

Propositions de sujets de recherche dans le cadre du concours 2019 des allocations de thèse de l'Ecole Doctorale Sciences de la Vie, Santé, Agronomie, Environnement (SVSAE) de Clermont-Ferrand

<http://edsvs.univ-bpclermont.fr/?p=35>

**Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement (LMGE), UMR CNRS 6023
Université Clermont Auvergne (UCA)**
<http://www.lmge.univ-bpclermont.fr/>

Directeur du laboratoire - Télésphore SIME-NGANDO
telesphore.sime-ngando@univ-bpclermont.fr

Etude du tropisme des entérovirus pour les cellules leucocytaires du sang périphérique et de leur franchissement via la barrière sang-liquide cérébro-spinal.

Directeur de thèse : Christine Archimbaud (MCU-HDR), christine.archimbaud@uca.fr

Les entérovirus se caractérisent par une grande diversité génétique (>120 types) et représentent la principale étiologie des méningites aiguës chez les enfants et les adultes. Ces virus sont plus rarement associés à des encéphalites et des paralysies flasques. Le diagnostic des méningites à entérovirus repose sur la détection du génome viral dans le liquide cérébro-spinal. Les virus pénètrent par la muqueuse du pharynx, puis l'infection se généralise grâce à une virémie vers différents organes dont le système nerveux central (SNC) soit en franchissant la **barrière hémato-encéphalique** (BHE) (via les cellules vasculaires cérébrales) soit la **barrière sang-liquide cérébro-spinal** (via les plexus choroïdes).

Le projet consistera d'une part à étudier le rôle de la virémie (incluant le **tropisme et la réplication des entérovirus pour les cellules leucocytaires** du sang) dans le développement des manifestations neurologiques et d'autre part d'étudier le franchissement de la barrière **sang-liquide cérébro-spinal** par les entérovirus grâce au développement d'un modèle *in vitro* d'épithélium choroïdien.

Volle et al (2015). Differential permissivity of human cerebrovascular endothelial cells to enterovirus infection and specificities of enterovirus 71 in crossing an *in vitro* model of human blood brain barrier. J Gen Virol. 96: 1682-95.

Lafolie et al (2018). Assessment of blood enterovirus PCR testing in paediatric populations with fever without source, sepsis-like disease, or suspected meningitis: a prospective, multicentre, observational cohort study. Lancet Infect Dis. 18:1385-96.

Ecologie chimique dans les biofilms aquatiques : production de métabolites secondaires et interactions interspécifiques entre algues et champignons

Directeurs de thèse : Joan Artigas (MCU-HDR) co-directrice Soizic Morin (CR1, Irstea)

joan.artigas_alejo@uca.fr

Algues et champignons microscopiques cohabitant au sein des biofilms sont des acteurs majeurs des écosystèmes aquatiques, intervenant dans la production de matière organique et son recyclage. Leurs interactions en milieu benthique n'ont pas été étudiées à ce jour, mais les connaissances pour le plancton suggèrent l'intervention de signaux chimiques (allélopathiques) dans la communication entre ces groupes microbiens et la régulation de leurs dynamiques de colonisation.

Cette thèse s'intéresse donc à démêler le système de communication entre algues et champignons et ses perturbations en conditions de multistress associé au changement global. Combinant approches de terrain et de laboratoire (chambres de co-culture permettant la diffusion de substances sans contact physique direct entre les organismes), le sujet comportera 3 grands axes : 1) Evaluer la cooccurrence d'algues et de champignons au sein de différents biofilms naturels, 2) Analyser la production de métabolites par les microalgues et les champignons aquatiques, ensembles et séparément, 3) Comparer la production de métabolites par des biofilms soumis à des stress multiples (température, xénobiotiques).

Carles et al. (2019) Meta-analysis of glyphosate contamination in surface waters and dissipation by biofilms. *Env Internat*, 124: 284-293.

Artigas et al. (2017) Sensitivity of laccase activity to the fungicide tebuconazole in decomposing litter. *Sci Total Env*, 584-585: 1084-1092.

Biologie des archées méthanogènes humaines de l'ordre des Methanomassiliicoccales : aspects génomiques, génétiques et métaboliques.

Directeur de thèse : J-François Brugère (MCU-HDR) – J-Francois.Brugere@uca.fr

La triméthylamine TMA est un agent pro-athérogène issu du métabolisme bactérien du microbiote intestinal humain. Ce microbiote intestinal abrite parfois une population d'archées méthanogènes (les Methanomassiliicoccales MMC), certaines pouvant métaboliser la TMA. Ces dernières peuvent ainsi permettre une réduction de la TMA intestinale biodisponible et donc une réduction du risque cardiovasculaire. L'utilisation de la TMA nécessite un acide aminé particulier, la pyrrolysine Pyl. Ce 22^e acide aminé protéinogène est introduit lors de la traduction par ré-encodage du codon « stop » UAG. La thèse proposée visera à mieux comprendre la diversité biologique des MMC humaines, en particulier vis-à-vis du métabolisme des méthylamines. Elle sera basée sur l'étude de la biologie de la seule souche humaine isolée (non publiée, brevet en cours), permettant d'étudier la régulation des gènes acteurs de la méthanogenèse et de l'encodage de la pyrrolysine en fonction de substrats disponibles dans l'intestin humain. Cette étude sera complétée par une analyse fonctionnelle dans un système hétérologue d'expression de Pyl d'ores et déjà développé en *E. coli*. Ces études seront menées en parallèle de comparaisons génomiques de génomes représentatifs de la diversité observée chez l'Homme, et chez les MMC d'une manière générale. La thèse est basée sur des collaborations existantes avec l'université de Kiehl (Allemagne), l'Institut Pasteur et l'Université de Cork (Irlande).

Borrel G et al. (2017) Genomics and metagenomics of trimethylamine-utilizing Archaea in the human gut microbiome. ISME J. 11(9):2059-2074.

À consulter: <http://www.archaeome.ami-hd.toile-libre.org/>

***Rôles des traits biologiques et de la dynamique des communautés sur la résilience multifonctionnelle
des écosystèmes néotropicaux***

Directeur de thèse : J-F. Carrias (Pr-HDR), co-directeur C. Leroy (CR-HDR IRD)

j-francois.carrias@uca.fr

Les impacts de sécheresses sévères sur les fonctions écosystémiques et les mécanismes qui assurent la résilience fonctionnelle après passage de la perturbation sont loin d'être compris. Ces questions sont cruciales dans les régions tropicales où les modèles de changement climatique prévoient des changements significatifs de la disponibilité en eau dus à l'augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses. Quelques études ont examiné la réponse de fonctions à la sécheresse en se concentrant sur l'impact immédiat des événements, ignorant ainsi les trajectoires de recouvrement et de résilience. On ne sait donc pas comment les traits biologiques des organismes et les mécanismes écologiques supportent les trajectoires post-sécheresse des écosystèmes. La théorie des métacommunautés prédit que l'immigration doit prévenir l'extinction des populations, mais on ne sait pas comment la taille des habitats et leur distance à la source de colonisateurs interagissent pour permettre la résilience des systèmes. L'objectif est de comprendre comment différents niveaux d'organisation biologique (organismes, structure fonctionnelle des communautés, métacommunautés) et leurs interactions permettent le ré-assemblage des communautés et la résilience multifonctionnelle des écosystèmes tropicaux, après des sécheresses allant de la norme climatique à des événements extrêmes et à des prédictions du GIEC. Le projet ANR RESILIENCE (2019-2021) permettra de soutenir ce travail.

Rodriguez-Pérez H. et al., 2018. Simulated drought regimes reveal community resilience and hydrological thresholds for altered ecosystem function. *Oecologia* 187: 267-279.

Dégradation des plastiques dans les écosystèmes aquatiques continentaux

Directeur de thèse : Didier DEBROAS (PR) – Equipe Génomique de l'Environnement et Bioinformatique.

Didier.debroas@uca.fr

Les plastiques représentent une source de pollution considérable et leur étude est devenue un enjeu de société majeur. De nombreux travaux ont caractérisé leur devenir et leur colonisation par les microorganismes en milieu marin (i.e. gyres) mais, paradoxalement, leur dynamique de dégradation dans les milieux d'eau douce n'a été que rarement étudiée. Le doctorant recruté devra donc initier une recherche dans ce domaine en proposant une analyse globale des processus de dégradation des plastiques dans les écosystèmes aquatiques continentaux (lacs, rivières) par une approche écosystémique et/ou expérimentale. Le projet associera des expertises interdisciplinaires (chimie/biologie) et se fera en étroite collaboration avec l'équipe META de l'ICCF (<https://iccf.uca.fr/recherche/biocatalyse-et-metabolisme/metabolisme/>). Le candidat devra faire preuve d'un goût pour des approches pluridisciplinaires associant chimie analytique (spectroscopie RMN, FTIR, spectrométrie de masse), Microbiologie (isolement caractérisation des souches d'intérêt) et omique (métagénomique, transcriptomique et métabolomique).

Debroas, D., Mone, A., Ter Halle, A., 2017. Plastics in the North Atlantic garbage patch: A boat-microbe for hitchhikers and plastic degraders. *Science of The Total Environment* 599–600, 1222–1232.

Eyheraguibel, B., Traikia, M., Fontanella, S., Sancelme, M., Bonhomme, S., Fromageot, D., Lemaire, J., Lauranson, G., Lacoste, J., Delort, A.M., 2017. Characterization of oxidized oligomers from polyethylene films by mass spectrometry and NMR spectroscopy before and after biodegradation by a *Rhodococcus rhodochrous* strain. *Chemosphere* 184, 366–374. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.05.137

Systèmes de sécrétion de type 6 chez *Klebsiella pneumoniae* : dialogue moléculaire et/ou arme antibactérienne ?

Directeur de thèse : Christiane Forestier (PU)

Christiane.forestier@uca.fr

La prise en compte des interactions bactériennes au sein de populations complexes est essentielle pour expliquer les phénomènes de persistance et d'émergence de pathogènes. La bactérie opportuniste *Klebsiella pneumoniae* est un modèle idéal pour évaluer ces interactions compétitives. Des gènes codant deux systèmes de sécrétion de type 6 (SST6), complexes multi-protéiques capables d'injecter des protéines toxiques dans le cytoplasme de cellules adjacentes, ont été découverts chez *K. pneumoniae*. L'objectif de ce projet est de caractériser ces SST6 d'un point de vue moléculaire, de déterminer leurs rôles dans les compétitions inter-bactériennes et leurs impacts au sein de communautés bactériennes naturelles et complexes (biofilms constitués en effluents hospitaliers, microbiotes intestinaux et pulmonaires de modèles murins). L'élucidation de ces mécanismes est une étape clé dans la conception de solutions innovantes appliquées à la lutte contre la dissémination de bactéries multirésistantes.

Khater, et al. (2015). In silico analysis of usher encoding genes in *Klebsiella pneumoniae* and characterization of their role in adhesion and colonization. PLoS ONE 10, e0116215.

Lagrafeuille, et al. (2017). Opposing effect of *Lactobacillus* on *in vitro* *Klebsiella pneumoniae* in biofilm and in an *in vivo* intestinal colonisation model. Benef Microbes, 1–14.

Interactions hôte-pathogènes : Etudes *in vitro* et chez l'animal des altérations épigénétiques et du contrôle du cycle cellulaire des cellules-hôtes par la microsporidie *Encephalitozoon intestinalis*

Directeurs de thèse : Hicham El Alaoui (MCU-HDR), co-directeur Philippe Poirier (MCU-PH HDR)

Hicham.EL_ALAOUI@uca.fr, Philippe.POIRIER@uca.fr

Les microsporidies sont des parasites eucaryotes unicellulaires apparentés aux champignons et possédant un large spectre d'hôtes. Chez l'Homme, l'espèce *Encephalitozoon intestinalis* est responsable d'infections intestinales et est capable de moduler l'activité de la protéine p53 des cellules-hôtes, jouant un rôle dans la régulation du cycle cellulaire et de l'apoptose. De ce fait, leur rôle dans la survenue ou l'exacerbation de cancers est suspecté. De nombreux pathogènes peuvent influencer les fonctions des cellules hôtes par le biais de la reprogrammation épigénétique. Cependant, les mécanismes moléculaires par lesquels les microsporidies manipulent leurs cellules-hôtes restent à déterminer.

Le projet se focalisera ainsi sur l'effet procarcinogène des microsporidies. Pour cela, des infections par l'espèce *E. intestinalis* seront réalisées *in vitro* et *in vivo*. L'étude des modifications épigénétiques, des gènes impliqués dans ces processus, des gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire et dans l'apoptose sera abordée par des approches de biologie cellulaire, de biologie moléculaire, de cytométrie et d'imagerie. Le doctorant aura également en charge la réalisation d'une étude de séroprévalence des microsporidies chez des patients atteints de cancer.

Ce projet permettra ainsi d'apporter des premières données sur les mécanismes associés aux modifications cellulaires post infectieuses dues aux microsporidies dans un contexte de carcinogénèse.

Diversité et biogéographie des bactéries phototrophes anoxygéniques- importance écologique de la photosynthèse anoxygénique dans les écosystèmes contemporains et passés

Directeur de thèse : I MARY (MCU-HDR), co-directeur AC LEHOURS (MCU-HDR)

Isabelle.mary@univ-bpclermont.fr

Les bactéries phototrophes anoxygéniques (PA) sont apparues durant l'Archéen, il y a environ 3 Ga et ont grandement influencé l'environnement de la Terre primitive. Il est classiquement considéré que leur importance écologique dans les écosystèmes contemporains est limitée en regard des organismes réalisant la photosynthèse oxygénique. Pourtant des données récentes, acquises au sein du LMGE, suggèrent que les PA hébergées dans les réservoirs d'eau de broméliacées-citernes pourraient contribuer significativement aux flux de carbone et d'énergie dans les forêts Néotropicales.

Les travaux conduits au cours de cette thèse seront réalisés les communautés de PA (i) de réservoirs d'eau de broméliacées-citernes de forêts Néotropicales et (ii) des sédiments anciens du Lac Pavin, analogue de la Terre archéenne. Les objectifs seront donc de caractériser la diversité des PA et de contribuer à établir l'importance écologique passée et actuelle de ces microorganismes. Ce projet permettra de mieux comprendre le rôle joué par la mixotrophie de manière générale dans les écosystèmes aquatiques et la biogéochimie, en particulier le cycle du carbone. Ces travaux s'appuieront sur un réseau de collaborations largement pluridisciplinaire et de projets EC2CO et ANR, prochainement déposés.

Lehours AC et al (2016). High bacteriochlorophylla abundance in tank bromeliads highlights anoxygenic photosynthesis as a relevant process in Neotropical forests. *Environmental Microbiology Reports* doi: 10.1111/1758-2229.12426. Article recommandé par **Faculty of 1000** : <https://f1000.com/prime/726417146>

Etude du rôle écologique du chlore dans le fonctionnement des écosystèmes lacustres naturels.

Directeur de thèse : Corinne Petit (CR1 CNRS, HDR) corinne.petit@uca.fr

Le chlore est l'halogène le plus abondant dans la Nature. Bien que longtemps considéré non réactif dans l'environnement, cet élément est aujourd'hui connu pour intervenir dans un cycle biogéochimique complexe dans lequel les microorganismes jouent un rôle prépondérant. Aujourd'hui plusieurs milliers de composés chlorés d'origine naturelle ont été caractérisés. Cependant malgré un intérêt croissant pour le cycle du chlore depuis les années 2000, la biogéochimie de cet élément et son rôle écologique notamment dans les écosystèmes naturels restent mal compris.

L'objectif de ce projet est de fournir des informations détaillées de ce cycle dans des systèmes lacustres préservés des activités humaines. Une partie des recherches envisagées portera sur l'étude de l'abondance, de la diversité, de la distribution et de l'activité des microorganismes impliqués dans les différentes étapes de ce cycle notamment par des approches moléculaires (séquençage haut débit, métagénomique, single cell, transcriptomique, qPCR, RT-qPCR). Des approches culturelles seront également développées pour isoler les microorganismes d'intérêt. En parallèle des données chimiques seront collectées afin d'estimer les stocks et flux de chlore organique et inorganique au sein des écosystèmes.

Biderre-Petit C et al (2016). Distribution of *Dehalococcoidia* in the anaerobic deep water of a remote meromictic crater lake and detection of *Dehalococcoidia*-derived reductive dehalogenase homologous genes. PlosOne, 11:e0145558.

classification, diversité et répartition des virus de microbes dans la biosphère

Directeur de thèse : T Sime-Ngando (DR CNRS) telesphore.sime-ngando@uca.fr

Co-encadrant : F Enault (MCF) francois.enault@uca.fr

Les virus sont omniprésents dans la biosphère et infectent l'ensemble des êtres vivants. Au sein des écosystèmes, ils ont un impact sur la diversité des populations microbiennes, l'évolution des génomes de ces populations, et directement ou indirectement sur les cycles biogéochimiques majeurs. L'exploration des communautés virales reste toutefois une tâche complexe et nos connaissances sur la composition, la diversité et la dynamique de ces communautés sont encore très limitées. La métagénomique, appliquée à la fraction virale, permet d'étudier le contenu génétique des virus présents dans un écosystème et a notamment mis en évidence la grande richesse des populations virales environnementales, tant du point de vue des gènes que des génotypes. Toutefois, notre compréhension du monde viral est encore très fragmentaire et la démocratisation récente de la métagénomique virale offre de nouvelles possibilités.

L'objectif de cette thèse sera dans un premier temps de mieux caractériser le contenu en gènes des virus de microbes à partir des nombreux métagénomes publics et de proposer une classification de ceux-ci à partir de leur génome. Ce travail fournira un cadre pour analyser la diversité et la répartition de ces entités dans la biosphère et étudier l'évolution de familles virales d'intérêt. Une attention spéciale sera portée aux écosystèmes lacustres particulièrement étudiés au laboratoire et pour lesquels des données obtenues au sein de notre équipe permettront des analyses plus spécifiques. Dans le cadre de ces travaux, le candidat sera amené à développer des méthodologies bio-informatiques adaptées au traitement de ces données particulières et à les rendre disponibles à l'ensemble de la communauté scientifique.

Roux S, Enault F, Ravet V, Colombet J, Bettarel Y, Auguet JC, Bouvier T, Lucas-Staat S, Vellet A, Prangishvili D, Forterre P, Debroas D, Sime-Ngando T. (2016) Analysis of Metagenomic Data Reveals Common Features of Halophilic Viral Communities Across Continents. *Environ Microbiol.* 18(3):889-903. Doi: 10.1111/1462-2920.13084. (IF: 4.9)

Roux S, Adriaenssens EM, Dutilh BE, Koonin EV, Kropinski AM, Krupovic M, Kuhn JH, Lavigne R, Brister JR, Varsani A, Amid C, Aziz RK, Bordenstein SR, Bork P, Breitbart M, Cochrane GR, Daly RA, Desnues C, Duhaime MB, Emerson JB, Enault F *et al.* (2018) Minimum Information about an Uncultivated Virus Genome (MIUViG). *Nat Biotechnol.* Doi: 10.1038/nbt.4306. PMID: 30556814. (IF: 35.7)

Effluents hospitaliers : source de pollution en antibiotiques et de résistances bactériennes potentiellement transmissibles via un biofilm?

Directeur de thèse : Ousmane Traoré (PU-PH-HDR), co-encadrante Geneviève Bricheux (CRCN CNRS)
otraore@chu-clermontferrand.fr

L'objectif général de ces travaux est d'évaluer le risque biologique dû à la diffusion horizontale de gènes de résistance aux antibiotiques (AB) hébergés par les souches cliniques déversées dans le réseau de collecte des eaux usées. Ces effluents hospitaliers sont susceptibles de représenter des points critiques d'échange entre les bactéries, en raison de la diversité et de la densité microbienne élevée des micro-organismes et de la présence de molécules anti-infectieuses

Le projet de thèse comporte plusieurs volets :

Déterminer les concentrations en molécules anti-infectieuses ciblées (AB ou antiseptiques) et la composition des communautés microbiennes présentes sous forme de biofilms au niveau des effluents hospitaliers, urbains et de la station d'épuration municipale réceptrice.

Comparer ces résultats avec les données hospitalières de consommations AB et de souches cliniques isolées pour rechercher un lien éventuel direct.

Déterminer la capacité d'un plasmide conjugatif porteur de gènes de résistance aux AB et d'un gène de fluorescence à diffuser au sein de biofilms constitués en microcosmes à partir des communautés microbiennes des effluents hospitaliers. La détermination du taux de transfert avec et sans pression AB sera suivie de l'identification des transconjugants

Développer des outils moléculaires spécifiques (système CRISPR-Cas) pour éliminer les gènes codant la résistance aux AB et en mesurer l'efficacité dans des communautés bactériennes organisées en biofilm

Ory J, Bricheux G, Robin F, Togola A, Forestier C, **Traore O**. Biofilms in hospital effluents as a potential crossroads for carbapenemase-encoding strains. *Sci Total Environ*. 2019 20; 657:7-15