of *Clostridium perfringens* Implicated in Foodborne Outbreaks in France. *Front Microbiol.* 10:777.

Ce stage peut-il se poursuivre par une thèse ? : Pour le moment ce n'est pas envisagé.