

## OFFRE DE THESE

### Ecole Doctoral Environnements-Santé n° 554 Bourgogne Franche-Comté

# Développement de biomarqueurs fluorescents chez *Listeria monocytogenes* pour mieux prévoir l'impact du procédé alimentaire sur sa survie et sa virulence dans les produits laitiers

## Description du sujet

L'offre de thèse s'inscrit dans le cadre du projet FluoPath financé par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) sur la période avril 2024-mars 2028. Ce projet réunit 7 partenaires dont 4 laboratoires de recherche académique (UMR PAM, UMR SECALIM, UMR SQPOV et LUBEM), 2 Instituts Techniques Agro-Industriels (AERIAL et ADRIA) et l'interprofession laitière (CNIEL).

Le projet FluoPath a pour vocation première de déterminer de nouveaux biomarqueurs (promoteurs induisant l'expression de gènes d'intérêt) couplés à un biosenseur fluorescent permettant d'acquérir de nouvelles connaissances sur l'état physiologique de deux pathogènes (*Listeria monocytogenes* et *Bacillus cereus*) en milieux laitiers (lait, fromage modèle dilué et si possible fromage modèle solide) en lien avec l'impact de perturbations technologiques. *In fine*, ces connaissances combinées aux connaissances présentes dans la littérature scientifique seront utilisées pour améliorer les modèles de prévision du risque microbiologique dans les produits laitiers.

La thèse portera sur le pathogène *L. monocytogenes* et sera réalisée au sein des laboratoires académiques UMR PAM (Dijon) et UMR SECALIM (Nantes) selon un calendrier qui n'engagera pas l'étudiant·e à se déplacer régulièrement entre les 2 villes du fait de leur éloignement géographique (les frais de déplacements seront à la charge des laboratoires d'accueil). La thèse, d'une durée de 3 ans, débutera en octobre 2024 et se terminera en septembre 2027.

La thèse sera articulée autour de 4 axes

### **Axe 1 : Sélection de deux souches parmi six de *L. monocytogenes* et de deux conditions de stress pertinentes**

L'objectif principal de cet axe sera d'évaluer la résistance des six souches de *L. monocytogenes* vis-à-vis de deux conditions de stress rencontrées dans les chaînes d'opérations unitaires de la filière laitière. L'analyse statistique de ces phénotypes d'intérêt permettra de sélectionner parmi ces six souches, deux souches qui présenteront des niveaux de résistance différents. Ces souches seront utilisées pour l'ensemble de la thèse.

### **Axe 2 : Identification d'ARNm spécifiques de chaque phénotype d'intérêt**

L'objectif de cet axe est d'identifier des gènes de virulence ou de stress sur-exprimés lors de l'application des deux conditions de stress chez les deux souches sélectionnées au titre de l'Axe 1. Le taux d'expression des gènes d'intérêt, identifiés par une étude biobibliographique, sera mesuré par RT-qPCR. De manière à générer de nouvelles connaissances fondamentales, une analyse transcriptomique sans a priori sera conduite par RNAseq associée à une analyse bio-informatique (ontologie, identification des séquences promotrices spécifiquement impliquées dans chacun des phénotypes ...).

### **Axe 3 : Élaboration d'une banque de mutants fluorescents par fusion transcriptionnelle (chromosomique)**

Les gènes d'intérêt identifiés au titre de l'Axe 2 seront 'autant de candidats considérés pour construire une banque de mutants à partir des deux souches précédemment retenues (Axe 1). Ces mutants fluorescents du fait de l'insertion du gène codant pour une protéine fluorescente (GFP, RFP, CFP ou YFP), auront vocation à être utilisés en vue de générer de nouvelles connaissances en lien avec l'impact de conditions de stress sur la résistance et la virulence de *L. monocytogenes*.

Axe 4 : Quantification de la fluorescence des mutants dans différentes conditions de stress

Dans cet axe, il s'agira d'évaluer la fluorescence émise par les mutants placés dans les conditions de stress préalablement établies. Il s'agira en particulier d'optimiser les conditions expérimentales pour s'affranchir d'éventuels artefacts tels que l'autofluorescence de la matrice laitière.

### **Dernières références sur le sujet**

- den Besten, H. M. W., A. Amézquita, S. Bover-Cid, S. Dagnas, M. Ellouze, S. Guillou, G. Nychas, C. O'Mahony, F. Pérez-Rodriguez and J.-M. Membré 2018. Next generation of microbiological risk assessment: Potential of omics data for exposure assessment. *Int J Food Microbiol* **287**: 18-27.
- Duqué, B., S. Rezé, A. Rossero, J.-M. Membré, S. Guillou and N. Haddad 2021. Quantification of *Campylobacter jejuni* gene expression after successive stresses mimicking poultry slaughtering steps. *Food Microbiol*: 103795.
- Duqué, B., N. Haddad, A. Rossero, J.-M. Membré and S. Guillou 2019. Influence of cell history on the subsequent inactivation of *Campylobacter jejuni* during cold storage under modified atmosphere. *Food Microbiol* **84**: 103263.
- Guillou, S. and J.-M. Membré 2019. Inactivation of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella enterica* under high hydrostatic pressure: A quantitative analysis of existing literature data. *J Food Prot* **82**(10): 1802–1814.
- Ignatova, M., B. Guével, E. Com, N. Haddad, A. Rossero, P. Bogard, H. Prévost and S. Guillou 2013. Two-dimensional fluorescence difference gel electrophoresis analysis of *Listeria monocytogenes* submitted to a redox shock. *J Proteomics* **79**(0): 13-27.
- Ignatova, M., H. Prévost, I. Leguerinel and S. Guillou 2010. Growth and reducing capacity of *Listeria monocytogenes* under different initial redox potential. *J Appl Microbiol* **108**(1): 256-265.
- Lang, E., Guyot, S., Alvarez-Martin, P., Perrier-Cornet, J. M. & Gervais, P. Caco-2 Invasion by *Cronobacter sakazakii* and *Salmonella enterica* Exposed to Drying and Heat Treatments in Dried State in Milk Powder. *Front Microbiol* **8**, 1893 (2017).

- Lerasle, M., S. Guillou, H. Simonin, V. Anthoine, R. Chéret, M. Federighi and J. M. Membré 2014. Assessment of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* level in ready-to-cook poultry meat: Effect of various high pressure treatments and potassium lactate concentrations. *International Journal of Food Microbiol* **186**(0): 74-83.
- Ragon, M. *et al.* The Yin-Yang of the Green Fluorescent Protein: Impact on *Saccharomyces cerevisiae* stress resistance. *J Photochem Photobiol B, Biol* **112603** (2023) doi:10.1016/j.jphotobiol.2022.112603.
- Zoz, F. *et al.* *Listeria monocytogenes* ability to survive desiccation: Influence of serotype, origin, virulence, and genotype. *Int J Food Microbiol* **248**, 82–89 (2017).
- Zoz, F. *et al.* Control of relative air humidity as a potential means to improve hygiene on surfaces: a preliminary approach with *Listeria monocytogenes*. *PLOS ONE* **11**, e0148418 (2016).
- Zoz, F. *et al.* Management of *Listeria monocytogenes* on surfaces via relative air humidity: Key Role of cell envelope. *Foods* **10**, 2002 (2021).

### **Nature du financement**

Contrat ANR : à partir de 2100 € brut par mois

### **Présentation des établissements et des laboratoires d'accueil**

#### **UMR Procédés Alimentaires et Microbiologiques (PAM)**

La thèse proposée se déroulera alternativement au sein de l'équipe Procédés Microbiologiques et Biotechnologiques (PMB) de l'UMR PAM et l'UMR SecAlim. L'UMR PAM est sous la tutelle de l'Institut Agro Dijon et de l'Université de Bourgogne. L'équipe PMB focalise sa recherche sur la compréhension des mécanismes de réponses cellulaires à différents types de perturbations environnementales et technologiques. Les connaissances tirées de cette recherche confèrent à l'équipe PMB une forte expertise dans la décontamination de matrices alimentaires et de surfaces technologiques ainsi que dans les domaines de la microscopie et spectroscopie à fluorescence via la plateforme DimaCell.

Site web : <http://www.umar-pam.fr>

#### **UMR SecAlim**

L'UMR SecAlim est sous la tutelle d'Oniris VetAgroBlo et d'INRAE. Les missions de l'unité sont de produire et diffuser des connaissances et des méthodes scientifiques dans le domaine de la sécurité microbiologique des aliments pour répondre aux enjeux industriels et aux demandes sociétales de santé publique et de maîtrise des pertes alimentaires.

Ses actions de recherche visent à caractériser et maîtriser le risque microbien (sanitaire et d'altération) dans les produits alimentaires. Des méthodes moléculaires, de microbiologie classique et prévisionnelle sont utilisées pour comprendre, quantifier et modéliser le comportement des microorganismes au cours de la transformation des aliments, à l'échelle de l'écosystème microbien ou à l'échelle d'espèces bactériennes modèles. Une meilleure évaluation du risque microbiologique permet d'apporter des solutions expertes et innovantes pour assurer la sécurité microbiologique des aliments.

Site web : <https://secalim.angers-nantes.hub.inrae.fr/>

### **Ecole doctorale**

Ecole doctorale n° 554 « Environnements-Santé »

### **Intitulé du doctorat**

Biotechnologies Agroalimentaires

### **Pays d'obtention du doctorat**

France

### **Établissement délivrant le doctorat**

Université de Bourgogne Franche-Comté

### **Ecole doctorale**

Ecole doctorale Environnements-Santé

### **Profil du candidat**

**Prérequis :** Le/la candidat(e) motivé(e) aura un Master 2 Recherche ou équivalent en microbiologie des aliments et devra s'inscrire à école doctorale n° 554 « Environnements-Santé » (Bourgogne Franche-Comté).

**Connaissances et compétences souhaitées :** adaptabilité rapide et autonomie, savoir travailler en groupe, sens de l'écoute et du partage des tâches, analyses usuelles de microbiologie, biologie moléculaire, génomique environnementale, microbiologie des aliments, notions de bioinformatique, maîtrise de l'anglais, capacités rédactionnelles et organisationnelles. Le/la candidat-e sera devra travailler en laboratoire de niveau de sécurité biologique de classe 2.

### **Date limite de candidature**

30/06/2024

### **Éléments à fournir pour la candidature**

Il sera indispensable de fournir pour tout dépôt de candidature :

- un CV complet et détaillé, en particulier sur le niveau d'expérience des prérequis demandés
- lettre de motivation
- recommandations ou coordonnées de personne(s) à contacter pour recommandation
- certificat de réussite de Master ou résultats du Master en cours (si Master effectué pour l'année universitaire 2023-2024)

## **Contacts**

### **Directeur et Directrice de thèse**

Dr Stéphane GUYOT

Maître de Conférences (HDR) - UMR PAM 1517, 21000 Dijon, France

✉ [stephane.guyot@agrosupdijon.fr](mailto:stephane.guyot@agrosupdijon.fr)

☎ +33 3 80 77 23 87

Dr Sandrine GUILLOU

Ingénieure de Recherche INRAE (HDR) - UMR SecAlim 1014, 44300 Nantes, France

✉ [Sandrine.Guillou@inrae.fr](mailto:Sandrine.Guillou@inrae.fr)

☎ +33 2 40 68 77 63

### **Co-encadrant·e·s de thèse**

Pr Jean-Marie PERRIER-CORNET - UMR PAM 1517, 21000 Dijon, France

✉ [jean-marie.perrier-cornet@agrosupdijon.fr](mailto:jean-marie.perrier-cornet@agrosupdijon.fr)

☎ +33 3 80 77 40 04

Dr Nabila HADDAD

Maître de Conférences (HDR) - UMR SecAlim 1014, 44300 Nantes, France

✉ [Nabila.Haddad@inrae.fr](mailto:Nabila.Haddad@inrae.fr)

☎ +33 2 40 68 64 39