

Proposition de stage de Master 2 (1^{er} semestre 2015)

PHAGES STX : OCCURRENCE DANS LES ENVIRONNEMENTS ALIMENTAIRES ET IMPACT DE LEUR MOBILITE SUR LE DIAGNOSTIC MICROBIOLOGIQUE

Lieu du stage :

La majeure partie des travaux seront réalisés au Laboratoire de Sécurité des Aliments (Anses, site de Maisons-Alfort), en collaboration avec ACTALIA (Institut technique du lait et des produits laitiers), dans le cadre d'une unité mixte technologique (UMT-ARMADA).

Encadrants :

Ludivine Bonanno, Frédéric Auvray (ludivine.bonanno@anses.fr, frederic.auvray@anses.fr);
Valérie Michel (v.michel@actalia.eu)

Contexte

Objet de crises sanitaires récurrentes, les *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines (STEC) sont des bactéries pathogènes émergentes qui représentent un danger pour la santé publique, avec un impact important pour les industries agro-alimentaires. Elles sont à l'origine de colite hémorragique (CH) et de syndrome hémolytique et urémique (SHU), parfois mortels, notamment chez les enfants. Les shiga-toxines (Stx) sont le principal facteur de virulence des STEC. Elles sont codées par des gènes véhiculés par des bactériophages (« phages Stx ») proches de la famille du bactériophage lambda.

La **propagation des phages Stx** aux souches d'*E. coli* peut causer l'émergence de nouvelles souches pathogènes (i.e. souche O104:H4 à l'origine de l'épidémie de SHU de 2011). Il est donc important de mieux connaître l'occurrence et l'abondance de phages *stx* dans les aliments et dans les environnements de production, en vue d'identifier d'éventuels facteurs de risques. Par ailleurs, la mobilité des phages Stx peut avoir un **impact sur le résultat des analyses microbiologiques**. En effet, les STEC peuvent potentiellement perdre leur phage (et donc leur gène *stx*) sous l'influence de certains stress, ce qui peut conduire au final à l'isolement de souches d'*E. coli* dépourvues de gènes *stx*, et donc à un diagnostic erroné (cf avis de l'Anses du 11 janvier 2011).

Objectifs du stage

L'objectif de ce stage sera de déterminer l'impact des phages Stx (i) en termes de dissémination des gènes *stx* dans les aliments et dans les environnements de production et (ii) en termes d'influence sur le résultat des analyses microbiologiques (obtention de résultats faux-négatifs).

Des protocoles mis au point dans le cadre de travaux de thèse Cifre seront utilisés pour mettre en évidence la présence de phages Stx (et le cas échéant leur quantité) dans des prélèvements alimentaires et environnementaux (ateliers de fabrication de fromages en particulier).

L'induction des phages Stx au cours du processus d'isolement des STEC (enrichissement en bouillon sélectif, isolement sur milieux gélosés) sera également analysée. L'impact de différentes substances sélectives (ex : antibiotiques) présentes dans les milieux d'enrichissement et dans les milieux d'isolement sera évalué.

Principales techniques utilisées :

- Techniques classiques en microbiologie des aliments (en partie au sein de locaux de classe P3)
- Techniques classiques en biologie moléculaire
- Extraction d'acides nucléiques (chelex, MagNaPure-Roche)
- PCR en temps réel : Lightcycler 480 (Roche)
- Isolement de souches par IMS (séparation immuno-magnétique) et hybridation sur colonies.