

## Stage MASTER II : Influence des conditions de traitement des échantillons sur les résultats de dosage des (1,3)- $\beta$ -D-glucanes

### SUJET PROPOSE PAR :

- Société : **INRS** (Institut National de Recherche et de Sécurité), 1 rue du Morvan, CS60027, 54501 Vandoeuvre les Nancy Cedex.
- Personne à contacter : Dr P. DUQUENNE ; tel : 03 83 50 98 75, E-mail : philippe.duquenne@inrs.fr

### CONTEXTE

Les (1,3)-D-glucanes sont des polysaccharides qui entrent dans la composition de la plupart des moisissures, des champignons supérieurs, des levures, des algues, de nombreux végétaux et qui sont produits par certaines bactéries. Ils peuvent être émis dans l'air des papeteries, lors du recyclage des matériaux à base de cellulose, du tri et du compostage des déchets, en horticulture, lors de la production agro-alimentaire, de la récolte des cultures et de l'élevage. L'exposition aux (1,3)  $\beta$ -D-glucanes aéroportés a été associée à des irritations et des symptômes inflammatoires au niveau des voies respiratoires supérieures et à de la fatigue. Il n'y a pas de méthode disponible et publiée en France pour la mesure des (1,3)- $\beta$ -D-glucanes dans l'air et les expositions des salariés sur le territoire français ne sont pas documentées.

L'INRS a engagé des travaux de recherche dans le but de développer et d'évaluer une méthode pour la mesure des (1,3)- $\beta$ -D-glucanes dans l'air des lieux de travail. Une méthode de dosage, fondée sur la réaction du LAL (Lysat d'Amoebocytes de Limules) a été adaptée et caractérisée dans notre laboratoire. Elle doit ensuite être évaluée pour la mesure des (1,3)- $\beta$ -D-glucanes dans l'air mais une étude préalable du traitement des échantillons doit être menée. Un premier travail mené à l'institut en 2013 a permis d'expérimenter l'effet de différents traitements sur des modèles simples (cultures, solutions de (1,3)- $\beta$ -D-glucanes de structures différentes...) et de définir les traitements les plus efficaces. Les traitements ont été choisis en fonction de leurs effets présumés sur la solubilité des (1,3)- $\beta$ -D-glucanes et leur libération par les structures cellulaires. L'évaluation de ces traitements doit être complétée par un travail sur les échantillons de bioaérosols.

### OBJECTIF ET CONTENU DU STAGE

L'objectif du stage est d'étudier l'influence du prétraitement des échantillons sur les résultats d'analyse. Ce travail devrait permettre de définir un protocole de traitement des échantillons. Il s'agit en particulier d'étudier les effets du prétraitement sur les performances globales et les caractéristiques (variabilité etc...) de la méthode d'analyse (prétraitement+dosage). Les traitements seront choisis en fonction de leurs effets présumés sur la solubilité des (1,3)- $\beta$ -D-glucanes et leur libération par les structures cellulaires. Les modèles expérimentaux permettront de tester ces traitements sur des (1,3)- $\beta$ -D-glucanes de structures différentes. Les possibilités d'interférence des traitements avec le dosage seront étudiées.

Le stage débutera par un travail bibliographique. Les expérimentations seront effectuées au laboratoire sur des modèles simples (échantillons d'air prélevés sur des bioaérosols expérimentaux).

Prétraitements envisagés : eau, eau+tensioactif, lyse mécanique, traitement combiné...

Modèles expérimentaux : bioaérosols expérimentaux (moisissures ou de levures) ; échantillons de bioaérosols prélevés en entreprises.

L'étudiant préparera les cultures microbiennes à partir des souches de la collection du laboratoire et participera à la production des bioaérosols expérimentaux. Sur la base de plans d'expérience préalablement définis, il effectuera des expérimentations dans le but de comparer les différents traitements. Le dosage des glucanes sera effectué par la méthode au LAL et d'autres méthodes d'analyse microbiologique pourront également être mises en œuvre (dénombrement des cultivables, qPCR, dosage d'ATP, microscopie à épifluorescence etc...). Ces essais pourront également être effectués sur des échantillons de bioaérosols prélevés en entreprise. L'étudiant analysera les résultats et participera à leur interprétation ; il synthétisera l'ensemble de son travail dans un rapport final.

### PROFIL ET APTITUDES SOUHAITES :

- Etudiant en science des aérosols ou en biochimie/biologie/microbiologie avec des notions sur les aérosols, en MASTER deuxième année (niveau bac + 5).

- Lecture de l'Anglais, autonomie, maîtrise de la microbiologie, maîtrise de la bureautique (Word, Excel...) et connaissances en statistique.

**CONDITIONS DU STAGE :**

- Stage de 6 mois à pourvoir de mars à septembre 2016
- Stage indemnisé (environ 1000 euros bruts mensuels)
- Le stagiaire sera basé à Vandœuvre-lès-Nancy (54) sous la direction de Philippe Duquenne