

**Dossier à transmettre pour publication sur le site internet à la Direction des Laboratoires
(dl@anses.fr)**

Thématique scientifique : Listeria.....
Sujet du stage : Analyse de la diversité génétique des souches de *Listeria monocytogenes* en Europe

Nom et prénom du responsable scientifique (chargé du suivi du stage) : Benjamin Félix...

Fonctions Ingénieur au sein de l'équipe Listeria.....

Grade : Cat 2

Entité d'accueil : Equipe Listeria

Unité d'accueil : Unité SEL

Type de stage : Master recherche Master professionnel Stage ingénieur
..... Thèse vétérinaire Thèse de médecine Thèse de pharmacie....

Type de financement :

Financement Anses

Co-financement Anses; co-financeur :

Financement extérieur ; financeur :

Durée minimale du stage : 6 mois

Dates : de : Janvier à Juin 2015

Comment le sujet s'inscrit-il dans les missions de l'Agence : Ce sujet s'intègre dans la première partie d'un projet européen de deux ans financé par l'EFSA (OC/EFSA/BIOCONTAM/2014/01) intitulé "Closing gaps for performing a risk assessment on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods : the comparison of isolates from different compartments along the food chain and from humans using whole genome sequencing (WGS) analysis".

Chef d'Unité

Directeur de l'Entité

Date :

Date :

Signature :

Avis :

Signature :

Titre et résumé du sujet de stage (1 page max) : Analyse de la diversité génétique des souches de *Listeria monocytogenes* en Europe

Listeria monocytogenes (*Lm*) est responsable chez l'Homme, d'une maladie infectieuse d'origine alimentaire, la listériose. La contamination des aliments peut survenir à partir de matières premières animales ou végétales ou à partir de l'environnement. De nombreux travaux laissent percevoir une large diversité des souches aussi bien au niveau génétique qu'au niveau de la virulence. Entre 2010 et 2011, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA), avec la Commission européenne, a organisé une enquête de prévalence communautaire (Base line survey-BLS), afin de recueillir des données de prévalence de *Lm* dans certaines catégories de denrées alimentaires prêtes à être consommées.

Les techniques de typage permettent de caractériser la variation des populations bactériennes. Des approches basées sur l'analyse de la séquence du génome entier (Whole Genome Sequencing-WGS) fournissent en particulier une haute résolution et devraient permettre de comprendre et de suivre les sources et la propagation de la maladie.

L'équipe « *Listeria* » de l'Unité SEL (*Salmonella-E.coli-Listeria*) du Laboratoire de Sécurité des Aliments de Maisons-Alfort de l'Anses figure parmi les unités supports pour les activités de Laboratoire de référence de l'Union Européenne (LRUE) et Laboratoire National de Référence (LNR) pour *Lm*. Dans ce cadre, elle dispose (1) d'une large collection d'isolats d'origine alimentaire collectés en France et en Europe et (2) de bases de données moléculaire contenant à la fois les informations épidémiologiques détaillées et données de typage (PFGE, sérotypes) associées pour chacun de ces isolats.

Le stage proposé s'inscrit dans la première partie d'un projet Européen de deux ans financé par l'EFSA. L'équipe « *Listeria* » ainsi que trois autres laboratoires en Europe sont associés à ce projet. L'objectif du stage est de mieux connaître la diversité génétique des souches alimentaires circulant en Europe. Pour cela, nous effectuerons la caractérisation moléculaire d'une sélection d'isolats provenant de différentes origines (aliments prêts à consommer, animaux producteurs de denrées alimentaires, environnement de la transformation des aliments, humains, environnement naturel), en utilisant l'analyse WGS.

Une première étape sera de sélectionner, à partir des données épidémiologiques et des données de typage (PFGE, sérotype) disponibles dans nos bases de données, un large panel de souches (environ 200). Ce panel couvrira le maximum de diversité génétique. Des souches isolées dans le cadre de la BLS feront partie de cette sélection. La sélection sera complétée par d'autres isolats de ces dernières années (2012-2014). Un scientifique spécialiste de la modélisation et de l'analyse quantitative du risque sera associé à ce travail de sélection.

Une seconde étape sera d'effectuer au laboratoire de Maisons-Alfort le repiquage puis l'extraction de l'ADN génomique de l'ensemble des souches sélectionnées. Différentes méthodes d'extraction seront testées et comparées. Les bibliothèques seront ensuite préparées.

Dans une troisième étape, les bibliothèques seront envoyées pour séquençage sur la plate forme technologique « Transcriptomique et Génomique » de l'Anses de Ploufragan. Pour certaines souches, l'interprétation des séquences biologiques et la recherche de marqueurs d'intérêt seront effectuées à la plate-forme de Ploufragan, en étroite collaboration avec l'équipe *Listeria*. Les séquences obtenues seront annotées, analysées et comparées grâce à différents outils bio-informatiques innovants.

Cette analyse de génomique comparative devrait permettre d'identifier des facteurs génétiques pouvant expliquer les différences de distribution écologique et de virulence. Ce travail offrira la possibilité (1) de comparer le WGS aux autres méthodes de typage bien établies (PFGE, MLST...) (2) d'explorer en détail la structure des populations de *Lm*.

Benjamin FELIX

Laboratory for Food Safety, Maisons Alfort site
Unit "Salmonella, E.coli, Listeria" SEL Listeria Team Project leader
23, Avenue du Général de Gaulle
94706 MAISONS ALFORT CEDEX
☎ phone: +33 1 49 77 28 29
☎ fax: +33 1 49 77 46 66
✉ email: benjamin.felix@anses.fr