

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Anses, Laboratoire de Sécurité des Aliments de Maisons-Alfort, Unité SEL, équipe Listeria
Adresse :
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Laurent Laloux
Responsable de l'encadrement : Benjamin Félix
Téléphone : 01 49 77 22 86
Fax :
E-mail : benjamin.felix@anses.fr
Co-encadrant éventuel : Sophie Roussel

Perspectives de poursuite de thèse :

oui
 non

avec une bourse spécifique

oui
 non

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (2 pages maximum) :

Identification de marqueurs moléculaires expliquant l'adaptation de souches de *Listeria monocytogenes* aux ateliers de transformation de viandes de porc

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 mais plus particulièrement à partir de l'environnement des sites de production où les souches survivent, persistent et s'implantent.

La filière de production porcine a été fortement impactée ces dernières décennies par plusieurs crises sanitaires liées à *Lm*. La contamination des sites de production et la persistance de certaines souches en atelier de transformation sont à l'origine de ce problème de santé public.

L'équipe « Listeria » de l'Unité SEL (*Salmonella-E.coli-Listeria*) du Laboratoire de Sécurité des Aliments de l'Anses de Maisons-Alfort 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*. L'Ifip, l'Institut de la filière porcine, est un institut technique agro-industriel qui a, entre autres activités, une mission de surveillance épidémiologique des contaminants et d'hygiène de production pour les industries agro-alimentaires.

L'Ifip et l'Unité SEL collaborent depuis de nombreuses années, dans l'objectif d'améliorer les **connaissances sur les populations de souches de *Lm* isolées de la filière porc**. Dans le cadre d'une unité mixte technologique, « l'UMT Armada », ces deux entités ont mis en place une **base de données moléculaire, spécifique à la filière porc**, contenant à la fois les informations épidémiologiques détaillées et les données de typage (PFGE*, sérotypes et séquences génomiques) de souches provenant des ateliers de transformation de matières premières et de produits finis, isolées en France, sur une période de 10 ans.

La base est enrichie par des données de souches isolées de l'élevage et l'abatage /découpe, grâce à une **collaboration avec l'Anses de Ploufragan**. La base reflète l'ensemble des profils PFGE circulant dans la filière porc, à tous les maillons de la chaîne alimentaire.

De plus, un projet de recherche financé par France-Afrimer (Décembre 2015- Avril 2017) est en cours dans l'Unité SEL, mené en étroite collaboration avec l'Ifip. Il est fondé sur

l'hypothèse scientifique qu'un ensemble de souches persistantes **accumule, au fur et à mesure, du temps des mutations spécifiques utiles à la survie en atelier de production agro-alimentaire**. L'objectif est d'identifier ces mutations génomiques.

Ce projet a permis de constituer, dans un premier temps, par notre réseau de partenaires Français (dont l'Ifip) et Européens, un panel de **souches persistantes** isolées dans des ateliers de transformation de porc. Ce panel est constitué de 14 « groupes » de souches pour lesquelles un ou plusieurs clones ont été collectés à partir de 12 usines différentes. Ces souches ont été typées et se répartissent dans 7 complexes clonaux distincts.

Nous avons ensuite chercher des **souches dites « naïves »**, c'est à dire isolées d'animaux de ferme ou d'environnements agricoles ou naturels, qui n'ont jamais été exposées à la pression d'un atelier de transformation industriel. Ces souches ont été choisies en fonction de leur proximité génétique (profils PFGE similaire ou même complexe clonal) avec les souches persistantes. La difficulté réside dans le fait que, malgré nos recherches, nous disposons de peu de souches « naïves » appartenant aux mêmes groupes génétiques que les souches persistantes.

Le stage, proposé au sein de l'Unité SEL, en collaboration avec l'Ifip, s'inscrit dans la continuité de ce projet de recherche. Il vise à identifier des marqueurs pouvant expliquer l'adaptation de certaines souches aux ateliers de transformation de viandes de porc.

Nous constituerons un large panel de souches, incluant en particulier plus de souches isolées en France dans des environnements préservés (production végétale, faune sauvage, prélèvement de terre). Ces souches seront collectées sur le terrain. Nous comparerons, par Whole genome sequencing (WGS) le génome de ces souches à celles de souches (1) sélectionnées à partir de la base de données de l'UMT Armada et isolées dans les différents maillons de la chaîne alimentaire (2) de souches considérées comme persistantes dans les sites de production. La distribution des complexes clonaux obtenus sera comparée à celle observée sur les souches Françaises responsables de cas cliniques (Maury et al., 2016).

Cette analyse génomique comparative devrait permettre d'identifier des facteurs génétiques pouvant expliquer **les différences de distribution écologique entre les environnements industriels et naturels**. L'ensemble des résultats obtenus permettra aux professionnels de mieux appréhender le risque sanitaire lié à *Lm* dans la filière porc, en offrant de nouvelles perspectives pour le suivi et l'élimination des souches persistantes.

Déroulement du stage :

- 1) Etude bibliographique pour définir des sites de prélèvements,
- 2) Effectuer deux campagnes de prélèvement de quelques jours dans des parcs naturels français à la recherche de souches de *Lm*,
- 3) Détecter *Lm* dans les échantillons prélevés et isoler les souches,
- 4) Caractérisation moléculaire des souches par PFGE,
- 5) Comparaison de la distribution des groupes génétiques obtenus avec ceux de souches persistantes, de souches alimentaires non persistantes et de souches cliniques,
- 6) Séquençage complet des génomes d'une sélection de souches représentative de chacun des groupes génétiques,
- 7) Analyse comparative des génomes obtenus.

Maury M, Tsai YH, Charlier C, Touchon M, Chenal-Francisque V, Leclercq A, Criscuolo A, Gaultier C, Roussel S, Brisabois A, Disson O, Rocha E, Brisse S, Lecuit M. 2016. "Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity", *Nature Genetics*.