

Offre de stage M2 Cursus Master/Doctorat
Ecole Universitaire de Recherche Sciences et Technologies de la Santé
et Master 2 Biologie et Médicaments
UE XMS2BU100&101 – (2 pages max.)

FORMATION CONCERNEE

- GP Immunologie et Immuno-Intervention (I³)
- GP Oncologie, Hématologie et Médecine Nucléaire (OHNU)
- GP Microbiote, Intestin, Cerveau, Alimentation, Santé (MICAS)**
- GP Innovation for Cardiovascular, metabolic and Respiratory diseases (InnoCARE)
- GP Médecine 4R, Réparer, Remplacer, Régénérer, Reprogrammer (M4R)

TITRE DU STAGE :

CAMPYSTRAIN

LABORATOIRE D'ACCUEIL :

UMR 1014 INRAE/Oniris SECALIM
Oniris VetAgroBio Nantes, Ecole Nationale
101 Route de Gachet 44307 NANTES Cedex 3

EQUIPE D'ACCUEIL :

L'Unité Mixte de Recherche INRAE/Oniris Sécurité des Aliments et Microbiologie (SECALIM), constitué d'environ 30 personnes, exerce au sein d'Oniris ses activités dans le domaine de la sécurité microbiologique des aliments. Les recherches qui y sont menées visent à caractériser, évaluer et réduire le risque microbien dans les aliments carnés et produits de la mer.

RESPONSABLE(S) SCIENTIFIQUE(S) ET ADRESSE(S) MAIL :

NOM : STRUBBIA **Prénom : Sofia**
Mail : sofia.strubbia@inrae.fr **N° téléphone : 02.40.68.77.89**

TITRES ET TRAVAUX DE L'EQUIPE D'ACCUEIL (5 PUBLICATIONS LES PLUS SIGNIFICATIVES) :

1. DUQUÉ, B., J. CANON, N. HADDAD, S. GUILLOU AND J.-M. MEMBRÉ 2021. QUANTITATIVE APPROACH TO ASSESS THE COMPLIANCE TO A PERFORMANCE OBJECTIVE (PO) OF CAMPYLOBACTER JEJUNI IN POULTRY MEAT IN FRANCE. IJFM 336: 108916.
2. 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.

3. 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.
4. DUQUÉ, B., S. DAVIAUD, S. GUILLOU, N. HADDAD AND J.-M. MEMBRÉ 2018. QUANTIFICATION OF CAMPYLOBACTER JEJUNI CONTAMINATION ON CHICKEN CARCASSES IN FRANCE. FOOD RES. INT. 106: 1077-1085.
5. BRONNEC, V., TUROŇOVÁ, H., BOUJU, A., CRUVEILLER, S., RODRIGUES, R., DEMNEROVA, K., TRESSE, O., HADDAD, N., ZAGOREC, M 2016. ADHESION, BIOFILM FORMATION, AND GENOMIC FEATURES OF CAMPYLOBACTER JEJUNI BF, AN ATYPICAL STRAIN ABLE TO GROW UNDER AEROBIC CONDITIONS. FRONT. MICROBIOL.7:1002.

RESUME DU PROJET PROPOSE ET TECHNIQUES ENVISAGEES (MAXIMUM 1 PAGE) :

Campylobacter jejuni, une bactérie pathogène commensale du tractus digestif des volailles, demeure la principale cause de zoonose reportée dans l'Union Européenne (UE). *C. jejuni* est connu pour sa grande hétérogénéité génétique, en particulier au niveau du troupeau [1]. Cependant, une diminution significative de cette variabilité parmi les isolats de *C. jejuni* rencontrés du début de la chaîne d'abattage à la fin du processus d'abattage a été démontrée chez les poulets de chair alors que certains génotypes étaient plus prévalents en fin d'abattage que chez le poulet vivant [2, 3, 4, 5], suggérant ainsi que certaines souches spécifiques résistantes au stress survivent au processus d'abattage et de refroidissement.

Grâce aux développements des technologies de séquençage haut-débit, le séquençage du génome entier en tant qu'outil de typage des agents pathogènes d'origine alimentaire gagne en importance et fournit des informations d'une profondeur inégalée [6]. Ces approches permettent de comparer des génomes entiers, de déterminer le lien entre souches cliniques et environnementales [7] et d'extraire des informations supplémentaires telles que des marqueurs de virulence ou de résistance aux antimicrobiens [8]. Du point de vue de la santé publique, les données de surveillance peuvent être utilisées pour identifier les cas associés à des épidémies et retracer les sources potentielles de la contamination le long de la chaîne alimentaire et ainsi de fournir un ensemble d'isolats qui peuvent être étudiés plus en détail en laboratoire pour leur transmission et leur pathogénicité [9].

Toutefois, étudier les déterminants de la persistance de *Campylobacter* dans les ateliers d'abattage nécessite de réaliser un grand nombre d'isolements de souches bactériennes tout au long du procédé d'abattage. Une méthode d'amplification *shotgun* ne nécessitant pas d'isolement préalable des souches, rendrait possible l'identification simultanée de plusieurs souches présentes dans des échantillons alimentaires ou environnementaux. Pour ce faire, les enjeux scientifiques et techniques sont nombreux, et incluent l'influence du traitement des échantillons, de la quantité et la qualité des génomes de départ, de l'extraction et de la purification des acides nucléiques, ainsi que de la qualité des librairies produites [10].

L'objectif du stage sera de mettre au point la méthode de séquençage de génome entier en *shotgun* de *Campylobacter* à partir de matrice alimentaire. Ce stage sera découpé en deux tâches :

- la validation de la méthode d'extraction d'ADN et de séquençage des souches de *Campylobacter jejuni* présentes dans un même échantillon alimentaire, du type homogénat de peau de poulet de chair, artificiellement contaminé avec des souches de référence.

En parallèle, ces mêmes souches seront isolées sur gélose et séquencées, afin de servir de témoin et valider les étapes de préparation de l'échantillon.

- le second défi sera de réaliser l'analyse bio-informatique sur un grand volume de données générées. Au sein de l'équipe SECALIM, nous acquérons actuellement une expertise sur les grandes étapes du pipeline bio-informatique et la logique déployées pour l'analyse des données de ce type. Par ailleurs, nous compléterons notre expertise à l'aide de collaborations nationales (Ifremer, Nantes Université LS2N).

En fonction du degré d'autonomie et de l'état d'avancement du stage, la méthode précédemment validée pourrait être testée sur des échantillons naturellement contaminés et provenant d'un environnement industriel (carcasses de poulet issues du procédé d'abattage).

L'originalité de cette étude réside dans le développement d'une méthode innovante d'identification du pathogène *Campylobacter* sans étape préalable d'isolement. Cela permettra d'avoir une vision plus exhaustive des souches présentes dans un échantillon donné, en limitant les biais dus à la mise en culture et au repiquage nécessaires à la sélection des isolats.

TECHNIQUES ENVISAGEES :

- TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE (EXTRACTION D'ADN, QPCR, PREPARATION DES LIBRAIRIES POUR SEQUENÇAGE HAUT-DEBIT)
- TECHNIQUES DE BACTERIOLOGIE (MISE EN CULTURE ET ISOLEMENT DES SOUCHES SUR GELOSE SELECTIVE)
- ANALYSE BIO-INFORMATIQUE ET VALIDATION DE LA METHODE :
 - PRETRAITEMENT DES READS POUR L'ELIMINATION DES ADAPTATEURS, TRIMMING (FLASH 1.2.11 ET CUTADAPT 1.8.3) [21 , 22]. ELIMINATION DES SEQUENCES GENOMIQUES ASSOCIEES A L'ESPECE GALLUS GALLUS (POULET) (GCF_000002315.4)
 - ASSEMBLAGE DE NOVO DES READS EN CONTIGS VOIRE GENOMES ENTIERES AVEC L'OUTIL SPADES V.3.13.0 ([HTTPS://GITHUB.COM/ABLAB/SPADES](https://github.com/ablab/spades)).
 - ASSIGNATION TAXONOMIQUE : CONSTRUCTION D'UNE BASE DE DONNEES DE REFERENCE AVEC LES GENOMES DE *CAMPYLOBACTER* DISPONIBLES ([FTP://FTP.NCBI.NLM.NIH.GOV/GENOMES/REFSEQ/](ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/refseq/)) POUR L'ASSIGNATION DES SEQUENCES VIA L'ASSEMBLAGE DE NOVO [23]. LA COMPARAISON SERA EFFECTUEE SUR CGVIEW ([HTTP://CGVIEUW.CA/](http://cgviewuw.ca/)).

Références bibliographiques :

- 1 Wittwer, M., et al. 2005. Appl Environ Microbiol 71, 2840-7.
- 2 Newell, D. G., et al. 2001. Appl Environ Microbiol 67, 2636-40.
- 3 Johnsen, G., et al. 2006. Poult Sci 85, 2278-84.
- 4 Colles, F. M., et al. 2010. Int J Food Microbiol 137, 259-64.
- 5 Hastings, R., et al. 2011. J Appl Microbiol 110, 266-76.
- 6 Brown, E., et al. 2019. Foodborne Pathog Dis 16, 441-450.
- 7 Joensen, K. G., et al. 2020. Emerg Infect Dis 26, 523-532.
- 8 Tang, M., et al. 2020. Front Microbiol 11, 592496.
- 9 Tang, S., et al. 2021. Int J Food Microbiol 354, 109320.
- 10 Sekse, C., et al. 2017. Front Microbiol 8, 2029.