

Développement de biomarqueurs fluorescents chez *Bacillus cereus*

pour mieux prédire l'impact de perturbations sur sa résistance et sa virulence dans les produits laitiers

Contexte

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).

La thèse sera réalisée au sein des laboratoires académiques UMR SQPOV (Avignon) et LUBEM (UBO Quimper) 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. Elle a pour vocation de déterminer de nouveaux biomarqueurs (promoteurs induisant l'expression de gènes d'intérêt) couplés à un biosenseur fluorescent permettant d'acquérir de nouvelles connaissances de 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 prédiction du risque microbiologique dans les produits laitiers.

Cette thèse est centrée sur les bactéries du groupe *B. cereus*, bactéries Gram⁺ sporulantes ubiquitaires de l'environnement réparties dans différents groupes phylogénétiques¹. Elles sont susceptibles de contaminer toutes les matières premières et les aliments au sein de la chaîne d'approvisionnement et de transformation, et peuvent altérer leurs qualités organoleptiques, leur durée de conservation, voire représenter un risque sanitaire. En effet, certaines souches sont responsables de toxi-infections d'origine alimentaire se traduisant par des douleurs abdominales et des diarrhées (souches entéropathogènes), symptômes auxquels s'ajoutent des vomissements et des nausées (souches émétiques) dûs à la toxine émétique, le céréulide, synthétisée par les *B. cereus* du groupe III dans l'aliment et contaminant largement la viande, les œufs, le lait et les féculents.

L'objectif de cette thèse sera : 1) D'évaluer par RT-qPCR, l'expression de potentiels biomarqueurs connus liés à la production de toxines, à la virulence ou à la sporulation dans des souches émétiques. 2) D'identifier par RNA seq de nouveaux biomarqueurs pour des phénomènes moins étudiés (par exemple, la phase de latence²). 3) De construire une collection de mutants fluorescents (fusions transcriptionnelles *entre* les biomarqueurs d'intérêt et le gène codant la Green Fluorescent Protein). Ces mutants seront exposés à divers stress en milieu lait, voire fromage et leurs performances caractérisées par cytométrie de flux et microscopie à fluorescence.

Approches mises en œuvre :

Génétique et physiologie microbiennes pour l'identification de gènes candidats et la construction des souches mutantes.

Microscopie à fluorescence et cytométrie de flux pour l'étude du comportement des mutants à l'échelle de la cellule unique.

Equipes :

SporAlim au sein de l'unité SQPOV (Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale). SQPOV est une UMR composée de 70 agents en moyenne (permanents et non-permanents), avec 2 tutelles (Avignon Université et INRAE), hébergée par l'INRAE et classée en zone à régime restrictifs (ZRR). (<https://www6.paca.inrae.fr/sqpov/Equipes-Personnes/SporAlim>). Le/la doctorant(e) sera amené(e) à manipuler des bactéries pathogènes de classe 2.

LUBEM au sein de l'Université de Bretagne Occidentale (Laboratoire Universitaire de Biodiversité et d'Ecologie Microbienne). Le LUBEM est une unité de recherche composée de 50 agents en moyenne (permanents et non

permanents), de l'[Université de Bretagne Occidentale](https://www.univ-brest.fr/lubem/). Le LUBEM est également une unité sous contrat INARE (<https://www.univ-brest.fr/lubem/>).

Obligation de neutralité et principe de laïcité : Les agents publics, titulaires ou contractuels mais également les stagiaires, qu'ils soient ou non au contact des usagers, doivent respecter l'obligation de neutralité. A ce titre ils ne doivent pas, dans l'exercice de leurs fonctions, manifester leurs convictions, par leur comportement ou leur tenue, qu'elles soient religieuses, philosophiques ou politiques, tant à l'égard des usagers que vis-à-vis de leurs collègues, ni faire prévaloir leur préférence pour une religion.

Encadrement et contact : Sandrine PONCET (CR INRAE) sandrine.poncet-mouturat@inrae.fr. Noémie DESRIAC (MdC UBO) noemie.desriac@univ-brest.fr. Un suivi hebdomadaire et fixe sera mis en place dès le début de la thèse. La formation du/de la doctorant(e) respectera les règles fixées par l'ED 536 d'Avignon Université.

Le projet ANR FluoPath assure le financement du doctorant. Les conditions scientifiques, matérielles et financières pour la réalisation du projet de recherche sont mises en place dans les unités et équipes d'accueil. L'équipe SporAlim possède des laboratoires très bien équipés pour la microbiologie aérobie et anaérobie (dont des réacteurs), un laboratoire pour manipuler des germes pathogènes de classe 2, un laboratoire de biologie moléculaire et de biochimie, ainsi qu'un microscope à épifluorescence couplé à un système d'analyse d'images. Les tests de cytométrie en flux seront réalisés au LUBEM. Le (la) doctorant(e) aura accès à une formation par un personnel qualifié et aux ressources informatiques et bibliographiques des UMR SQPOV et LUBEM.

Formations et compétences recherchées

Le/la candidat(e) sera issu(e) d'un Master 2 en microbiologie ou d'un diplôme équivalent (école d'ingénieur). Il/elle doit avoir une formation solide en biologie moléculaire, biochimie et génétique microbienne. La maîtrise du français sera appréciée et un niveau en anglais scientifique avancé est attendu.

Compétences recherchées : curieux/se, assidu/e, capacité à monter et réaliser des expériences bien conçues, bonnes capacités de présentation, capacité à travailler en équipe.

Date limite de candidature (à 23h59): 15 Juillet 2024

¹ Guinebrière, M.-H. *et al.* Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. *Environ Microbiol* **10**, 851–865 (2008) doi: 10.1111/j.1462-2920.2007.01495.x .

² Français M, Carlin F, Broussolle V, Nguyen-Thé C. *Bacillus cereus cshA* Is Expressed during the Lag Phase of Growth and Serves as a Potential Marker of Early Adaptation to Low Temperature and pH. *Appl Environ Microbiol*. 2019 Jul 1;85(14):e00486-19. doi: 10.1128/AEM.00486-19. PMID: 31076436; PMCID: PMC6606889.