

13e Journée des doctorants du LMGE

Lundi 19 mai

9h - 17h30.

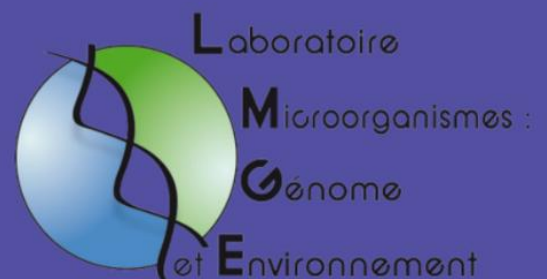
Pôle Physique - Amphi Recherche - Cezeaux

Conférence introductive par

Philippe BIAGINI

Paléomicrobiologie : Etude des
épidémies du passé

Suivie des présentations des doctorants de 1ère
et 3ème année de leurs travaux de thèse



L'Equipe Organisatrice à le plaisir de vous accueillir à la 13ème édition de la journée des doctorants du Laboratoire Microorganismes Génome et Environnement (LMGE)

Bakyono Bélélé Siméon, doctorant en 2^e année (EPIE)

Cheuvart Noémie, doctorante en 2^e année (IRTA)

Massit Caroline, doctorante en 2^e année (CMES)

Programme

8 h 45 : Accueil

9 h 00 : Conférence introductive par Philippe BIAGINI - Paléo-microbiologie : Etude des pathogènes du passé.

10 h 30 : Pause-café

10 h 50 à 12 h 30 : Présentations des doctorant(e)s de 3^e année

10 h 50 → CARRIERE Eugénie. **Mise au point d'un modèle cellulaire de co-infection par *Encephalitozoon intestinalis* et *Cryptosporidium parvum*.**

11 h 15 → FRIZOT Nathan. **Surfer sur la vague de chaleur : Quand la récupération et la qualité nutritionnelle font la différence.**

11 h 40 → KAUR Manjyot. **Unravelling the aggregation mechanism in *Lactobacillus crispatus*.**

12 h 05 → LALLOUE Pierre-Louis. **Plasticité phénotypique graduelle de *Microcystis* en réponse à des fluctuations thermiques rapides.**

12 h 30 à 14 h 30 : Pause-déjeuner

14 h 30 → MATHONAT Frédéric. **Phototrophy improves the aerial fitness in a photoheterotrophic *Methylobacterium* isolated from clouds.**

15 h 00 à 17 h 30 : Présentations des doctorant(e)s de 1ère année

17 h 00 → DIEUDÉ Pascaline. **Étude des effets cocktails sur le devenir, la toxicité et la bioremédiation des phytosanitaires.**

15 h 10 → CHARBONNIER Hugo. **Dynamique des symbiontes de l'abeille mellifère dans un environnement tropical pré et post invasion par *Varroa destructor*.**

15 h 20 → CHARRIER Fanny. **Approche métabolomique pour décrypter l'acquisition de tolérance induite par les (bio)fongicides dans les communautés microbiennes aquatiques.**

15 h 30 à 16 h 00 : Pause-café

16 h 00 → PERRUCHE Ophélie. **Epidémiologie des entérovirus basés sur les eaux usées à l'échelle du Puy-de-Dôme de 2021 à 2026.**

16 h 10 → CREUZET Elisa. **Infections à rhinovirus : épidémiologie moléculaire, caractéristiques cliniques, virologiques et interactions hôte-virus.**

16 h 20 → VIDAL Magali. **Caractérisation phénotypiques et génotypiques de souches cliniques d'*Enterococcus faecalis* : les souches d'*Enterococcus* responsables d'endocardite sont-elles particulières ?**

16 h 30 → FOUREL Laura. **Décryptage de l'impact de stressseurs biologiques (*Nosema ceranae* et *Varroa destructor*) et de la nutrition (qualité du pollen) dans la santé de l'abeille *Apis mellifera*.**

16 h 40 → ENSMINGER Lucas. **Caractérisation d'acteurs moléculaires impliqués dans les processus d'adhésion-invasion de microsporidies et décryptage des mécanismes liés à l'invasion cellulaire.**

16 h 50 → MOLLARD Emilie. **Etude du microbiote bactérien du ver de farine (*Tenebrio molitor*) en conditions d'élevage pour l'optimisation des rendements zootechniques et la qualité microbiologique de la production de protéines d'insectes.**

17 h 00 → ARQUE Maxime. **Dynamique des pan-génomés et partage de fonctions au sein des communautés microbiennes aquatiques.**

17 h 10 → COMBES Léa. **Dynamique et adaptation métabolique des eucaryotes unicellulaires lacustres en réponse à des perturbations : un focus sur les parasites.**

17 h 20 → DONNADIEU Sarah. **Étude de l'impact de la désoxygénation des milieux d'eau douce sur la structure et les activités métaboliques des communautés microbiennes en lien avec l'émission de gaz à effet de serre.**

17 h 30 : Clôture de la journée

CONFERENCE INTRODUCTIVE par PHILIPPE BIAGINI

Directeur de Recherche au CNRS, UMR 7268 ADES AMU - UMR 6134
SPE UCPP, Laboratoire Paléomicrobiologie



Paléomicrobiologie

Etude des pathogènes du passé

La paléomicrobiologie est la discipline qui permet d'étudier les pathogènes du passé, à l'appui de restes biologiques anciens (humains, animaux) mais également environnementaux. Elle repose nécessairement sur une complémentarité entre disciplines (archéologie, anthropologie, histoire, ...), des approches combinées étant à même de nous renseigner sur les événements infectieux qui ont pu affecter les populations anciennes, ainsi que sur l'évolution du pathogène considéré.

Les principes de ces études, l'évolution des techniques mises en œuvre et des exemples d'identifications (bactéries, virus, parasites) sont ici présentés.

RESUMES DES COMMUNICATIONS ORALES DES DOCTORANTS DE 3^e ANNEE

Titre : Mise au point d'un modèle cellulaire de co-infection par *Encephalitozoon intestinalis* et *Cryptosporidium parvum*

Auteurs : Eugénie Carrière¹, Marion Seive¹, Aurore Dubuffet¹, Sonia Lacroix-Lamandé², Julie Tottey² et Pascale Gueirard¹

¹Université Clermont Auvergne, CNRS UMR 6023, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, Clermont-Ferrand, France

²Infectiologie et Santé Publique, INRAE UMR 1282, Université de Tours, Nouzilly, France



Résumé : Les microsporidies et les cryptosporidies sont deux parasites eucaryotes intracellulaires obligatoires qui contaminent l'homme respectivement après ingestion de spores ou d'oocystes présents dans l'environnement. Ces parasites sont responsables de maladies intestinales, la microsporidiose et la cryptosporidiose, se traduisant par des diarrhées aiguës et des déshydratations sévères, particulièrement chez les patients immunodéprimés, notamment HIV+. La cryptosporidiose représente à elle seule une cause majeure de mortalité infantile dans le monde, touchant principalement les enfants de moins de deux ans. Des cas de co-infections impliquant microsporidies et cryptosporidies sont fréquemment rapportés chez les patients immunodéprimés, aggravant la sévérité des symptômes et la difficulté de traitement. Les espèces les plus souvent identifiées dans ces co-infections sont *Encephalitozoon intestinalis* pour les microsporidies et *Cryptosporidium parvum* pour les cryptosporidies. Afin d'étudier ces co-infections pour se rapprocher au mieux de l'épidémiologie chez l'Homme, un modèle cellulaire (lignée de cellules intestinales HCT8) a été développé *in vitro*. Ce modèle a permis de comparer la dynamique des mono- et des co-infections en testant deux modes d'infection : séquentiel (infection par la microsporidie suivie de l'infection par la cryptosporidie) et simultané (infections concomitantes). L'identification et la caractérisation des différents stades intracellulaires de développement des parasites ont été réalisées grâce à plusieurs techniques : colorations cytologiques, immunomarquages, hybridation in situ (FISH), ainsi que la mise au point d'un protocole combinant immunomarquage et FISH. Les résultats obtenus visent à déterminer si la présence simultanée des deux parasites modifie le développement, la virulence ou la persistance de chacun, afin de mieux comprendre les mécanismes de la co-infection et, à terme, d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pour améliorer la prise en charge des patients.

Mots-clés : Cryptosporidie – Microsporidie – Co-infection parasitaire – modèle cellulaire

Titre : Surfer sur la vague de chaleur : Quand la récupération et la qualité nutritionnelle font la différence

Auteurs : Nathan FRIZOT¹, Alexandre BEC¹, Apostolos-Manuel KOUSSOROPLIS¹

¹*Université Clermont Auvergne, CNRS, LMGE, F-63000 Clermont-Ferrand, France.*



Résumé : Les périodes de vagues de chaleur deviennent de plus en plus fréquentes et intenses avec le changement climatique, menaçant la survie des organismes aquatiques. La tolérance thermique—la capacité à supporter des températures extrêmes—dépend de la durée, de l'intensité et de l'exposition préalable ou non à un stress thermique, ainsi que du contexte nutritionnel lors de ce stress. Pendant cette période, les organismes accumulent des dégâts jusqu'à atteindre leur seuil léthal. Cependant, les fluctuations de températures pendant les vagues de chaleur permettent aux organismes d'avoir accès à des périodes de récupération durant lesquelles ils peuvent réparer leurs dommages et même améliorer leur tolérance (i.e. endurcissement). Malgré de nombreuses études sur les stress thermiques, très peu s'intéressent aux périodes de récupération.

Nous avons étudié la réparation des dégâts chez *Daphnia magna*, un crustacé planctonique. Nous avons analysé comment la composition biochimique (composition en stérols et en AGPIs) de leur nourriture influence le taux de réparation des dégâts thermiques à différentes températures (18, 20, 24, 26, 28 et 30°C) et durée (2 et 12h) de récupération. Nous avons trouvé que le taux de réparation suit une fonction unimodale par rapport à la température de récupération. Cependant, la qualité nutritionnelle a eu des effets bien plus marqués que la température. Le taux de réparation chez les individus nourris sur un régime pauvre en stérols et AGPIs était fortement réduit et n'ont pas pu retrouver leur tolérance initiale, même après 12 heures de récupération. Au contraire, les organismes nourris sur un régime riche en stérols en AGPIs ont pu retrouver leur tolérance initiale, et même l'augmenter.

Nos résultats soulignent l'importance de considérer les périodes de récupération et le contexte nutritionnel pour prédire les impacts à long terme des vagues de chaleurs sur les organismes.

Mots-clés : Tolérance thermique, période de récupération, réparation, qualité nutritionnelle, vague de chaleur

Title: Unravelling the aggregation mechanism in *Lactobacillus crispatus*

Autors: Manjyot KAUR¹, Caroline DAUSSET², Audrey DURAND², Adrien NIVOLIEZ², Christiane FORESTIER¹, Sylvie MIQUEL¹

¹ Université Clermont Auvergne, CNRS, LMGE, F-63000 Clermont–Ferrand, France.

² Biose Industrie, Aurillac, 24 avenue Georges Pompidou, 15000, Aurillac, France.



Abstract: Bacterial cells are predominantly studied in their planktonic form, yet in natural environments, they often exist within structured communities such as biofilms, exhibiting distinct physiological properties. Another, less characterized mode of bacterial life involves *floating aggregates*—dense clusters of viable cells embedded in extracellular DNA. This aggregation phenotype has been documented in several pathogens (*Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni*, *Streptococcus pyogenes*, and *Staphylococcus aureus*), demonstrating biofilm-like properties, including reduced growth rates and enhanced resistance to phagocytosis and antibiotics. While auto-aggregation is also widespread among probiotic bacteria, its mechanisms and potential benefits remain poorly understood.

This study aims to elucidate the aggregation mechanisms in *Lactobacillus crispatus* and their impact on probiotic functionality. Using an evolutionary enrichment approach, we generated two spontaneous mutants from an aggregative, biofilm-deficient *L. crispatus* strain: one incapable of aggregation and another that readily forms biofilms. Phenotypic comparisons of the wild-type (WT) with the two mutants by different approaches (Crystal violet staining, micro-fermenters biofilm observation and Scanning Electron Microscopy) revealed an inverse relationship between biofilm formation and auto-aggregation capacities. The two mutants were non-aggregative and produced significantly higher amounts of biofilm compared to the WT on an abiotic surface. Comparison of the three strains' whole genome sequences (long-read Nanopore PromethION48 and short-read Illumina NovaSeq 6000 platforms) pointed out 5 high impact common mutations (on the proteome) in mutants compared to WT counterpart, mostly in genes involved in exopolysaccharide production (*ywqD*, HAMP-domain histidine kinase, *stp1* threonine phosphatase) or in sugar metabolism (*deoR*, ATP-binding cassette domain-containing protein). Preliminary results of this ongoing study clearly indicate that *Lactobacilli* can grow in two different lifestyles, each potentially conferring specific adaptive advantages. These insights contribute to a deeper understanding of *Lactobacilli* aggregation and may inform strategies to enhance probiotic efficacy.

Keywords: *Lactobacilli*; aggregation; biofilm; probiotic; surface properties

Titre : Plasticité phénotypique graduelle de *Microcystis* en réponse à des fluctuations thermiques rapides.

Auteurs : Pierre Louis LALLOUE¹, Delphine LATOUR¹, Anne-Hélène LE JEUNE¹, Yoann MENNARD¹, Benjamin MARIE², Claisse MALET¹

¹ Université Clermont Auvergne, CNRS, LMGE, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

² UMR 7245 - Molécules de Communication et Adaptation des Micro-organismes (MCAM), Muséum national d'histoire naturelle, CNRS, Paris, France



Résumé : Les cyanobactéries représentent une menace pour les milieux aquatiques en raison de leurs blooms toxiques, dont la fréquence et l'intensité tendent à augmenter sous l'effet du réchauffement climatique. Dans ce contexte, la variabilité thermique s'accroît également, exposant les organismes à des fluctuations plus importantes sur des périodes plus courtes. Ces changements ont des conséquences significatives pour les ectothermes, y compris les cyanobactéries. En effet, lorsque ces organismes sont confrontés à des modifications de leur environnement thermique, ils doivent s'acclimater en mobilisant leur plasticité phénotypique, afin d'ajuster leur comportement, leur morphologie ou leur physiologie en conséquence.

Pour comprendre comment un climat plus variable affectera les performances des cyanobactéries et la production de cyanotoxines, il est essentiel d'étudier comment, et à quelle vitesse, elles s'acclimatent à un environnement thermique fluctuant grâce à leur plasticité phénotypique. Nous avons ici testé l'hypothèse selon laquelle le passé thermique, ainsi que la direction et l'amplitude de la variation, influencent la réponse d'acclimatation. Afin d'approfondir notre compréhension de ces mécanismes, nous avons examiné les effets de changements thermiques aigus de ± 5 °C sur des cultures de *Microcystis aeruginosa* PCC7806 préalablement acclimatées pendant deux semaines à 20 ou 25 °C. Pour détecter d'éventuelles réponses rapides à ces contraintes thermiques, les cultures ont été échantillonnées dans les heures suivant immédiatement le changement de température, et les observations se sont poursuivies jusqu'à 48 heures. Plusieurs traits physiologiques ont été suivis afin de quantifier la réponse d'acclimatation, notamment l'activité enzymatique totale, la taille des cellules et les changements du métabolome. Parallèlement, l'estimation des taux de croissance spécifiques permet d'évaluer l'effet de ces variations sur la fitness de *Microcystis*. Les premiers résultats indiquent une réponse cellulaire rapide, observable en moins de 30 minutes après le changement de température. Toutefois, une acclimatation complète semble nécessiter plus de 24 heures, ce qui pourrait être insuffisant face aux fluctuations nycthémérales de température.

Mots-clés : acclimatation, cyanobactéries, variations de température, plasticité phénotypique, métabolome

Titre : Phototrophy improves the aerial fitness in a photoheterotrophic *Methylobacterium* isolated from clouds

Auteurs : Frédéric Mathonat^{1,2}, Federico Mazzei^{3,4}, Marie Prévot¹, Virginia Vernocchi⁴, Elena Gatta³, Muriel Joly¹, Mariline Théveniot¹, Anne-Catherine Lehours², François Enault², Barbara Ervens¹, Pierre Amato²



¹ Université Clermont Auvergne, CNRS, INP, ICCF, Clermont-Ferrand, France,

² Université Clermont Auvergne, CNRS, LMGE, 63000, Clermont-Ferrand, France

³ University of Genoa, Department of Physics, 16146, Genova, Italy

⁴ National Institute of Nuclear Physics, 16146, Genova, Italy

Résumé : Un microbiome diversifié issu des écosystèmes de surface est transporté dans l'atmosphère, où des conditions environnementales fluctuantes et une disponibilité limitée en nutriments compromettent la survie des microorganismes. Parmi les bactéries viables fréquemment retrouvées dans l'air, on compte des photohétérotrophes potentiels généralement associés à la végétation. Ce trait biologique spécifique est connu pour favoriser la survie dans des environnements oligotrophes, et nous postulons ici qu'il pourrait contribuer à leur maintien et à leur survie durant le transport aérien. Dans cette étude, des bactéries photohétérotrophes aérobies isolées des nuages (*Methylobacterium* sp. R17b-9), exprimant ou non la bactériochlorophylle, c'est-à-dire des capacités phototrophes (phénotypes [Bchl+] ou [Bchl-], respectivement), ont été injectées dans une chambre de simulation atmosphérique et suivies en fonction de leur abondance, viabilité, cultivabilité et contenu en ATP sous différentes intensités lumineuses. Nous démontrons que la phototrophie améliore fortement la viabilité bactérienne durant le transport aérien. Alors que la fraction de cellules cultivables dépourvues de pigment phototrophe diminuait fortement sous exposition à la lumière, avec un temps de demi-vie inférieur ou égal à deux heures, aucune perte significative n'a été observée pour les cellules phototrophes, qui présentaient également un contenu en ATP plus élevé. Le phénotype phototrophe influençait également directement la portée de dispersion aérienne des bactéries en réduisant le temps de résidence atmosphérique des cellules Bchl+ d'un facteur 1,7, avec un temps de demi-résidence d'environ 152 minutes contre 89 minutes, en raison d'une taille d'environ 8 % plus grande. Nos résultats suggèrent que le transport atmosphérique sélectionne les bactéries pour des phénotypes spécifiques. Cela pourrait avoir des implications pour les processus biogéochimiques atmosphériques (cycles du carbone et de l'azote) et participer à l'écologie, au maintien et à l'évolution de cette fonction biologique ancienne et répandue.

Mots-clés : Photoheterotrophie, Atmosphère, Bacteria, Survie, *Methylobacterium* sp., aerial fitness, Chambre de simulation atmosphérique

RESUMES DES COMMUNICATIONS ORALES DES DOCTORANTS DE 1^e ANNEE

Titre : Étude des effets cocktails sur le devenir, la toxicité et la bioremédiation des phytosanitaires



Auteurs : Pascaline DIEUDÉ

Résumé : l'évolution des pratiques agronomiques en agriculture conventionnelle a conduit, pour protéger plus efficacement les cultures, à des épandages parfois répétés de mélanges de matières actives formulées de phytosanitaires, chacune étant appliquée à faible dosage. Le résultat est une contamination multi-résidus croissante des sols, mais aussi des compartiments aquatiques, avec des mélanges de molécules mères mais aussi de divers produits de dégradation. Ainsi, une étude récente a montré que des mélanges de 2 pesticides ou plus étaient retrouvés dans 60% des 300 sols agricoles européens prélevés (Silva et al., 2019) et cette présence de mélanges de résidus de pesticides semble être plutôt la norme que l'exception (Chiaia-Hernandez et al., 2017 ; Riedo et al., 2021). De plus, les agriculteurs sont amenés à épandre, pour amender leurs champs, des effluents d'élevage (lisiers, fumiers) ou boues de stations d'épuration, qui peuvent contenir des résidus médicamenteux, des métaux lourds et autres substances. Les effets de ces multi-contaminations (effets cocktails) sur le devenir de chaque molécule individuellement dans l'environnement ne sont que rarement pris en compte dans les recherches actuelles (Schaeffer et Wijntjes, 2022 ; Smith et al., 2024), ce qui permettrait pourtant d'intégrer les effets cumulatifs, synergiques ou antagonistes des molécules et ainsi de mieux appréhender les impacts réels sur le fonctionnement des écosystèmes, notamment en termes de capacité de biodégradation des différents contaminants présents (synergie ou inhibition), de toxicité et de risque environnemental.

Mots-clefs : Microorganismes, Sol, Eau, Mélanges, Biodégradation

Titre : Dynamique des symbiotes de l'abeille mellifère dans un environnement tropical pré et post invasion par *Varroa destructor*

Auteurs : CHARBONNIER Hugo, Hélène DELATTE et Nicolas BLOT



Résumé : l'abeille domestique *Apis mellifera* est une espèce clé, à la fois pour les écosystèmes et l'agriculture, mais ses colonies sont aujourd'hui sévèrement menacées à l'échelle mondiale. Parmi les multiples facteurs de stress identifiés, les bioagresseurs invasifs jouent un rôle majeur dans leur affaiblissement. Comprendre la réponse de l'abeille à ces menaces nécessite d'adopter une approche holistique : celle de l'holobionte, qui considère l'organisme hôte et l'ensemble de ses micro-organismes, bénéfique ou non, comme une seule entité fonctionnelle. Le microbiote intestinal de *A. mellifera* est relativement simple et stable, dominé par cinq genres bactériens « cœur », présents chez tous les individus du genre *Apis* et représentant environ 90 % de l'abondance bactérienne intestinale. Cependant, les connaissances sur ce microbiote proviennent majoritairement d'études menées en zones tempérées, sur des sous-espèces européennes. Les données manquent concernant les sous-espèces de lignée africaine (A), notamment en milieu tropical. Le projet vise donc à étudier *Apis mellifera unicolor* à La Réunion, sous-espèce indigène à l'île et endémique de l'ouest de l'océan indien, et la dynamique de ses symbiotes. Les objectifs de la thèse sont 1) de comprendre comment se structure génétiquement le microbiote bactérien en climat tropical en comparant différentes populations venant d'îles de la zone sud-ouest de l'océan Indien (La Réunion, Les Seychelles, Mayotte, Maurice, Rodrigues...); 2) comparer la dynamique des symbiotes intestinaux d'*Apis mellifera unicolor* sur deux sites distincts par leur environnement à La Réunion et enfin 3) évaluer l'impact d'un bioagresseur invasif (*Varroa destructor*) sur la dynamique et la structuration génétique de l'holobionte par la comparaison d'échantillons avant et après invasion à La Réunion.

Mots-clés : *Apis mellifera* ; Holobionte ; Microbiote ; Environnement tropical ; *Varroa destructor*

Titre : Approche métabolomique pour décrypter l'acquisition de tolérance induite par les (bio)fongicides dans les communautés microbiennes aquatiques.

Auteurs : Fanny CHARRIER, Joan ARTIGAS et Nicolas CREUSOT



Résumé : face à la préoccupation grandissante concernant les impacts environnementaux et sanitaires des pesticides, les biopesticides émergent comme une alternative plus respectueuse de l'environnement. Néanmoins, la présence potentielle de ces composés dans les milieux aquatiques la question de leur écotoxicité. Il subsiste, notamment, un manque de connaissance sur la tolérance des communautés microbiennes, acteurs clés de la structure et fonctionnement des écosystèmes aquatiques, face à ces nouvelles molécules. Dans ce contexte, cette thèse vise à décrypter les mécanismes moléculaires, fonctionnels et structurels impliqués dans l'acquisition de tolérance des communautés microbiennes (périphyton et litière de feuille) exposés à des fongicides biologiques comparés à des fongicides de synthèse. Pour ce faire, une approche métabolomique non ciblée est couplée à des analyses fonctionnelles (activité enzymatique), structurelles (diversité microbienne) et adaptatives (PICT) afin de cartographier et comprendre les voies métaboliques impactées lors de l'exposition aux (bio)fongicides. Des expérimentations en conditions contrôlées permettront de distinguer l'effet propre des molécules testées (kasugamycine, boscalide, cuivre) de celui de facteurs environnementaux (nutriments, mélanges complexes). Les objectifs spécifiques incluent : (1) l'établissement de la chronologie des réponses structurelles, fonctionnelles et moléculaires des communautés microbiennes face aux fongicides ; (2) l'analyse comparative des réponses des communautés microbiennes individuelles pour comprendre le rôle des interactions entre micro-organismes dans la tolérance; (3) l'identification des métabolites et voies métaboliques impliqués dans l'acquisition de tolérance ; et (4) l'évaluation de l'interaction entre mécanismes de tolérance aux fongicides et facteurs environnementaux. Ce travail s'inscrit dans le projet MEMENTO qui vise à mieux comprendre les risques et bénéfices de l'utilisation des (bio)pesticides en (i) apportant des connaissances sur les processus adaptatifs des communautés microbiennes et (ii) identifiant des biomarqueurs qui pourraient détecter ou prédire la tolérance des communautés microbiennes. Ce projet contribuera plus globalement à l'évaluation écotoxicologique des pratiques agricoles émergentes.

Mots-clés : syncom, interaction microbienne, évaluation du risque

Titre : Epidémiologie des entérovirus basés sur les eaux usées à l'échelle du Puy-de-Dôme de 2021 à 2026

Auteurs : Ophélie PERRUCHE

Résumé : La surveillance microbiologique des eaux usées est un outil utilisé depuis les années 1980 pour la surveillance environnementale de la poliomyélite, et plus récemment pour suivre l'épidémie de Covid-19. Les analyses effectuées dans les eaux usées à l'entrée d'une station de traitement, permettent d'évaluer la circulation des agents pathogènes infectieux d'un bassin de population tout entier. La surveillance des eaux usées fournit des données épidémiologiques reconnue comme un complément incontournable des autres dispositifs de surveillance, basés sur les données individuelles. Conjointement au suivi du SARS-CoV-2, notre laboratoire réalise la recherche quantitative des entérovirus depuis mars 2021 dans les eaux usées de plusieurs stations d'épuration du Puy-de-Dôme sur un rythme hebdomadaire. La thèse s'inscrit dans la continuité de plusieurs projets régionaux/nationaux passés (FEDER et OBEPINE) ou à venir (OBEPINE+, 2025 - 2030). Les objectifs de la thèse seront les suivants : 1) décrire la circulation des entérovirus au sein des bassins de population de 2021 à 2024 desservis par les stations d'épuration. Cette étude rétrospective permettra d'établir les dynamiques temporelles en analysant la charge virale en entérovirus par rapport à l'impact des mesures de santé publique prises en réponse à la pandémie de Covid-19, 2) poursuivre cette étude de façon prospective pendant la période de la thèse, et 3) caractériser les types d'entérovirus présents dans les eaux usées par séquençage NGS pour les comparer à ceux identifiés dans les cas d'infections symptomatiques ayant entraîné une hospitalisation au CHU de Clermont-Ferrand sur la même période.

Mots-clés : Eaux usées, Enterovirus, Epidémiologie, Surveillance

Titre : Infections à rhinovirus, épidémiologie moléculaire, caractéristiques cliniques, virologiques et interactions hôte-virus

Auteurs : Elisa CREUZET



Résumé : les rhinovirus sont de petits virus à ARN du genre *Enterovirus*, caractérisés par une grande diversité génétique, avec 167 types différents répartis en 3 espèces A, B, et C qui co-circulent toute l'année. Ils sont la cause la plus fréquente de viroses respiratoires hautes (rhinopharyngites, angines, otites, sinusites) chez les enfants comme chez les adultes. Ils sont également impliqués dans des infections respiratoires basses, comme dans la bronchiolite du nourrisson ou des pneumopathies pouvant évoluer vers une détresse respiratoire aiguë chez l'adulte. Ces infections potentiellement sévères sont encore mal caractérisées sur le plan épidémiologique et physiopathologique. Les objectifs de cette thèse sont de décrire l'épidémiologie moléculaire des infections à rhinovirus diagnostiquées au CHU de Clermont-Ferrand au cours des dernières années, et d'analyser l'impact des caractéristiques virologiques (type/espèce de rhinovirus, diversité virale, charge virale) sur les tableaux cliniques observés et leur sévérité. La réponse de l'hôte en réponse à l'infection virale, et en particulier la réponse inflammatoire, sera analysée au niveau respiratoire par transcriptomique chez différents profils de patients infectés.

Mots-clés : Rhinovirus ; Infections respiratoires ; Méta-transcriptomique ; Epidémiologie ; Enfants

Titre : Caractérisation phénotypiques et génotypiques de souches cliniques d'*Enterococcus faecalis*: les souches d'*Enterococcus* responsables d'endocardite sont-elles particulières?

Auteurs : Magali VIDAL

Résumé : les endocardites infectieuses sont des infections bactériennes sévères des valves cardiaques avec une morbi-mortalité importante. *Enterococcus faecalis* est un germe responsable d'endocardite particulièrement difficile à traiter à cause de sa sensibilité réduite aux antibiotiques. Il est de plus en plus fréquemment retrouvé dans les endocardites, particulièrement sur certaines prothèses valvulaires (Trans-aortic valvular insertion, TAVI) où il est le premier germe impliqué en fréquence. La physiopathologie des endocardites infectieuses à *E. faecalis* reste partiellement connue. *E. faecalis* est un pathobionte du tube digestif, il est tolérant aux antibiotiques (amoxicilline) ainsi qu'aux pH extrêmes, températures, à la dessiccation... L'objectif de ce projet est de caractériser et de comparer des souches d'*Enterococcus faecalis* issues de prélèvements cliniques (valve cardiaque, hémocultures, infection urinaire, infections biliaires, infections dentaires, colonisation digestive). La caractérisation sera phénotypique: formation de biofilm et capacité à former des persisters au sein de ce biofilm (bactéries entrant dans un mode métabolique quiescent lors d'exposition à de fortes doses d'antibiotique), et génotypique (présence et expression des gènes de résistance et de virulence) en particulier chez les persisters. Ces capacités seront testées dans des conditions statiques (micropuits). Un modèle ex vivo dynamique sur valve cardiaque humaine pourrait être mis au point. Les souches de colonisation digestive seront collectées dans le cadre d'un projet de recherche clinique impliquant la personne humaine: une recherche d'*E. faecalis* sera réalisé chez des patients bactériémiques. Une comparaison souche colonisante/souche infectieuse pourra ensuite être réalisée. L'objectif de ce projet est de mieux comprendre la physiopathologie des endocardites à *E. faecalis* ce qui reste un challenge pour une infection sévère dont la mortalité reste élevée (25%) malgré les progrès diagnostiques et thérapeutiques.

Titre : Décryptage de l'impact de stressseurs biologiques (*Nosema ceranae* et *Varroa destructor*) et de la nutrition (qualité du pollen) dans la santé de l'abeille *Apis mellifera*

Auteurs : FOUREL Laura, Hicham EL ALAOUI & Marie DIOGON



Résumé : Le déclin des colonies d'abeilles, observé depuis plusieurs décennies aux USA et en Europe, constitue une menace majeure pour la pollinisation et la conservation de la biodiversité (Gallai et al., 2009; vanEngelsdorp and Meixner, 2010). Parmi les facteurs suspectés d'être à l'origine de ces pertes, les agents pathogènes jouent un rôle déterminant, notamment l'acarien *Varroa destructor* et la microsporidie *Nosema ceranae*. Ces derniers provenant de l'abeille asiatique (*Apis cerana*) ont récemment émergé en Europe, respectivement dans les années 1970 et 1990, affectant alors l'abeille mellifère (*Apis mellifera*) (Martín-Hernández et al., 2018; Nazzi and Le Conte, 2016). *Varroa destructor* est un ectoparasite responsable de la varroose et représente une menace mondiale majeure. Il perturbe le développement des larves et engendre des altérations métaboliques (dysfonctionnement neuronal, déséquilibre du microbiote intestinal, réduction pondérale) et immunitaires (diminution de la réponse immunitaire) (Noël et al., 2020; Traynor et al., 2020). La microsporidie *Nosema ceranae* est un parasite intracellulaire obligatoire, responsable de la nosérose des abeilles. Le parasite se développe dans les cellules épithéliales de l'intestin moyen, induisant un stress nutritionnel et énergétique, et une diminution de l'immunité (réduction de la synthèse des peptides antimicrobiens), entraînant ainsi une diminution significative de la longévité des abeilles (Li et al., 2018; Martín-Hernández et al., 2018). Ce projet de thèse vise à évaluer l'influence de la qualité nutritionnelle du pollen sur la réponse des abeilles lors d'une co-infection par *N. ceranae* et *V. destructor*, afin de mieux comprendre le rôle du régime alimentaire dans la gestion du stress parasitaire. En effet, dans les colonies d'abeilles, la disponibilité, la diversité et la qualité des ressources nutritionnelles jouent un rôle essentiel dans la tolérance et la résilience des colonies face aux pathogènes. Le pollen, source essentielle de lipides et de protéines, joue un rôle clé dans le développement, l'immunité et plus généralement la santé des abeilles (Castelli et al., 2020; Thakur and Nanda, 2020). Nous examinerons à l'échelle individuelle (laboratoire) et à l'échelle de la colonie (tunnels), l'impact de ces infections et de la supplémentation pollinique sur la santé de l'abeille en simulant les principaux facteurs de stress (co-infection et stress alimentaire) auxquels l'abeille est exposée pendant la saison apicole. Les fonctions digestives, immunitaires et comportementales seront alors analysées par des approches de volatolomique, transcriptomique, d'analyse du microbiote intestinal et des réserves lipidiques ainsi que des tests de comportement et d'apprentissage complexe.

Mots Clés : Abeille mellifère, co-infection, pollen, *Nosema ceranae*, *Varroa destructor*.

Titre : Caractérisation d'acteurs moléculaires impliqués dans les processus d'adhésion-invasion de microsporidies et décryptage des mécanismes liés à l'invasion cellulaire

Auteurs : Lucas ENSMINGER, Valérie POLONAIIS et Frédéric DELBAC



Résumé : les microsporidies sont des champignons parasites intracellulaires obligatoires capables d'infecter un très large spectre d'hôtes allant des insectes aux mammifères. Ces parasites sont impliqués en santé humaine et en santé animale, entraînant des pertes économiques importantes en apiculture, en sériculture et en aquaculture. Ces microorganismes sont caractérisés par un processus d'invasion unique dans le monde vivant impliquant l'extrusion d'une structure tubulaire appelée tube polaire. Celle-ci permet le transfert du matériel infectieux ou sporoplasme vers la cellule-hôte. Le tube polaire est une structure complexe composée de plusieurs familles de protéines appelées protéines du tube polaire (PTPs) dont certaines semblent interagir avec des récepteurs cellulaires de l'hôte. Sept PTPs ont été caractérisées chez différentes espèces microsporidiennes mais leurs rôles dans la mise en place du tube polaire et dans les processus d'invasion sont mal connus. Ainsi, l'objectif de la thèse est d'enrichir les connaissances sur les protéines impliquées dans les processus d'adhésion-invasion et de décrypter les mécanismes d'invasion des microsporidies en utilisant deux espèces microsporidiennes, *Encephalitozoon cuniculi* qui se réplique au sein d'une vacuole parasitophore et *Anncaliia algerae* qui peut se multiplier au contact direct du cytosol de l'hôte. Le premier objectif vise à identifier de nouveaux composants du tube polaire, de la paroi sporale et du sporoplasme grâce à des approches de biochimie et de biologie moléculaire. Les différentes protéines candidates seront également étudiées pour évaluer leur rôle dans l'invasion cellulaire et leur interaction avec les récepteurs de l'hôte. Des tests fonctionnels, incluant des inhibitions d'invasion par anticorps, seront réalisés. Le deuxième objectif consiste à explorer les différents mécanismes d'invasion et leur variabilité selon les espèces microsporidiennes et les types cellulaires. Des techniques de microscopie et des immunomarquages seront utilisés pour caractériser ces processus et mieux comprendre l'interaction entre les microsporidies et leurs hôtes.

Mots-clés : microsporidies, tube polaire, mécanismes d'invasion

Titre : Etude du microbiote bactérien du ver de farine (*Tenebrio molitor*) en conditions d'élevage pour l'optimisation des rendements zootechniques et la qualité microbiologique de la production de protéines d'insectes

Auteurs : Emilie MOLLARD^{1,2}, Frédéric DELBAC², Hicham EL ALAOU², Valentin AGEORGES¹



¹ *Invers SA, Saint-Ignat, France.*

² *Université Clermont Auvergne, CNRS, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, Clermont-Ferrand, France.*

Résumé : Au cours de la dernière décennie, les insectes ont suscité un intérêt croissant en tant que source innovante de protéines alternatives pour l'alimentation humaine et animale. Parmi eux, *Tenebrio molitor*, aussi appelé ver de farine, se distingue par sa teneur élevée en protéines et sa facilité d'élevage, en faisant un candidat de choix pour la production à grande échelle. Comme dans toute filière d'élevage, les aspects microbiologiques de la production doivent être connus et maîtrisés. Cependant, les données scientifiques sur le microbiote du ver de farine en conditions d'élevage à grande échelle demeurent limitées. Cette thèse vise à étudier le microbiote bactérien du ver de farine en conditions d'élevage pour l'optimisation des rendements zootechniques et la qualité microbiologique de la production de protéines d'insectes. Le premier objectif sera de caractériser le microbiote de *T. molitor* dans son environnement d'élevage et d'étudier l'impact de différentes conditions d'élevage sur sa composition. Sur la base de ces résultats, des souches microbiennes ou produits contenant des microorganismes seront testés en laboratoire, pour évaluer leurs effets potentiellement bénéfiques sur les performances zootechniques et la qualité sanitaire de la production. Les candidats les plus prometteurs feront l'objet d'une évaluation à plus grande échelle. Enfin, les connaissances acquises permettront de proposer des indicateurs microbiologiques pour le suivi et le contrôle qualité des élevages, afin de garantir un environnement sain, tant pour l'insecte que pour les opérateurs.

Mots-clés : *Tenebrio molitor*, Microbiote, ADNr 16S, Zootechnie – Contrôle qualité

Titre : Dynamique des pan-génomés et partage de fonctions au sein des communautés microbiennes aquatiques

Auteur : ARQUE Maxime



Résumé : Les populations bactériennes aquatiques évoluent dans des écosystèmes caractérisés par une limitation des ressources nutritives, imposant ainsi de fortes contraintes sélectives. Afin de s'adapter à ces conditions oligotrophiques (*i.e.* pauvres en éléments minéraux nutritifs), les bactéries ont développé des stratégies évolutives spécifiques, se traduisant principalement par une réduction drastique de leur taille cellulaire, une diminution de leur génome (généralement inférieur à 2 Mb) et une simplification de leurs voies métaboliques. Ce phénomène entraîne fréquemment des auxotrophies (*i.e.* incapacité à synthétiser) pour divers métabolites, rendant ces organismes dépendant d'autres sources, et notamment des membres de leur communauté microbienne pour la fourniture de ces composés nécessaires à leur survie. Cette dépendance métabolique, bien qu'apparemment restrictive, constitue en réalité une stratégie adaptative avantageuse conforme à l'hypothèse de la « Reine Noire » (Black Queen Hypothesis, BQH). Selon cette hypothèse, la perte de certaines fonctions biologiques coûteuses permet aux organismes de réduire leurs dépenses énergétiques et métaboliques, conférant ainsi un avantage compétitif au sein des communautés microbiennes complexes et favorisant leur succès évolutif à long terme. De plus, ces organismes possèdent des pangénomés ouverts caractérisés par une grande diversité génétique issue d'un génome accessoire dynamique. L'étude de ce génome accessoire permet de comprendre le potentiel adaptatif des populations bactériennes et les mécanismes évolutifs influencés par divers facteurs biotiques et abiotiques. Cette approche permet notamment de mieux saisir les processus impliqués dans la réduction génomique et la coexistence d'écotypes variés dans ces environnements spécifiques. Dans ce contexte, ce projet doctoral vise à caractériser les dépendances métaboliques au sein des communautés microbiennes aquatiques et à analyser la dynamique des génomes accessoires pour identifier les mécanismes à l'origine de l'apparition ou de la perte de fonctions biologiques, via une approche bio-informatique fondée sur l'analyse de données génomiques et métagénomiques existantes.

Mots-clés : pangénome, microorganismes, bioinformatique, écosystèmes aquatiques, biologie évolutive, écologie

Titre : Dynamique et adaptation métabolique des eucaryotes unicellulaires lacustres en réponse à des perturbations : un focus sur les parasites

Auteur : COMBES Léa



Résumé : Les perturbations environnementales, qu'elles soient naturelles ou anthropiques, constituent des moteurs majeurs de la dynamique et de l'évolution des communautés microbiennes. Les écosystèmes aquatiques ne sont pas épargnés et subissent des pressions croissantes, telles que l'augmentation des températures, l'eutrophisation et l'expansion spatio-temporelle des zones appauvries en oxygène, pouvant impacter la structure et les fonctions des communautés microbiennes. Malgré le rôle central des microorganismes dans les processus écologiques, leur réponse face à ces perturbations reste encore peu étudiée. Ce projet de thèse vise à explorer la dynamique spatio-temporelle, à court et long terme, ainsi que les mécanismes d'adaptation métabolique des eucaryotes unicellulaires lacustres en réponse à ces changements. Une attention particulière est portée aux groupes parasites, dont l'importance écologique est de plus en plus reconnue, notamment les microsporidies, récemment révélées comme très diversifiées dans les écosystèmes aquatiques, ainsi que d'autres parasites affiliés aux champignons. Plusieurs approches complémentaires seront mises en œuvre à partir d'échantillons d'un lac modèle (Aydut): (1) une analyse de la diversité des communautés passées par une approche de paléogénomique qui permettra de décrypter leur dynamique en lien avec l'anthropocène (~ à partir de 1950) ; (2) un suivi spatio-temporel à haute résolution de la colonne d'eau (tous les mètres, toutes les deux semaines pendant un an) qui permettra de mettre en évidence les variations saisonnières et verticales ; (3) une approche en microcosmes pour évaluer l'impact de l'intensification des conditions d'anoxie, de température et d'eutrophisation sur la structure et le fonctionnement des communautés ; (4) des analyses de métatranscriptomique afin de décrypter les stratégies métaboliques et d'adaptation des principaux groupes identifiés.

Mots-clés : eucaryotes unicellulaires, parasites, désoxygénation, paléogénomique, adaptation métabolique

Titre : Étude de l'impact de la désoxygénation des milieux d'eau douce sur la structure et les activités métaboliques des communautés microbiennes en lien avec l'émission de gaz à effet de serre.

Auteur : Sarah DONNADIEU



Résumé : Le sujet de thèse s'inscrit dans un projet ANR d'équipe (PRME) intitulé DIAMOND pour : « Diversity and metabolic Adaptation of Microorganisms in increasing Oxygen Depleted freshwaters ». La thèse vise à mieux comprendre les effets de la dé-oxygénation des milieux lacustres sur la structuration et les activités métaboliques des procaryotes (bactéries et archées), pour mieux anticiper les répercussions possibles sur le fonctionnement des lacs dans un contexte de changements globaux et notamment, sur l'émission de gaz à effet de serre. Le modèle d'étude pour cette thèse sera le lac Aydat, situé dans le Massif Central (France), car instrumenté et suivi depuis plusieurs années. L'hypothèse de départ est que la déplétion des lacs en O₂ augmente l'émission de gaz à effet de serre (GES).

La distribution des communautés microbiennes dans le temps et l'espace joue un rôle crucial dans la compréhension des processus biologiques impliqués dans la production et la consommation de GES dans les environnements aquatiques. Cependant, les recherches portant sur la diversité et la variabilité des populations de bactéries et archées (les principaux producteurs et consommateurs de GES) dans la colonne d'eau du lac Aydat sont limitées. L'objectif sera donc d'analyser la dynamique spatio-temporelle des bactéries et archées (taxons et gènes) qui contribuent à la production de GES et suivre la production de gaz (CH₄, CO₂, N₂O) dans la colonne d'eau et à la surface des sédiments de ce lac. Cette étude sera réalisée à la fois par des approches in-situ (metabarcoding, métatranscriptomique, analyses physico-chimiques, etc..) et ex-situ (développement d'un dispositif expérimental mimant la colonne d'eau et des périodes de dé-oxygénation). Les résultats qui en découleront permettront de proposer une image complète et précise des groupes microbiens potentiellement impliqués dans les voies liées aux GES, et de leurs schémas de cooccurrence, ainsi que de leur changement de structuration en fonction de conditions contrastées en termes de quantité d'O₂ dissous

Mots clés : Lac d'eau douce - Désoxygénation – Microorganismes – Gaz à effet de serre