

Proposition de Stage M2 Année Universitaire 2020 - 2021

LE LABORATOIRE :

Nom du laboratoire d'accueil : ANSES

Nom du Responsable du Laboratoire : M Laurent LALOUX

Nom du Responsable de l'Équipe : Mme Graziella MIDELET

Nom de l'équipe d'accueil : Unité Bactériologie et Parasitologie des Produits de la Pêche et de l'Aquaculture

Adresse : Boulevard Bassin Napoléon, Boulogne sur Mer

Responsable de l'encadrement : M Sylvain TRIGUEROS

L'AGENCE, LE LABORATOIRE ET LA PROBLEMATIQUE LIE AU SUJET DU STAGE :

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses, www.anses.fr) est un établissement public administratif placé sous la tutelle des ministères chargés de l'agriculture, de la consommation, de l'environnement, de la santé et du travail.

L'AGENCE ET L'ENTITE D'AFFECTATION

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) est un établissement public administratif placé sous la tutelle des ministères chargés de l'agriculture, de la consommation, de l'environnement, de la santé et du travail. L'Anses a pour mission de contribuer à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Elle participe également à la protection de la santé et du bien-être des animaux, à la protection de la santé des végétaux (évaluation des produits de traitement des cultures) et à l'évaluation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des aliments. Agence de référence pour l'évaluation des risques dans ces domaines, l'Anses fournit aux autorités compétentes l'information et l'appui nécessaires à la gestion des risques. Elle assure des missions de laboratoire de référence aux niveaux national, européen et international. Elle exerce un rôle de veille, d'épidémiologie et d'alerte sur les risques émergents et les crises sanitaires. Elle autorise la mise sur le marché des médicaments vétérinaires et assure la pharmacovigilance associée. Elle définit, conduit et soutient des études et des programmes de recherche scientifiques et techniques dans son champ d'expertise et met en place des observatoires sur les produits et procédés. Elle s'appuie largement sur la communauté scientifique française et internationale, au moyen de partenariats et de conventions de recherche avec les institutions scientifiques, d'appels à candidatures et d'appels à projets de recherche. Elle conduit des actions de formation et d'information. Grâce à son large champ de compétences, l'Anses appréhende l'ensemble des expositions auxquelles l'homme est soumis à chacun des âges et à chacun des moments de sa vie – travail, domicile, déplacements, loisirs... Enfin, l'Agence apporte une attention particulière au dialogue avec la société civile ainsi qu'au respect de ses principes fondateurs : excellence, indépendance et transparence.

L'Anses en chiffres

- 1350 agents
- 800 experts extérieurs mobilisés dans les collectifs d'experts
- Budget annuel : 140 millions d'euros
- Plus de 8000 avis émis depuis l'origine (1999)
- 51 mandats de laboratoire national de référence
- 8 mandats de laboratoire de référence de l'Union européenne
- 20 mandats internationaux de référence
- 250 publications scientifiques par an
- Plus de 100 doctorants et post-docs

Pour en savoir plus : www.anses.fr

Le laboratoire de sécurité des aliments -Site de Boulogne sur mer- travaille sur des activités destinées à couvrir les risques sanitaires des produits de la pêche, à savoir les risques microbiologiques et physico- chimiques ainsi que les risques liés aux parasites.

TITRE ET DESCRIPTION DU SUJET :

Détection et quantification des différentes formes de viabilité de *Listeria monocytogenes* en biofilm.

Il existe dans la filière des produits de la pêche une microflore pouvant se composer de bactéries pathogènes comme par exemple *Listeria monocytogenes* et/ou d'altération comme par exemple *Pseudomonas* spp.

L. monocytogenes est un bacille, Gram positif, aéro-anaérobie facultatif et psychrotrophe. Cette bactérie est responsable d'une maladie appelé la listériose, une infection grave d'origine alimentaire qui touche principalement les personnes dites à risque comme les femmes enceintes, les personnes âgées et les immunodéprimés. En France, la maladie reste rare (incidence d'environ 5 cas par million d'habitants), mais néanmoins mortelle dans 20 à 30% des cas survenant en dehors de la grossesse. C'est une bactérie ubiquiste très largement répandue dans l'environnement et résistante dans le milieu extérieur. Elle peut contaminer les aliments à différents stades de la chaîne alimentaire et elle est pris en compte dans les critères de microbiologie du règlement européen (CE)n°2073/2005. Des rappels de produits alimentaires variés (poisson, fromage, charcuterie, ...) peuvent être réalisés par les contrôles officiels si les critères ne sont pas respectés.

Dans les ateliers de transformation, *L. monocytogenes* a la capacité d'adhérer aux surfaces et de former des biofilms bactériens. La présence de ce biofilm va permettre de protéger les cellules bactériennes des agressions environnementales (opérations de nettoyage et désinfection) et va donc contribuer à la persistance de ces cellules bactériennes dans les ateliers de transformation. L'application des normes ISO 11290-1 et 11290-2 pour le dénombrement et la détection des formes viables cultivables (VC) de *L. monocytogenes* dans les aliments et sur les surfaces implique l'emploi de milieux gélosés. Cependant ces méthodes ne prennent pas en compte les formes viables non cultivables (VNC). Ces formes VNC apparaissent suite à des stress environnementaux comme par exemple la température, le fumage, ou les opérations de nettoyage-désinfection. La présence de bactéries sous forme VNC pose un important problème au niveau sanitaire car elles ne peuvent pas être détectées par les techniques microbiologiques classiques mais elles restent potentiellement pathogènes dans des conditions favorables. Des méthodes de biologie moléculaire (exemple : PCR quantitative (qPCR)) sont apparues et ont été développées pour la recherche plus rapide et spécifique de cette bactérie dans différents types d'échantillons. Cependant, l'utilisation de cette méthode moléculaire ne permet pas de distinguer l'ADN des populations bactériennes viables (VC et VNC) de celui des populations mortes ce qui peut entraîner des faux positifs. Pour répondre à cette problématique, une alternative existe avec le monoazide de propidium (PMA). Lorsqu'une solution de PMA est ajoutée dans une suspension bactérienne, où les bactéries ont préalablement subi des stress environnementaux, le colorant va fixer spécifiquement l'ADN des cellules mortes et bloquer ainsi leur amplification lors de la qPCR. Cependant cette technique est peu sensible (1000 UFC) et il est nécessaire de mettre au point de nouvelle technique.

Ce stage s'inscrit dans le cadre d'une thèse qui a pour but de proposer une approche innovante par spectroscopie pour pouvoir détecter l'état de viabilité de cellules de *L. monocytogenes* en biofilm et ayant subi différents stress environnementaux. Le stagiaire interviendra dans la phase d'étude des biofilms, avec la culture de biofilms mono-espèce ou pluri-espèces dans des conditions retrouvées dans les ateliers de transformation agroalimentaire (température, temps d'incubation...). Après des traitements aux biocides, une évaluation de l'efficacité des techniques de microbiologie et moléculaire pour la détection et la quantification des formes viables (VC et VNC) sera réalisée en vue d'être comparée à la technique de spectroscopie développée par le doctorant. En parallèle de cette étude, des observations microscopiques après marquage fluorescent seront réalisées.

Ce stage permettra à l'étudiant de développer ses compétences en biologie moléculaire, en marquage immunologique, en microscopie et en microbiologie.

L'ensemble de ces travaux sera valorisé par la rédaction d'un article scientifique dans un journal international auquel le stagiaire sera associé et dont il aura pour tâche de rédiger une partie.

LIEU ET DUREE DU STAGE :

Le stage aura lieu à Boulogne sur Mer à partir de janvier 2021 pour une durée de 6 mois.

PROFIL :

Diplôme en cours Etudiant(e) en Master 2 ou école d'ingénieur

REMUNERATION :

La rémunération est celle prévue dans les textes pour des stages de plus de 8 semaines (554,40 euros).

DATE LIMITE DE REPONSE : 11 Octobre 2020

COMPETENCES

- Maîtrise des techniques de bactériologie et de biologie moléculaire
- Maîtrise de l'outil PCR (conventionnelle et en temps réel)
- Des connaissances en spectroscopie serait un plus
- Respect des procédures qualité
- Capacités d'autonomie, de polyvalence, d'organisation dans le travail et d'initiative, sens pratique
- Aptitude à rendre compte, à synthétiser et à rédiger
- Rigueur et capacité à respecter des règles d'hygiène strictes
- Pratique des outils informatiques (Pack office...)

CONTACT + MODALITES DE REPONSE

Merci d'adresser un CV + lettre de motivation à :

M Sylvain TRIGUEROS (sylvain.trigueros@anses.fr)

Mme Graziella MIDELET (graziella.midelet@anses.fr)

M Thomas BRAUGE (thomas.brauge@anses.fr)

ANSES- Boulevard Bassin Napoléon – 62200 BOULOGNE SUR MER.