

## Stage MASTER II : Etude des caractéristiques d'une méthode de mesure des moisissures dans les bioaérosols par qPCR

### 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

L'évaluation des risques liés à l'exposition professionnelle à des bioaérosols implique le déploiement de méthodes et stratégies adaptées. L'essentiel des études visant à évaluer l'exposition aux bioaérosols au poste de travail dans différents secteurs d'activité professionnelle a été mené en mesurant un nombre limité de paramètres. Pourtant, la composition de l'aérosol (nature des composés, identité et diversité des microorganismes présents), le nombre d'entités microbiennes et la quantité de composés microbiens qui y sont présents ainsi que la taille des particules portant ces entités, sont des déterminants importants à prendre en compte pour évaluer ces expositions de façon pertinente.

Le stage entre dans le cadre d'une étude se déroulant pour quatre années à l'INRS concernant la caractérisation physique, chimique et biologique des bioaérosols émis lors des activités de tri des déchets ménagers. Cette étude a pour objectif principale de déterminer la composition (biodiversité) et la distribution granulométrique des aérosols fongiques émis lors des activités de tri et de recyclage de déchets. Une stratégie de mesure a été élaborée afin de réaliser une caractérisation approfondie des aérosols fongiques au poste de travail et de la déployer dans des entreprises. Les prélèvements seront effectués dans plusieurs entreprises du secteur du recyclage et du tri des déchets, à l'aide de méthodes classiques (cassette trois pièces, CIP 10-M), d'impacteurs en cascade ou de cyclones à plusieurs étages. La caractérisation comprendra une étude de la biodiversité (inventaire moléculaire des Eucaryotes et des Procaryotes) des bioaérosols émis dans des centres de tri et de recyclage des déchets. Elle sera complétée par des mesures de paramètres fongiques et, notamment, par la quantification de groupes fongiques spécifiques par qPCR.

### OBJECTIF ET CONTENU DU STAGE

L'objectif du stage de développer une méthode de mesure des moisissures dans les bioaérosols par qPCR, d'en évaluer les principales caractéristiques et de l'adapter à la mesure des bioaérosols. Un premier travail consistera à identifier les oligo-nucléotides et les protocoles qPCR publiés dans la littérature. L'étude s'attachera ensuite à constituer une gamme étalon d'ADN pour la qPCR et à étudier les caractéristiques de l'une des méthodes publiées. Ce travail sera effectué avec des souches fongiques issues de la collection du laboratoire et avec la chimie Taqman.

La méthode caractérisée sera adaptée à deux méthodes de prélèvement des bioaérosols (prélèvement par filtration et impaction en cascade) puis utilisée pour étudier les modalités de mise en suspension des microorganismes dans l'air des lieux de travail dans un secteur d'activité pour lequel les moisissures représentent un risque biologique (tri des ordures ménagères). Cette étape permettra de préciser le domaine d'application de la méthode caractérisée pour la mesure de l'exposition aux bioaérosols.

Le stage débutera par un travail bibliographique. Les expérimentations seront effectuées au laboratoire sur des cultures fongiques (les genres seront définis en début de stage) et sur des échantillons d'air prélevés en entreprise par des techniciens de l'INRS. L'étudiant préparera les cultures microbiennes à partir des souches de la collection du laboratoire et réalisera les essais PCR sur la base d'un plan d'expérience défini à l'avance. Des 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 biochimie/biologie/microbiologie, 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