



Risques bactériens liés à la consommation des produits de la pêche et de l'aquaculture, une approche de la mer à l'assiette.

Thomas Brauge

► To cite this version:

Thomas Brauge. Risques bactériens liés à la consommation des produits de la pêche et de l'aquaculture, une approche de la mer à l'assiette.. Sciences de l'environnement. Université du littoral Côte d'Opale - ULCO, 2024. <tel-04844792>

HAL Id: tel-04844792

<https://hal.science/tel-04844792v1>

Submitted on 18 Dec 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC BY-NC-ND 4.0 - Attribution - Non-commercial use - No Derivative Works - International License



Oriane Gosset



UNIVERSITÉ DU LITTORAL CÔTE D'OPALE

Mémoire pour l'obtention du diplôme d'

HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Domaine scientifique : Biologie, Médecine et Santé

présenté par

Thomas Brauge
Chargé de Projets Recherche

Risques bactériens liés
à la consommation des
produits de la pêche et
de l'aquaculture, une
approche de la mer à
l'assiette.

Soutenue le 15 Octobre 2024

devant le jury composé de :

Michèle Gourmelon

Chercheuse, Ifremer, France / *Rapporteuse*

Sophie Leterme

Professeur, Université de Flinders, Australie / *Rapporteuse*

Jean-Yves Madec

Directeur de recherche, Anses, France / *Rapporteur*

Christine Faille

Directrice de recherche, INRAe, France / *Examinatrice*

Mélanie Gay

Directrice de recherche, Anses, France / *Examinatrice*

Sophie Granier

Chercheuse, Anses, France / *Examinatrice*

Aurélien Hanin

Chercheuse, Centre technique Actalia, France / *Examinatrice*

Sébastien Monchy

Professeur, ULCO, France / *Examineur*

I. PRÉFACE

Mon Habilitation à Diriger des Recherches (HDR) s'inscrit dans un parcours scientifique que j'ai façonné au fil des années, guidé par une passion pour la microbiologie et un engagement en faveur de la sécurité alimentaire. Mes travaux se concentrent principalement sur les risques bactériens liés aux produits de la pêche et de l'aquaculture, avec une attention particulière portée aux agents pathogènes émergents et à l'antibiorésistance dans les environnements marins. Cette HDR est à la fois l'aboutissement de nombreuses années de recherche et de collaborations et l'ouverture vers de nouvelles perspectives scientifiques dans ces domaines.

Ma formation universitaire a commencé par un cursus en biologie et microbiologie, puis elle s'est orientée vers l'étude des agents pathogènes d'origine alimentaire lors de mon doctorat. Dès cette étape, j'ai été attiré par les enjeux complexes liés à la sécurité des produits de la mer, à la fois en raison de mon intérêt personnel pour les écosystèmes aquatiques et de l'importance croissante de ces produits dans l'alimentation mondiale. Après l'obtention de ma thèse, j'ai poursuivi mes recherches au sein du même laboratoire, où j'ai pu approfondir mes connaissances sur les bactéries pathogènes associées aux produits de la pêche et de l'aquaculture.

Sous la direction de ma mentor Graziella Midelet, j'ai acquis une solide expertise dans la gestion de projets de recherche et le montage de projets scientifiques. Grâce à ses conseils, j'ai rapidement pu obtenir mes propres financements, d'abord pour soutenir des travaux en cours, puis pour diriger mes propres projets. Mon parcours s'est enrichi grâce à de multiples collaborations avec des institutions académiques, des organismes de recherche et des partenaires industriels. J'ai eu l'opportunité de conduire des recherches sur la caractérisation génétique des pathogènes marins, le développement d'outils de détection innovants, et l'évaluation des risques sanitaires liés à la consommation des produits de la pêche. J'ai ainsi pu acquérir une expertise sur *Listeria monocytogenes* et les *Vibrio* entéropathogènes, deux bactéries clés pour la sécurité sanitaire des produits aquatiques.

Mes recherches se sont concentrées sur *L. monocytogenes*, un pathogène persistant dans les environnements de transformation, capable de survivre dans des conditions hostiles, notamment à basse température. J'ai étudié l'occurrence et la diversité génétique des souches isolées des produits de la pêche et des ateliers de transformation, tout en explorant les mécanismes de résistance et d'adaptation de cette bactérie. Parallèlement, mes travaux ont porté sur *Vibrio* spp., dont l'importance croissante est liée au réchauffement climatique. J'ai contribué à la caractérisation des souches pathogènes de *Vibrio parahaemolyticus* et à l'étude de leur résistance aux antimicrobiens (RAM), ainsi que des facteurs environnementaux influençant leur prolifération. J'ai également participé à l'initiation des premières activités de recherche sur l'antibiorésistance des bactéries marines au sein de mon laboratoire, un

domaine dans lequel mon expertise est encore en développement, mais pour lequel j'ai dirigé des projets de recherche. J'ai dirigé des projets visant à acquérir des connaissances sur la présence de bactéries résistantes aux antimicrobiens (BRA) et des gènes de résistance aux antimicrobiens (GRA) dans le milieu marin, en particulier dans les eaux de surface et les organismes marins, dont certains sont destinés à la consommation humaine.

Dans mes perspectives de recherche, je souhaite conserver mes trois axes principaux, à savoir l'antibiorésistance, les *Vibrio* entéropathogènes, et *L. monocytogenes*, en poursuivant les travaux en cours tout en développant de nouveaux axes de recherche. Je vise en particulier à adopter une approche intégrée *One Health* pour étudier les interactions complexes entre les santés humaine, animale et environnementale. Cette approche est particulièrement pertinente pour des bactéries telles que *V. parahaemolyticus*, qui affecte non seulement les humains, mais également les organismes marins, créant ainsi des risques majeurs pour les industries de la pêche et de l'aquaculture.

À travers cette HDR, je souhaite non seulement consolider les connaissances sur les risques bactériens associés aux produits de la pêche, mais aussi explorer de nouvelles pistes de recherche, notamment autour des biofilms et des mécanismes de résistance et de virulence. Mon objectif est de pouvoir anticiper les défis futurs en matière de sécurité alimentaire, avec entre autres, l'impact du réchauffement climatique sur la prolifération et l'évolution de ces pathogènes, tout en développant des stratégies innovantes pour contrôler la dissémination des pathogènes et garantir la sécurité des produits de la mer.

II. REMERCIEMENTS

L'achèvement de cette HDR marque un jalon important dans mon parcours académique et professionnel. Il s'agit du résultat de nombreuses années de travail personnel, de collaborations fructueuses et de soutien inestimable de nombreuses personnes et institutions. À cet égard, il me tient à cœur de remercier toutes celles et ceux qui ont contribué à cette réalisation de près comme de loin.

Tout d'abord, je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Je remercie Madame la Professeure Sophie Leterme, Madame la Docteure Michèle Gourmelon et Monsieur le Docteur Jean-Yves Madec d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce manuscrit. Je remercie également Madame la Docteure Aurélie Hanin, Madame la Docteure Sophie Granier, Madame la Docteure Mélanie Gay, Madame la Docteure Christine Faille et Monsieur le Professeur Sébastien Monchy d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens également à remercier l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) pour m'avoir offert des opportunités de recherche et de développement professionnel.

Je suis également reconnaissant envers les institutions et organisations partenaires, nationales et internationales, avec lesquelles j'ai collaboré au cours de mes recherches. Leur contribution et leur soutien ont enrichi considérablement nos travaux et ont été essentiels pour leur diffusion et leur impact. J'ai une gratitude marquée pour la région Hauts de France qui est un soutien majeur de nos activités de recherche et qui œuvre de près pour l'amélioration de la sécurité sanitaire des produits de la pêche et de l'aquaculture.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à ma garante d'HDR et à mon mentor, dont le soutien indéfectible et les conseils avisés ont été essentiels à chaque étape de mon parcours. Leur expertise, leur patience et leur encouragement ont non seulement enrichi mes compétences scientifiques, mais ont également inspiré mon engagement envers la recherche scientifique. Mes premières pensées vont vers ma mentor Graziella Midelet, qui m'a accompagné et formé ces treize dernières années. Graziella m'a non seulement formé professionnellement, mais elle m'a également transmis une sensibilité vis-à-vis des autres qui ne me quitte jamais. Elle m'a appris l'importance de l'écoute et du partage tout en m'enseignant (malgré elle) à ne pas me perdre dans les bons sentiments. Graziella, merci d'avoir toujours été à mes côtés et garde cette fibre empathique capable de nourrir et de mener une armée. Merci également à ma collègue et garante d'HDR, Mélanie Gay pour son soutien lors de la rédaction de cette HDR ainsi que pour la relecture minutieuse de ce manuscrit. Son soutien indéfectible, particulièrement au cours de cette dernière année où nous avons traversé le Mordore, a été inestimable. Nous avons

partagé des moments durs et des moments très chouettes, et ce sont ces derniers que nous garderons en mémoire ☺. Merci, Mélanie, pour ta persévérance et ton empathie tout au long de ce voyage.

Bien entendu, je remercie l'ensemble de mes collègues de l'Anses de Boulogne :

Merci à Laurent Laloux directeur du Laboratoire de sécurité des aliments (et chef d'unité par intérim), ainsi que nos directeurs adjoints Jacques Antoine Hennekinne et Catherine Lambert, et les collègues microbiologistes de Maisons-Alfort avec qui nous avons la chance d'échanger régulièrement.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Sophie, Karine et Corinne de notre service des affaires générales (SAG), financier et formation. Au fil de mon expérience, j'ai de plus en plus conscience de la valeur inestimable d'un service administratif fiable et réactif. Merci pour votre travail exemplaire et pour votre tolérance face à des questions parfois simples, auxquelles vous répondez toujours avec sympathie et bienveillance. Votre soutien constant et votre efficacité nous sont terriblement précieux.

Je remercie particulièrement mes collègues de la microbiologie. Stéphanie Copin, ma super collègue de bureau et avant tout la responsable du LNR *Vibrio* des produits de la pêche. Merci pour ton soutien inestimable à la recherche avec tes petites "bébêtes". Ta présence au bureau et nos discussions informelles entre deux réunions sont une véritable soupape qui fait souvent du bien. Un merci également à Virginie Raguinet, associée au LNR *Vibrio* et assistante de prévention. Immense reconnaissance à l'équipe Bactériologie et Antibiorésistance : Guylaine, la plus expérimentée de l'équipe et ma partenaire de (très) longue date, merci pour ton expertise inestimable et ton soutien constant. À Sabine, "Grumpy" pour son caractère grincheux mais toujours dévouée et rigoureuse, merci pour ta précision et ton sens critique. À Cindy, la courageuse dont nous espérons tous voir l'évolution professionnelle brillante, merci pour ton engagement et ta détermination. Et enfin, à Cécile, le "couteau suisse" de notre bande, merci pour ta polyvalence et ton enthousiasme sur chaque nouvelle manip. Votre collaboration, votre esprit d'équipe et votre flexibilité sont précieux pour moi et aide vraiment à notre marche en avant !

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers les doctorants et stagiaires, passés et présents. Merci aux anciens doctorants, Erwan et Sylvain, avec qui nous sommes allés jusqu'au succès de la soutenance de leur thèse. Merci aussi aux "petits nouveaux" que j'encadre actuellement : Marion, Maylis, Darius et Antoine. Votre travail est précieux et je suis fier de voir comment vous relevez chaque jour les défis que représente la réalisation d'une thèse. Votre progression, bien que vous n'en soyez peut-être pas toujours conscients, est remarquable, et je suis très fier de votre investissement. Bravo pour le chemin déjà parcouru; gardez votre enthousiasme, et vous irez très loin ! Merci également pour vos petits mots de reconnaissance, qui me touchent particulièrement. Je souhaite également remercier Églantine, chargée de projet scientifique, discrète mais qui avance comme un bulldozer. Merci également à notre post-

doctorant Jonathan, dont le soutien dans la gestion des projets de recherche est inestimable. Ton enthousiasme et ta sympathie, Jonathan, sont une véritable locomotive pour notre groupe !

Merci à tous pour votre engagement et votre esprit, qui rendent notre travail aussi chouette !

J'ai aussi une pensée vers mon collègue Alexandre Dehaut, pour qui j'ai un immense respect scientifique (et pas que ! ☺). Bravo Alex pour toutes tes réalisations ! Tu as grandement contribué au rayonnement de notre labo et je suis fier à présent de partager la même unité que toi. Nous avons grandi ensemble dans ce labo, et je suis super content de constater que, même si nous ne sommes plus côte à côte dans nos bureaux, nous restons proches dans nos perspectives de recherche. J'ai hâte que nous fassions briller notre labo ensemble. Je pense également à Yu, avec qui nous avons partagé les grands moments de la thèse, ainsi qu'à vos deux petites crevettes. Vive l'instant présent et vive l'avenir ! ☺.

Je tiens également à remercier Fleurine (Fleulfeuuuuu !). Merci, Fleurine, pour ta pétillance et ton amitié. En quatre ans, nous avons partagé de nombreuses aventures en dehors du labo, et j'admire ta personnalité si agréable ! Merci d'avoir toujours été présente pour une petite sortie, souvent accompagnée d'une petiteuuuuu bière.

Je remercie également mes collègues de l'ULCO : Thierry Grard, et notamment Roxane Roquigny, Cedric Le Bris et Maryse Bonnin-Jusserand avec qui nous avons de belles perspectives de collaboration.

Bien entendu, je remercie l'ensemble des collègues de l'Anses, les collègues du LRUE, (notamment Nathalie Gnanou-Besse, Lena Barre, Adrien Assere et Benjamin Felix), les collègues de Fougères (Christophe Soumet, Arnaud Bridier, Dominique Pessel et Kahina Slimani), les collègues de Nancy (Benoit Gassilloud, Amandine Wilhelm, Jean-Sébastien Py) et Sophie Guitton de l'unité Veille.

En dehors de l'Anses, je souhaite exprimer ma reconnaissance à mes collègues du RMT. Quel bonheur de se retrouver plusieurs fois dans l'année pour discuter de science et imaginer des projets de recherche ! Je tiens particulièrement à remercier Aurélie Hanin (une nouvelle fois ☺), avec qui je co-dirige l'axe Détection du RMT, ainsi qu'Anne-Laure Boutillier, Arnaud Bridier, Mickael Desvaux, Bastien Fremaux (supporter de l'ASM à jamais !), Morgan Guilbaud (et ses chats), Michel Hébraud, Dominique Hurtaud-Pessel, Ludgi Lugros, Nadia Oulahal, Christine Pissavin, Christophe Soumet, et la coordinatrice du RMT Catherine Stride. Merci à vous tous pour votre soutien qui a contribué à nos grands succès de valorisation et de montage de projet. Je remercie également nos collègues de l'INRAe de Villeneuve d'Ascq, Christine Faille (une nouvelle fois ☺) et Thomas Dubois, pour leur partenariat dans de nombreux projets de recherche. Je tiens également à exprimer ma gratitude envers nos collègues du CEA Tech, Olivier Ducloux, et du CEA LETI, avec Pierre Marcoux et Sophie Morales. J'ai une pensée particulière pour les collègues de l'Ifremer, Pierre Cresson, avec qui nous avons initié la thématique de l'antibiorésistance, Pascal Garry et Françoise Leroi, avec qui nous espérons créer de grandes collaborations à l'avenir, et qui en attendant nous apportent une aide précieuse sur les CSI de nos

doctorants. Je remercie également Nicolas Nguyen Van Long et Guillaume Gillot de l'Adria pour nos riches échanges autour de la croissance des *Listeria* dans le saumon.

Enfin je ne les nommerai pas un à un, car la liste pourrait être longue, mais je tiens également à remercier les collègues de tous les projets qui n'auraient pas été cités précédemment.

À toutes et tous, mes collègues, je vous exprime ma profonde reconnaissance. Cette HDR est autant le fruit de vos efforts et de votre soutien que le mien. Merci pour avoir rendu cette aventure scientifique possible et pour votre contribution à cette HDR.

Plus personnellement, cette HDR est l'occasion pour moi de remercier toutes les personnes qui me sont chères.

Merci à mes chers amis du Ch'nord : Damien J'go et Marie, Clément et Oriane, Alex et Mélissa, Maz et Ingrid, Louis et Louise. Cela fait plus de 10 ans que nous nous connaissons, partageant les bons et les moins bons moments ! Merci pour votre soutien constant, pour votre enthousiasme indéfectible à l'idée d'un week-end ou d'un match de rugby. Avec vous, j'ai trouvé une famille de substitution avec qui je partage mes grandes joies et mes moments difficiles. Nous avons traversé tant d'aventures ensemble, des vacances improvisées aux soirées mémorables, et chaque instant passé en votre compagnie est un souvenir précieux. Recevez dans ces lignes l'immense gratitude que je vous porte, car votre présence dans ma vie est inestimable. Encore merci Oriane Gosset (la meilleure artiste du monde !) pour ma formidable page de garde ! ☺



Merci à mes amis de toujours:

Anne-So, qui ne me lâchera jamais. Ta rigueur et ton sens de l'engagement sont des qualités que j'admire profondément. Merci d'être toujours là pour moi et de maintenir le feu de notre amitié à grands coups d'événements aussi géniaux les uns que les autres. Les 15 août en tête de pont et les petits déjeuners au Plaza juste derrière ☺ !

Laure, aussi précieuse qu'un diamant. Merci d'être simplement toi. Au fil des années, nous avons construit une amitié unique. Merci d'être toujours là et de ne jamais m'avoir lâché. J'ai énormément de chance de t'avoir !

Benoît, merci de me rappeler à chaque fois que nous nous voyons que les amitiés profondes sont indéfectibles, comme les racines de gentiane. Nos discussions sur la vie et la morale sont des moments

que je chéris, car elles me rappellent l'importance de rester fidèle à soi-même et m'ont profondément aidé à simplifier des moments complexes de la vie.

Vincent, merci pour tous ces moments passés ensemble à philosopher sur la vie et la place du travail. Ces échanges m'ont toujours permis de prendre du recul sur des situations complexes. Merci d'avoir toujours su m'orienter dans la bonne direction. Ton intelligence et ta capacité d'analyse sont des atouts précieux dans ma vie.

Clémence, ma sœur de cœur. Nous avons parcouru beaucoup de chemin depuis le berceau ! Merci pour ta tendresse et ton écoute. Ta présence réconfortante m'a souvent aidé à traverser des moments difficiles. Les petits passages à la maison Briviste ont souvent été un véritable refuge de sérénité. Merci de ne pas changer et d'être toujours aussi pétillante à chaque fois que nous nous voyons.

Elfie, ma vieille copine, que je pense comprendre mais que je ne saisis jamais vraiment ☺. Merci pour ton amitié et ta joie de vivre contagieuse. Tu apportes une énergie unique à notre groupe d'amis et nous rappelles l'importance de l'authenticité et de la spontanéité. Tu m'as également donné une grande leçon de vie en montrant que, même dans les situations difficiles, rien n'est immuable et qu'il suffit d'une grosse dose de courage pour changer les choses.

Margaux, ma gogo ! Aussi généreuse que les plats qui sortent du Chupinazo. Merci de ta bonne humeur et de ta chaleur humaine qui rendent chaque moment passé ensemble exceptionnel. Merci pour ton soutien indéfectible et ta capacité à toujours voir le bon côté des choses. T'es une amie en or et je serai toujours là pour toi !

À vous sept, un immense merci pour votre soutien constant et vos encouragements, même sans en être conscients. Votre amitié est un cadeau inestimable, et je suis profondément reconnaissant de vous avoir dans ma vie. Vous m'inspirez à être une meilleure personne chaque jour, et pour cela, je vous en serai éternellement reconnaissant.

Merci à mon ptit cheval, Julia. Merci de nous avoir fait confiance. Nous avons traversé de nombreuses couleurs ensemble, et je suis fier du tableau que nous avons construit. Merci pour ton soutien constant, qu'il soit présent ou à distance.

Enfin cette HDR est pour moi l'occasion de remercier ma famille.

Merci à mes nièces et neveux qui m'emplissent de bonheur : Charly, June, Romy, Justin, Louis et Billie

Merci à ma belle-mère Nelly, cela fait plus de 25 ans que tu fais partie de nos vies. Merci de t'être occupée de moi comme de ton propre fils. Merci pour tout ce que tu fais pour organiser les petits événements familiaux à l'occasion des anniversaires ou des baptêmes. J'ai compris que cette façon de faire est ta manière de nous montrer que tu nous aimes, et sache que cela me touche beaucoup. Au prochain anniversaire organisé à la maison (avec 10 000 invités!) !

Et enfin, un grand merci à ma sœur et mes frères,

Marine, ma sœur adorée, toujours bienveillante et attentionnée. Avec tes fameuses "Marinades", tu veilles constamment sur moi, et je sais que c'est parce que tu veux le meilleur pour moi. Merci pour tout ce que tu as fait, chaque instant reste gravé en moi : nos moments en Californie, la surprise de ton arrivée à mon anniversaire, tes délicieux biscuits de Noël. Tu es vraiment la meilleure des sœurs, et n'oublie jamais à quel point tes trois frères t'aiment. On est tous tellement fiers de toi.

David, mon grand frère, et celui que j'ai toujours voulu impressionner. Merci, Dadou, d'avoir toujours été là pour me pousser plus loin, pour t'être soucie de moi sans relâche. Ta persévérance, toi qui te lèves tôt et te couches tard comme Papa, m'a toujours inspiré. Dans les moments difficiles, je me rappelle de toi et je m'efforce de me surpasser.

Mathieu, mon premier soutien, depuis toujours. Merci d'avoir été présent dans les bons comme dans les mauvais moments. Notre relation spéciale est une vraie force pour moi, et je sais que je pourrai toujours compter sur toi. Merci pour ta présence, et pour les conseils de vie que tu m'as donnés. Ton enthousiasme est contagieux, tu pourrais diriger une armée (et tu diriges déjà une équipe de rugby !).

Merci à vous trois pour tout votre amour et votre soutien infaillible. Je suis chanceux de faire partie de cette fratrie incroyable, et comme je l'ai dit il y a dix ans, avec vous, je reste le plus fier des petits frères.

Enfin, je remercie mon père, le vieux médecin de campagne. L' amoureux des hommes et de la nature, celui qui n'ose pas regarder un arbre dans son parc lorsqu'il a contacté un bûcheron pour venir l'élaguer. Merci Papa d'avoir été un si bon père et d'avoir toujours cru en moi. Merci surtout de t'être arrêté en chemin, ce jour de Juin 2005, pour modifier mon dossier d'inscription en ES (Economique et social) au profit de la filière S (Scientifique), sur le capot de la voiture, alors que nous étions en route pour les inscriptions en première au lycée. C'est ce geste qui a tout démarré.

III. TABLE DES MATIÈRES

Table des matières

I.	PRÉFACE	2
II.	REMERCIEMENTS	4
III.	TABLE DES MATIÈRES.....	10
IV.	TABLE DES ABRÉVIATIONS	12
V.	TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	14
VI.	CURRICULUM VITAE	16
VI.A.	Diplômes	16
VI.B.	Expériences professionnelles.....	17
VI.A.	Projets de recherche.....	18
VI.A.1.	Coordination et Co coordination:	18
VI.A.2.	Partenariats	20
VII.	CONTEXTE SCIENTIFIQUE.....	22
VIII.	ACTIVITÉS DE RECHERCHE	27
VIII.A.	Antibiorésistance des produits de la pêche.....	28
VIII.B.	<i>Vibrio</i> entéropathogènes.....	34
VIII.B.1.	L'antibiorésistance de <i>V. parahaemolyticus</i>	35
VIII.B.2.	Les biofilms de <i>Vibrio</i> entéropathogènes	36
VIII.C.	<i>Listeria monocytogenes</i>	37
VIII.C.1.	Performance des prélèvements de surface.....	37
VIII.C.2.	Mise au point d'outils de détection et de quantification innovants	39
VIII.C.3.	Occurrence de <i>L. monocytogenes</i> VC, VNC et morte en atelier de transformation ..	42
VIII.C.1.	Type des souches de <i>L. monocytogenes</i> de la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture.....	43
VIII.C.2.	Impact du process de transformation du saumon fumé sur la viabilité et la croissance de <i>L. monocytogenes</i>	45
VIII.C.3.	Impact des désinfectants et des surfaces antibactériennes sur les biofilms de <i>L. monocytogenes</i>	47
IX.	PERSPECTIVES DE RECHERCHE	53
IX.A.	Antibiorésistance des produits de la pêche.....	55
IX.A.1.	Identification d'indicateurs de la RAM dans les produits de la pêche et de l'aquaculture	55
IX.A.2.	Identification des sources de contamination et propagation de la RAM dans la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture.....	57
IX.B.	<i>Vibrio</i> entéropathogènes.....	59
IX.B.1.	L'antibiorésistance de <i>V. parahaemolyticus</i>	59
IX.B.2.	Les biofilms des <i>Vibrio</i> entéropathogènes.....	61

IX.B.3. Etude de la transmission entre les animaux, l'environnement et les humains : approche <i>One Health</i>	62
IX.C. <i>Listeria monocytogenes</i>	63
IX.D. Le réchauffement climatique	64
IX.E. Aliments et contenants alimentaires nouveaux	67
X. PERSPECTIVES STRATEGIQUES	68
X.A. Ouverture à l'international	68
X.B. Organisation d'un congrès.....	70
XI. APPRENTISSAGE SUR LES RELATIONS HUMAINES	72
XI.A. L'encadrement et le management.....	72
XI.B. Construction de partenariat.....	74
XII. CONCLUSION	76
XIII. PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES.....	78
XIII.A. Rédaction de chapitres d'ouvrages	78
XIII.B. Guides.....	79
XIII.C. Publications à destination des professionnels et du grand public.....	79
XIII.D. Publications dans des revues internationales à comité de lecture.....	80
XIII.E. Communications orales dans des congrès nationaux et internationaux.....	83
XIII.E.1. Communications affichées dans des congrès nationaux et internationaux.....	88
XIV. ENCADREMENTS.....	94
XIV.A. Chercheurs et chercheuses en doctorat (co-encadrements)	94
XIV.B. Chargés de projets et post doctorants	97
XIV.C. Techniciens.....	98
XIV.D. Stagiaires	98
XIV.E. Comité de suivi de thèses	99
XV. ACTIVITÉS CONNEXES	100
XV.A. Activité d'expertise et de conseil	100
XV.B. Activité éditoriale	101
XV.C. Enseignements et formations.....	101
XVI. REFERENCES	102

IV. TABLE DES ABRÉVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ANR : Agence Nationale de la Recherche

BRA : Bactérie Résistante aux Antibiotiques

B3PA : Unité bactériologie et parasitologie des produits de la pêche et de l'aquaculture

CC : Clonal Complex (Complexe Clonal)

CEA : Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives

cgMLST : Core Genome Multi-Locus Sequence Typing, (Typage multi-locus du génome central)

CGFS : Channel Ground Fish Survey

CITPPM : Confédération des Industries de Traitement des Produits des Pêches Maritimes et de l'Aquaculture

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CNRS : Centre national de la recherche scientifique

DIP-RAMAN : Deuterium Isotope Probing – Raman

DLC : Date Limite de Consommation

D₂O : Deutérium Oxyde (Eau lourde)

EFSA: European Food Safety Authority

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

EIL : Essai interlaboratoire

FAO : Organisation pour l'alimentation et l'agriculture (de l'anglais *Food and Agriculture Organization*)

FEAMP : Fonds européen pour les affaires maritimes

GRA : Gène de Résistance aux Antibiotiques

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

IBTS : International Bottom Trawl Survey

INRAe : Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement

IFIP : Institut du porc

Ifremer : Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer

IHPE : Interactions Hôtes-Pathogènes-Environnements

LNR : Laboratoire National de Référence

LRUE : Laboratoire de Référence de l'Union Européenne

MALDI- TOF : Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight
(Désorption/Ionisation Laser Assistée par Matrice - Temps de Vol)

MLST : MultiLocus Sequencing Typing (Typage par séquençage)

MR : Multirésistante

OECD : Organisation for Economic Cooperation and Development (Organisation de coopération et de développement économiques)

PCR: Polymerase chain reaction

PMA: propidium monoazide

qPCR: Quantitative polymerase chain reaction

RAM : Résistance aux antimicrobiens

RTqPCR : Revers Transcription quantitative Polymerase chain reaction (Réaction en Chaîne par Polymérase quantitative après Transcription Inverse)

ST : Sequence Type (Type de Séquence)

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective

ULCO : Université du Littoral-Côte-d'Opale

VC : Viable cultivable

VNC : Viable non cultivable

WGS : Whole Genome Sequencing (Séquençage de Génome Complet)

V. TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures

Figure 1 : Production mondiale des pêches et de l'aquaculture (FAO, 2024).....	22
Figure 2 : Consommation d'aliments d'origine animale aquatique par région, 1961–2021 (FAO, 2024)	22
Figure 3 : Agencement des thèmes de recherche selon les étapes de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture.	27
Figure 4 : Activité Anthropique dans la Manche et la Mer du Nord.....	29
Figure 5 : Antibiotogramme des bactéries Gram positif	30
Figure 6 : Antibiotogramme des bactéries Gram négatif.....	31
Figure 7 : Résumé graphique de l'étude sur la résistance aux antimicrobiens et la répartition géographique de souches de <i>Staphylococcus</i> sp. isolées du merlan (<i>Merlangius merlangus</i>) et de l'eau de mer de la Manche et de la mer du Nord (Brauge et al., 2024b).....	32
Figure 8 : Abondance cumulée des gènes indicateurs de la résistance aux antimicrobiens <i>tetA</i> , <i>blaTEM</i> , <i>sul1</i> et <i>intI1</i> isolés d'eau de surface, de poisson, de plancton et de coquillage (Bourdonnais, 2022). ..	34
Figure 9 : Principe du DIP-Raman pour la mesure du métabolisme bactérien et la détermination de l'état de viabilité bactérienne (Source : Thèse Darius Abedini).....	41
Figure 10 : Arbre de regroupement minimum des données MLST pour 698 isolats de <i>L. monocytogenes</i> . Chaque cercle représente un complexe clonal et chaque segment de diagramme en camembert correspond à un isolat individuel. La taille du cercle est proportionnelle au nombre d'isolats ayant ce CC. Les zones grises regroupent les isolats de la même lignée. Les lignes de connexion indiquent les relations phylogénétiques en termes de nombre de différences allélique (Brauge et al., 2023).....	44
Figure 11 : Evolution de l'état physiologique de <i>L. monocytogenes</i> pendant le procédé de transformation et la durée de vie du saumon fumé. L'histogramme bleu représente la valeur de dénombrement obtenue par méthode culturale. En rouge sont représentés les résultats issus de la PMAqPCR (ADN de bactéries viables) et en vert, les résultats obtenus par qPCR (ADN bactérien total).....	47
Figure 12 : Transfert de <i>L. monocytogenes</i> en biofilm mono espèce traité à l'eau (contrôle) ou au biocide ammonium quaternaire (AQ) de la surface vers l'aliment	51
Figure 13 : Flores viables cultivables, viables et totales quantifiées à partir des biofilms monoespèce de <i>L. monocytogenes</i> réalisés sur les matériaux lanière Estruflex non conditionnés (A) sans et (B) avec ions Ag^+ et conditionnés (C) sans et (D) avec ions Ag^+ , sans traitement et après traitement avec des biocides Arvo, Oxygal ou Syner 3P.	52
Figure 14 : Activités de recherche existantes et perspectives de recherche selon les étapes de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture.....	54
Figure 15 : Production mondiale d'animaux aquatiques dans le secteur de la pêches et de l'aquaculture en Europe et en Afrique, 1950-2022. * L'Europe comprend des données pour l'Union des républiques socialistes soviétiques pour les années 1950-1991. (FAO, 2024)	70

Tableaux

Tableau 1 : Prévalence globale (aliment et surface) de <i>L. monocytogenes</i> dans 18 entreprises de transformation des produits de la pêche et de l'aquaculture entre 2015 et 2023 (Projets LIVIFLO, CUSTAPHY, STRESSBACFISH et SILVERPROTECT).....	43
Tableau 2 : Prévalence de <i>L. monocytogenes</i> dans du saumon issu de 4 entreprises de transformation après salage et après fumage (Projet LIVIFLO).....	46
Tableau 3 : Prévalence de <i>L. monocytogenes</i> sur les surfaces de 8 entreprises de transformation de poisson issus de l'aquaculture et de la pêche avant et après nettoyage et désinfection (projet LIVIFLO et STRESSBACFISH).....	48
Tableau 4 : Enquête réalisée entre 2010 et 2015 sur l'utilisation des biocides dans 18 entreprises de la filière des produits de la pêche.	49
Tableau 5 : Récapitulatif des enseignements et des formations dispensés	101

VI. CURRICULUM VITAE

VI.A. Diplômes

2013-2015 Doctorat en Ingénierie des Fonctions Biologiques

École Doctorale SMRE - Université de Lille 1 (Lille, France)

- **Titre :** Étude des exopolysaccharides dans la matrice extracellulaire des biofilms de *Listeria monocytogenes*
- **Laboratoire d'accueil :** Anses, Laboratoire de Sécurité des Aliments (Boulogne-sur-Mer, France)

2011-2012 Master 2 en Diagnostic Microbiologique : Approches Innovantes

Université Paul Sabatier (Toulouse, France)

- **Projet thématique:** Mise en évidence de probiotiques pour le traitement de la cryptosporidiose bovine
- **Mémoire de stage :** Mise au point d'une PMAqPCR pour la quantification de *L. monocytogenes* dans les produits de la pêche. **Laboratoire d'accueil :** Anses, Laboratoire de Sécurité des Aliments (Boulogne-sur-Mer, France)

2010-2011 Master 1 en Microbiologie et Agrobiosciences

Université Paul Sabatier (Toulouse, France)

- **Mémoire de stage :** Isolation et caractérisation de facteurs bactériens suppresseurs de la thermo sensibilité chez une souche mutante pour ces deux principaux chaperons : Hsp70 et Trigger Factor. **Laboratoire d'accueil :** Laboratoire de Microbiologie et de Génétique moléculaire, UMR CNRS 5100 (Toulouse, France)

2009-2010 Licence 3 en Microbiologie et Agrobiosciences

Université Paul Sabatier (Toulouse, France)

2008-2009 Licence 2 en Sciences de la Vie et de la Santé, option Cellulaire et Physiologie

Faculté des Sciences et technique de Limoges (Limoges, France)

VI.B. Expériences professionnelles

Depuis 10/2018 : Chargé de Projets Recherche

Anses - Laboratoire de Sécurité des Aliments – Site de Boulogne-sur-Mer (Boulogne-sur-Mer, France)

- Co-management opérationnel de l'équipe Bactéries et antibiorésistance au sein de l'unité.
- Développement de partenariats internationaux
- Développement de nouveaux outils pour la détection et la quantification de pathogènes bactériens et de l'antibiorésistance
- Recherche des pathogènes bactériens et bactéries antibiorésistantes dans les matrices alimentaires, provenant des produits de la pêche et de l'aquaculture, des environnements de production ou du milieu marin.
- Etude des biofilms bactériens et de l'état viable non cultivable.
- Rédaction, dépôts, gestion et valorisation de projets de recherche.

12/2015 – 10/2018 : Chargé de Projets Scientifiques (Post-Doc)

Anses - Laboratoire de Sécurité des Aliments – Site de Boulogne-sur-Mer (Boulogne-sur-Mer, France)

- Recherche des pathogènes bactériens et bactéries antibiorésistantes dans les matrices alimentaires, provenant des produits de la pêche et de l'aquaculture, des environnements de production ou du milieu marin.
- Etude des biofilms bactériens et de l'état viable non cultivable.
- Etude des interactions bactéries/parasites

10/2012 - 12/2015 : Chercheur en Doctorat

Anses - Laboratoire de Sécurité des Aliments – Site de Boulogne-sur-Mer (Boulogne-sur-Mer, France)

- Caractérisation des exopolysaccharides de la matrice extracellulaire des biofilms de *L. monocytogenes*
- Études du rôle des exopolysaccharides dans la formation et la résistance aux désinfectants des biofilms de *L. monocytogenes*

07/2012 - 10/2012 : Chargé de projet scientifique

Anses - Laboratoire de Sécurité des Aliments – Site de Boulogne-sur-Mer (Boulogne-sur-Mer, France)

- Quantification de *L. monocytogenes* viable cultivable et viable non cultivable dans les produits de la pêche et dans des biofilms bactériens

01/2011 - 06/2012 : Chargé de projet scientifique Stagiaire

Anses - Laboratoire de Sécurité des Aliments – Site de Boulogne-sur-Mer (Boulogne-sur-Mer, France)

- Mise au point d'une PMAqPCR pour la quantification de *L. monocytogenes* dans les produits de la pêche

05/2009 - 08/2007 : Assistant Ingénieur Stagiaire

Laboratoire de Microbiologie et Génétique Moléculaires, Centre de Biologie Intégrative, Université de Toulouse, CNRS, UPS (Toulouse, France)

- Identification et caractérisation de nouvelles chaperonnes moléculaires chez *Escherichia coli*

VI.A. Projets de recherche

VI.A.1. Coordination et Co coordination:

01/2023 - 12/2026 : ANR PRC comité CE21, SUBLIM - Budget total : 681 640 €

Partenaires : Anses Fougères, Ifip, Actalia, INRAe et Université de Rennes

Améliorer la sécurité sanitaire en utilisant des indicateurs biologiques et environnementaux pour prédire les risques de contamination des surfaces industrielles par *L. monocytogenes*.

01/2023 - 01/2026 : Dispositif STIMuLE, Région Hauts de France – VIBRATO - Budget total : 183 936 €.

Partenaires : INRAe, CEA Leti et CEA Tech.

Détermination de l'état de viabilité de bactéries soumises à un stress environnemental (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus* spp., *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli*) par un système innovant de microspectroscopie Raman et marquage isotopique

2024 : IFSea Professeurs invités- BIOCOLLAB - Budget total : 2 500 €.

Partenaires : Université de Flinders (Australie)

Collaboration internationale pour l'étude approfondie des biofilms formés par des agents pathogènes zoonotiques

2024 : Structure fédérative de recherche "Campus de la mer" - VALO-RESIST - Budget total : 3 000 €.

Partenaires : ULCO

Valorisation de la thèse RESASTOCK

2023 : Confédération des Industries de Traitement des Produits des Pêches Maritimes et de l'Aquaculture (CITPPM) - INVLM - Budget total : 3 685 €.

Sans Partenaire

Inventaire des complexes clonaux de souches de *Listeria monocytogenes* isolées de la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture

2023 : Organisation de coopération et de développement économiques (OECD), Ambassade de France en Australie, Ambassade de France au Canada, Structure fédérative de recherche "Campus de la mer" – SEASAFEFOOD - Budget total : 30 000 €.

Partenaires : Université de Flinders (Australie), Agriculture Agri-Food Canada (Canada) et Université de Göteborg (Suède)

Approche innovante pour éliminer les agents pathogènes tout au long de la chaîne de production des produits de la mer

2022 : Structure fédérative de recherche "Campus de la mer" - VALOSTOCK2.0 - Budget total : 5 060€.

Partenaires : ULCO

Valorisation de la thèse RESASTOCK

2021 : Structure fédérative de recherche "Campus de la mer" – CONSOLITHESE - Budget total : 2 336 €.

Partenaires : ULCO

Valorisation de la thèse RESASTOCK.

2021 : Structure fédérative de recherche "Campus de la mer" – VALORES - Budget total : 1 526 €.

Partenaires : Ifremer

Valorisation de projets collaboratifs sur la résistance bactérienne aux antibiotiques dans l'environnement marin.

01/2020 - 12/2023 : Fonds européen pour les affaires maritimes (FEAMP) – SILVERPROTECT - Budget total : 824 331,75 €.

Partenaires : Anses Fougères, Actalia et Université de Rennes

Matériaux innovants incluant des ions d'argent pour assurer une meilleure sécurité des produits de l'aquaculture.

01/2019 - 01/2020 : Enjeux immédiats Aval 2019, France filière pêche – TYPLm - Budget total : 27 285 €.

Partenaires : Anses Maisons Alfort

Inventaire et développement d'un outil PCR performant pour la détermination des complexes clonaux des souches de *Listeria monocytogenes* isolées dans les produits de la pêche et de l'aquaculture.

10/2017 - 11/2020 : Ecoantibio2017 – RESCAPE - Budget total : 40 000 €.

Partenaires : Ifremer

Étude de la résistance bactérienne aux antibiotiques chez les poissons marins et connaissance de leur environnement.

09/2017 - 01/2019 : FranceAgriMer – STRESSBACFISH - Budget total : 79 252 €.

Partenaires : Actalia

Impact de différents stress rencontrés dans les usines de transformation du poisson sur la viabilité et la croissance de *Listeria monocytogenes* et de la flore associée pour une meilleure compréhension des risques microbiologiques associés aux produits de la mer

09/2015 - 11/2017 : FranceAgriMer- LIVIFLO - Budget total : 81 308 €.

Partenaires : Actalia

Recherche et caractérisation de souches viables non cultivables de *Listeria monocytogenes* et de la flore dans l'industrie du saumon.

VI.A.2. Partenariats

01/2024 - 01/2026 : ExposUM – AquaAMR - Budget total : 50 000 €

Partenaire: IHPE (UM5244 UM-CNRS-Ifremer-UPVD) (coordinateur)

Évaluation des facteurs d'exposition dans les milieux aquatiques pour la dissémination des antimicrobiens

01/2023 - 01/2026 : Région Pays de la Loire – HOLISTIC – Non communiqué

Partenaires : Oniris / INRAE (UMR BIOEPAR, équipe APPI-Fish) (coordinateur)

Identification des sources externes d'introduction de l'antibiorésistance dans l'environnement aquacole

03/2020 - 02/2023: FEAMP – PERSISTANCE - Budget total : 580 881 €

Partenaire : Actalia (coordinateur)

Approche combinée phénotypique et génomique pour une meilleure connaissance de la persistance de *Listeria monocytogenes* dans les usines de transformation des produits de l'aquaculture

09/2016 - 09/2019 : CPER MARCO – RECOMANCHE - Budget total : 88 000 €

Partenaire : Ifremer (coordinateur)

Réseau trophique et contaminants en Manche

01/2015 - 01/2017 : FranceAgrimer – CRUSTAPHY - Budget total : 153 000 €

Partenaires : Actalia (coordinateur), Anses Fougères

Impact de différents facteurs environnementaux sur l'état physiologique (cultivabilité et virulence) des communautés microbiennes bactériennes (pathogènes et non pathogènes) dans des entreprises de cuisson de crevettes.

VII. CONTEXTE SCIENTIFIQUE

L'essor de l'industrie des produits de la pêche et de l'aquaculture (poissons, mollusques, crustacés, algues...) au cours des dernières décennies a profondément transformé notre alimentation, rendant les produits de la pêche et de l'aquaculture accessibles à une part croissante de la population mondiale. En 2022, la consommation mondiale apparente d'aliments d'origine aquatique a atteint environ 165 millions de tonnes, soit près du double du taux de croissance annuel de la population mondiale depuis 1961 (Figure 1). La consommation mondiale annuelle par habitant d'aliments issus d'animaux aquatiques est ainsi passée de 9,1 kg en 1961 à environ 20,7 kg en 2022 (Figure 2). En France, la troisième étude individuelle nationale des consommations alimentaires (INCA 3), réalisée en 2017, révèle que 31% des Français de 15 à 79 ans ont consommé du poisson cru entre 2014 et 2015, contre 15% lors de la seconde étude réalisée entre 2006 et 2007 (ANSES, 2019a).

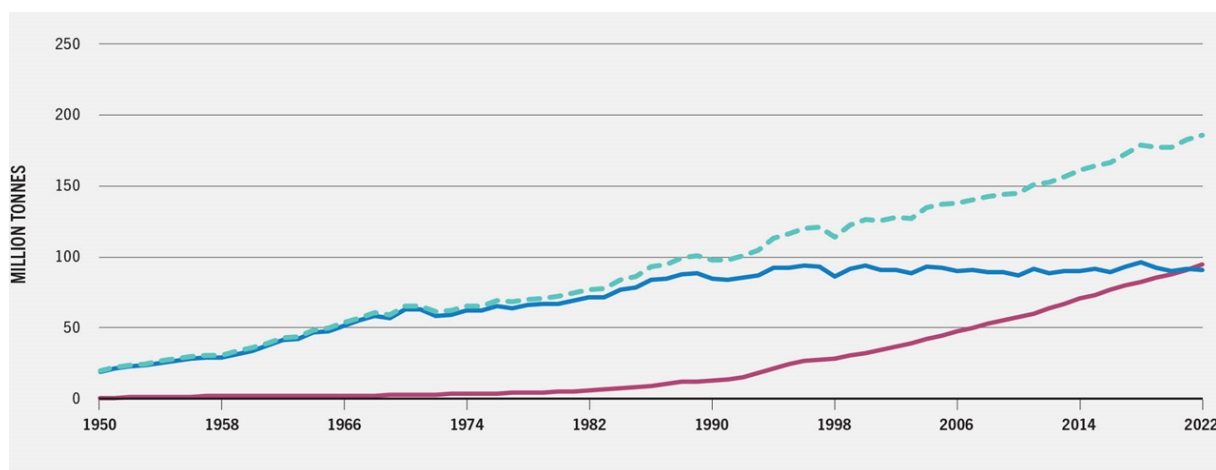


Figure 1 : Production mondiale des pêches et de l'aquaculture (FAO, 2024)

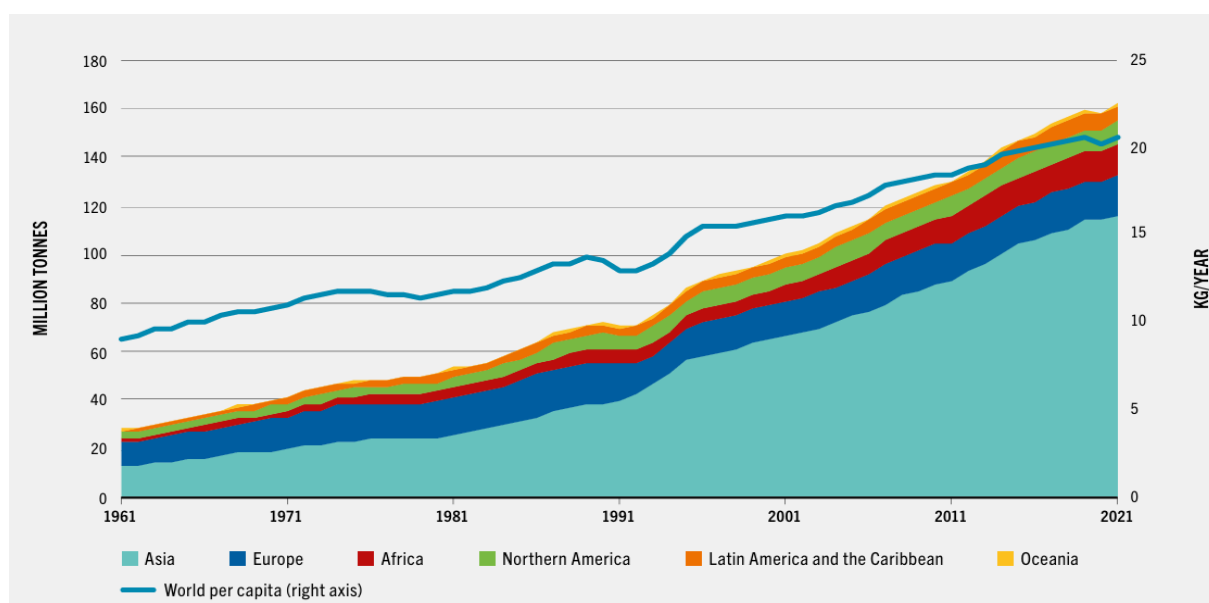


Figure 2 : Consommation d'aliments d'origine animale aquatique par région, 1961–2021 (FAO, 2024)

Cependant, cette consommation croissante de produits de la mer s'accompagne d'une augmentation des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) qu'ils peuvent engendrer. Cette évolution présente des défis majeurs, parmi lesquels la maîtrise des risques bactériens liés à la consommation de ces produits occupent une place centrale. Souvent invisibles mais potentiellement graves, ces dangers nécessitent une attention accrue, tant pour la protection de la santé publique que pour assurer la pérennité de la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture. Parmi les principaux agents bactériens responsables de ces infections, *L. monocytogenes* et certaines espèces appartenant au genre *Vibrio* sont particulièrement préoccupants en raison de leur impact significatif sur la santé publique. Selon les données de l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA), entre 2018 et 2022, *L. monocytogenes* et les *Vibrio* ont été les principaux agents bactériens responsables des TIAC d'origine alimentaire liées à la consommation de produits halieutiques et aquacoles (EFSA, 2023).

L. monocytogenes est un petit bacille (0,5 - 2 µm x 0,5 µm), à coloration de Gram positive, se présentant sous forme isolée ou en chaînettes. Ce microorganisme, mobile à 20-25 °C mais immobile à 37 °C, est non sporulé et est l'agent responsable de la listériose, une maladie alimentaire rare mais grave. Cette pathologie, caractérisée par un taux de létalité de 20 à 30 %, touche principalement des populations à risque, notamment les personnes âgées, les femmes enceintes et leurs nouveau-nés, ainsi que les individus immunodéprimés (EFSA, 2021). Il est crucial de souligner que 99 % des cas de listériose sont attribués à l'ingestion d'aliments contaminés, constituant ainsi une menace majeure pour la santé publique et générant des pertes économiques significatives (Hoffman et al., 2003). Depuis les années 1980, *L. monocytogenes* a été impliquée dans plusieurs épidémies internationales, notamment liées aux produits de la mer. Entre 2010 et 2017, quatre épidémies associées à la consommation de poissons ou de produits de la pêche ont été rapportées à l'EFSA par l'Allemagne (une épidémie en 2010) et le Danemark (trois épidémies en 2010, 2014 et 2017), totalisant 44 cas (Brauge et al., 2022).

Plus récemment, les agences Food Standards Scotland (FSS) et Food Standards Agency (FSA) ont signalé une épidémie de listériose ayant touché 15 personnes depuis octobre 2020 en Angleterre, en Écosse et au Pays de Galles, dont neuf cas survenus depuis janvier 2022 après consommation de poisson fumé prêt à manger (Whitworth, 2022). *L. monocytogenes* est fréquemment détectée dans les matières premières ainsi que dans les environnements de transformation des industries de saumon et de truite fumés à travers le monde (Holch et al., 2013). Cette bactérie présente une résistance notable à diverses conditions extrêmes, étant capable de se développer dans une large gamme de pH, à faible activité de l'eau et à des températures de réfrigération (Nyhan et al., 2018). Les procédés de transformation employés dans les industries du saumon et de la truite, bien qu'ils induisent un stress bactérien, ne parviennent pas à éliminer les cellules de *L. monocytogenes*. Par exemple, le fumage à froid (généralement effectué à une température inférieure à 30 °C) ne représente pas une étape de d'élimination efficace pour ce pathogène (Cornu et al., 2006). De plus, *L. monocytogenes* est capable de

produire des biofilms, contribuant ainsi à sa persistance dans les environnements de transformation (Carpentier and Cerf, 2011). En outre, plusieurs études ont indiqué que des opérations de nettoyage et de désinfection inadéquates ne parviennent pas à éliminer les cellules de *L. monocytogenes* adhérentes aux surfaces, mais induisent plutôt un état viable mais non cultivable (VNC) (Overney et al., 2017; Brauge et al., 2020a). *L. monocytogenes* est divisée en 13 sérovars basés sur les antigènes somatiques et flagellaires. Depuis 2005, la méthode de référence en France identifie 5 géosérogroupe déterminés par amplification en chaîne par polymérase (PCR) : IIa (sérovars 1/2a et 3a), IIb (sérovars 1/2b et 3b), IIc (sérovars 1/2c et 3c), IVb (sérovars 4b, 4d et 4e) et L (autres sérovars). Parmi eux, les géosérogroupe IVb, IIa et IIb sont les plus fréquemment associés aux cas humains. Le typage moléculaire de référence est réalisé par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) utilisant les enzymes de restriction *AscI* et *ApaI* pour obtenir des pulsotypes (Graves and Swaminathan, 2001). Ce typage est désormais remplacé en France par une analyse MLST (Multi-Locus Sequence Typing) du corps génome (cgMLST). Les combinaisons uniques d'allèles issues de l'analyse MLST déterminent les types de séquences (ST) des souches, qui sont ensuite regroupées en complexes clonaux (CCs). Cette nomenclature est aujourd'hui officiellement utilisée pour décrire le profil génétique des populations de *L. monocytogenes* (Felix et al., 2018; Maury et al., 2019; Kubicová et al., 2021).

Le genre *Vibrio* spp. comprend des bactéries à coloration de Gram négative. Ces bactéries sont présentes naturellement dans les environnements marins et estuariens, et comprennent plusieurs espèces pathogènes pour l'homme, telles que *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, et *Vibrio vulnificus*. Ces bactéries halophiles, de forme bacillaire, sont mobiles, plus ou moins incurvées, et mesurent entre 1,4 et 2,6 µm. Ce sont des anaérobies facultatifs dont la survie est étroitement liée à la température et au pH de leur environnement. Leur prolifération est inhibée à des températures inférieures à 13 °C, bien que cette valeur puisse varier en fonction du pH et de la concentration en sel. En laboratoire, à 37 °C, leur temps de génération est de 8 à 9 minutes, tandis que dans les produits de la mer, il s'allonge à 12 à 18 minutes. Par conséquent, en seulement 2 à 3 heures à température ambiante, la population peut se multiplier par un facteur de 1 000 (Anses, 2019).

Parmi les souches de *V. parahaemolyticus*, seules celles qui possèdent au moins l'une des deux hémolysines, la TDH (Thermostable Direct Hemolysin) ou la TRH (TDH-Related Hemolysin), sont considérées comme pathogènes. Concernant les souches de *V. cholerae* non-O1/non-O139, les principaux facteurs de pathogénicité ne sont pas clairement identifiés, et ces souches ne sont généralement pas considérées comme pathogènes, sauf si elles portent les gènes de la toxine cholérique. Pour *V. vulnificus*, en l'absence de marqueurs distincts pour différencier les souches virulentes des souches avirulentes, toutes les souches sont actuellement considérées comme pathogènes (Anses, 2019). L'incidence des *Vibrio* est particulièrement préoccupante dans les régions du globe où les températures de l'eau sont élevées, notamment dans l'hémisphère sud. Cependant, on observe aujourd'hui une augmentation des taux d'occurrence dans plusieurs pays de l'hémisphère nord, en raison des

changements climatiques et de leurs conséquences, telles que l'acidification, l'augmentation des températures et la salinité (Le Roux et al., 2015; Vezzulli et al., 2015; Trinanes and Martinez-Urtaza, 2021). Aux États-Unis, l'incidence annuelle de la vibriose signalée pour 100 000 habitants a considérablement augmenté, passant de 0,09 en 1996 à 0,28 en 2010 selon COVIS (Cholera and Other Vibrio Information Service), et de 0,15 en 1996 à 0,42 en 2010 selon FoodNet (Foodborne Diseases Active Surveillance Network) (Newton et al., 2012). En France, une augmentation du nombre de cas cliniques d'infections par des *Vibrio* spp. pathogènes a été observée depuis 2016, avec un total de 26 cas en 2017, 60 en 2018, et 69 en 2019, principalement attribués aux espèces *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus* (CNRVC, 2021). Il est important de noter que, entre 1995 et 2015, le nombre moyen de cas d'infection signalés était de seulement 10 par an. Récemment, une étude menée par Amato et al. (2022) a fait un inventaire des cas de vibriose dans les pays bordant les mers du Nord et Baltique au cours de l'année exceptionnellement chaude de 2018. Cette étude a montré qu'à partir de 2014, les taux de vibriose ont considérablement augmenté, atteignant 445 cas en 2018, dont 100 cas liés à *V. cholerae*, 89 cas liés à *V. parahaemolyticus*, et 45 cas liés à *V. vulnificus*. Cette recrudescence du nombre d'épidémies causées par les *Vibrio* entéropathogènes a donc mené les autorités à considérer ces pathogènes comme émergents (EFSA et al., 2024). Comme *L. monocytogenes*, les *Vibrio* entéropathogènes sont capables de former des biofilms (Brauge et al., 2024a). De plus, plusieurs études ont montré que certains stress liés aux procédés de production, tels que des bains de saumure à 8 °C pendant 48 heures, peuvent induire l'état VNC pour les bactéries en biofilm, notamment pour deux pathogènes majeurs de ce genre : *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* (Mougin et al., 2019).

En parallèle des problèmes sanitaires causés par *L. monocytogenes* et les *Vibrio* entéropathogènes, la question de l'antibiorésistance s'impose comme un défi mondial majeur. L'utilisation massive et parfois inappropriée des antibiotiques a conduit à l'émergence de souches résistantes parmi ces agents pathogènes. Cette situation complique le traitement des infections humaines et pose un risque significatif pour la santé publique mondiale. Selon l'Organisation pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), la résistance aux antimicrobiens est définie comme la capacité des microorganismes, en particulier des bactéries, à devenir insensibles aux effets des médicaments antimicrobiens, comme les antibiotiques, qui étaient auparavant efficaces dans le traitement des infections bactériennes. En 2019, environ 1,27 million de décès ont été attribués aux BRA dans le monde, dont environ 73 700 en Europe centrale, en Europe de l'Est et en Asie centrale. Le taux de morbidité dû aux BRA était le plus élevé en Afrique subsaharienne occidentale et le plus bas en Australie et en Nouvelle-Zélande (Murray et al., 2022).

La présence potentielle de ces BRA dans les denrées alimentaires comme les produits aquatiques constitue un danger direct pour la santé du consommateur. Ce danger peut avoir pour conséquence une augmentation du nombre d'hospitalisations, du risque d'infections invasives et du nombre de décès notamment à cause d'une diminution de l'efficacité des traitements aux antimicrobiens voire leur

inefficacité. En lien avec les BRA, il y a plus spécifiquement les GRA qui peuvent être portés par des bactéries pathogènes mais également non pathogènes pour l'Homme, associés à l'ADN des bactériophages ou sous forme d'ADN libre. Ceci constitue un risque indirect pour la santé humaine car ces résistances vont constituer un pool génétique à partir duquel des bactéries vont pouvoir capter ces résistances et potentiellement les transférer à des bactéries pathogènes telles que *L. monocytogenes* ou les *Vibrio* entéropathogènes. Une étude a démontré que des plasmides contenant des GRA et des gènes de virulence pouvaient être transférés entre une souche clinique et une souche alimentaire d'*Enterococcus faecalis* pendant le processus de fermentation de saucisses et de fromages (Cocconcelli et al., 2003). Le transfert des résistances aux antimicrobiens vers les bactéries commensales de l'Homme peut accroître le réservoir de résistances que constitue le microbiote. Ces résistances peuvent ensuite diffuser vers l'environnement.

Face aux défis posés par les contaminations à *L. monocytogenes*, les *Vibrio* entéropathogènes et l'antibiorésistance, une approche globale, allant de la mer à l'assiette, est essentielle pour évaluer et maîtriser les risques associés à la consommation des produits de la pêche et de l'aquaculture. Mes recherches se sont donc inscrites dans cette démarche.

VIII. ACTIVITÉS DE RECHERCHE

Mes activités de recherche sur la sécurité alimentaire des produits de la pêche se concentrent actuellement principalement sur les étapes précoces de la chaîne alimentaire (milieu marin et atelier de transformation) et s'articulent autour de trois grandes thématiques : l'antibiorésistance, les *Vibrio* entéropathogènes, et *L. monocytogenes*. Bien que ces domaines soient distincts, il existe des points de convergence qui enrichissent mes travaux et apportent une vision holistique de ces enjeux de santé publique (Figure 3).

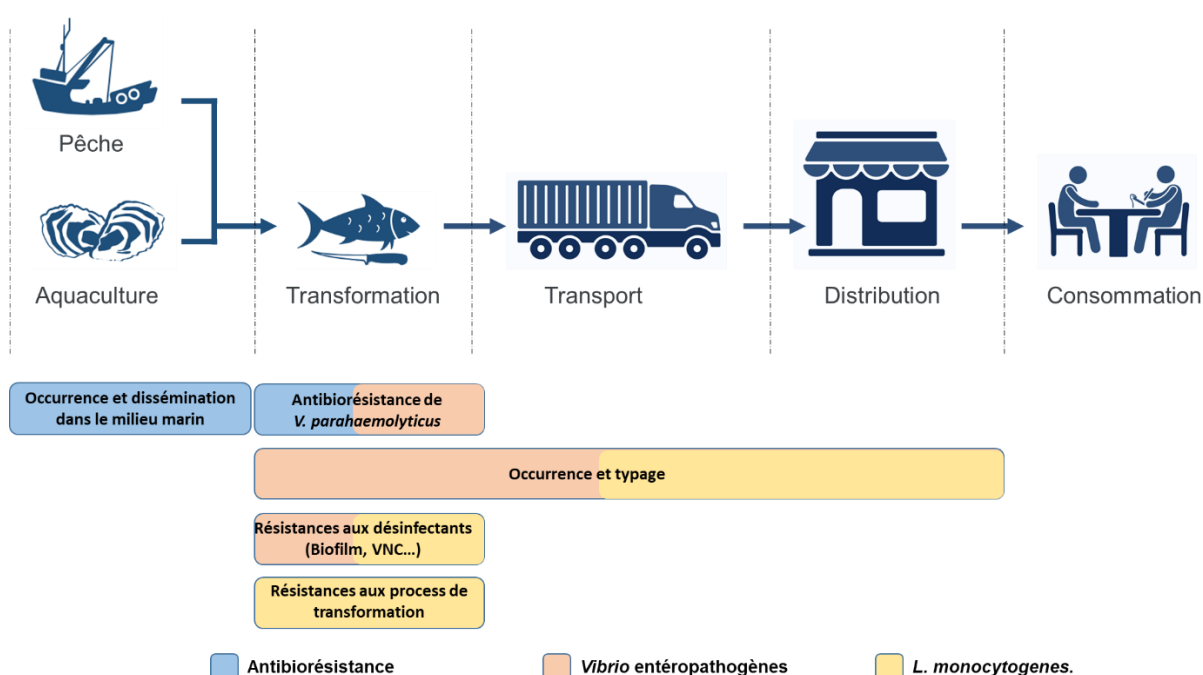


Figure 3 : Agencement des thèmes de recherche selon les étapes de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture.

Concernant l'antibiorésistance, mes recherches se concentrent sur l'acquisition de connaissances sur l'occurrence des bactéries et des gènes de résistance aux antimicrobiens dans le milieu marin, en particulier dans les eaux de surface et les organismes marins. Cette thématique est cruciale, car le milieu marin est souvent considéré comme le récepteur final des effluents contaminés mais à ce jour très peu de données sont disponibles pour ce compartiment. Ces bactéries peuvent ainsi acquérir et propager des résistances, contribuant potentiellement à la contamination initiale des produits destinés à la consommation humaine. Mes travaux se sont donc concentrés sur la résistance dans les écosystèmes marins, notamment en Manche et en mer du Nord, deux zones particulièrement exposées aux pressions anthropiques.

Dans ce contexte, j'ai également élargi mes recherches sur l'antibiorésistance à *V. parahaemolyticus* afin d'évaluer si ce pathogène représente un risque en termes de résistance et s'il peut agir comme un réservoir de GRA, favorisant ainsi leur dissémination dans les écosystèmes marins et les produits de la pêche et de l'aquaculture. En revanche, nous avons choisi de ne pas approfondir cette question pour *L. monocytogenes*, car, selon la littérature actuelle, ce pathogène présente une faible diversité de résistances phénotypiques aux antibiotiques ainsi qu'une diversité limitée de gènes de résistance (Granier et al., 2011). Cela en fait un sujet de moindre priorité dans mes recherches sur l'antibiorésistance.

Je développe ensuite plusieurs axes de recherche transversaux aux thématiques *L. monocytogenes* et *Vibrio* entéropathogènes. Le premier axe porte sur la compréhension de la répartition de ces pathogènes, en termes d'occurrence et de profil génétique, dans les produits de la pêche et de l'aquaculture, avec un accent particulier sur les étapes de transformation. En lien avec cet objectif, un sous-objectif consiste à développer des outils performants pour la détection et le typage de ces pathogènes, tels que la PCR quantitative (qPCR), le séquençage, et la spectroscopie Raman. Un deuxième axe explore l'impact des facteurs externes (environnementaux) et internes (liés aux caractéristiques des produits alimentaires) sur le comportement et la pathogénicité de *L. monocytogenes* et des *Vibrio* entéropathogènes. Enfin, l'un de mes objectifs est d'établir des corrélations entre la résistance aux antimicrobiens de ces bactéries et leurs caractéristiques physiologiques, notamment la formation de biofilms et leur capacité à entrer dans des états viables mais non cultivables (VNC).

VIII.A. Antibiorésistance des produits de la pêche

L'objectif de ces études était d'acquérir des connaissances sur la présence de BRA et des GRA dans le milieu marin, en particulier dans les eaux de surface et les organismes marins, dont certains sont destinés à la consommation humaine. Pour atteindre cet objectif, nous avons adopté une double approche : phénotypique, visant à étudier l'occurrence des BRA, et génotypique, se concentrant sur la détection des GRA. Ce choix méthodologique s'explique par la complexité inhérente à l'évaluation des risques liés à l'antibiorésistance. Lorsque l'on étudie ce phénomène, la question de savoir où placer le curseur du risque fait encore débat dans la communauté scientifique. Certains chercheurs estiment que la seule présence d'un gène de résistance dans l'environnement, qu'il soit exprimé ou non par une bactérie, constitue déjà un risque potentiel. Pour eux, ces gènes, même sans expression active, peuvent être transférés à des bactéries pathogènes, compromettant ainsi la lutte contre les infections. D'autres, en revanche, considèrent que le risque est significatif uniquement lorsque le gène est exprimé dans une bactérie, car c'est cette expression qui menace directement l'efficacité des traitements antibiotiques. Ces divergences mettent en lumière la complexité de la problématique de l'antibiorésistance et illustrent la nécessité de définir des critères plus précis et consensuels pour évaluer les risques.

Nos études se sont concentrées dans la Manche et la mer du Nord, une zone économiquement importante du fait d'une forte activité de pêche, de transports maritimes et d'exploitation de ressources énergétiques (parcs éoliens offshore et plates-formes pétrolières). En raison de ces activités humaines et de la présence de plusieurs pays côtiers avec des politiques d'utilisation des antibiotiques différentes, la Manche et la Mer du Nord sont exposées à de nombreux effluents potentiellement contaminés par des BRA et des GRA (Figure 4).

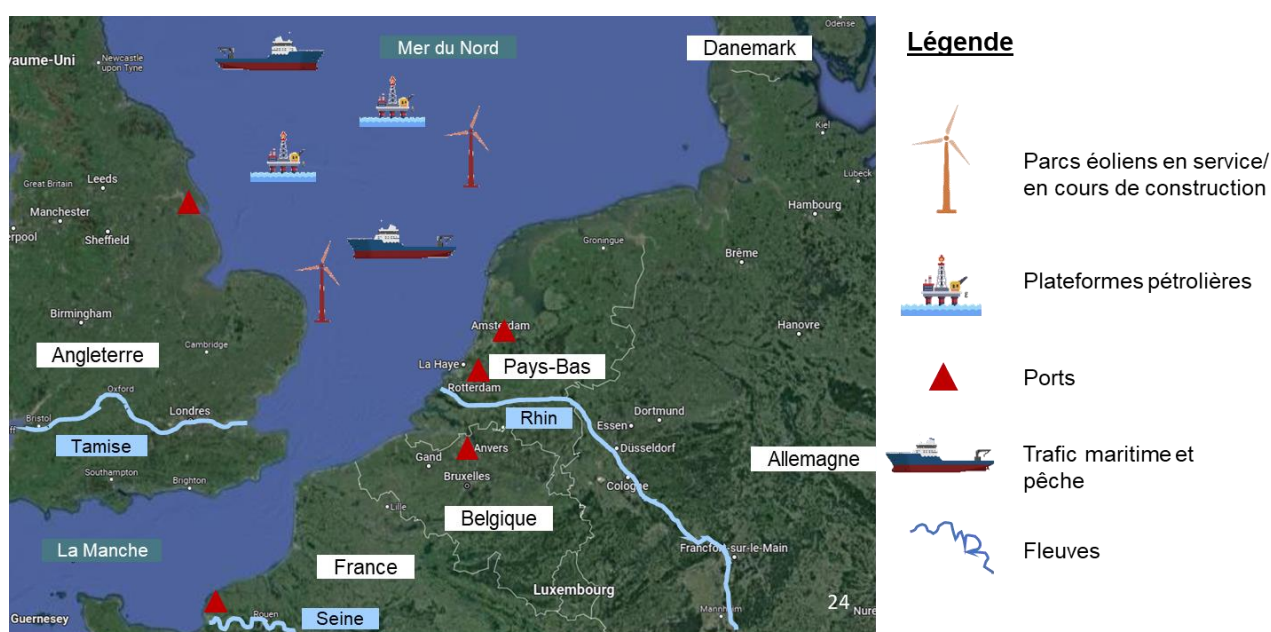


Figure 4 : Activité Anthropique dans la Manche et la Mer du Nord

Les premières études phénotypiques que nous avons menées ont été initiées par la thèse d'Arnaud Briet (2016-2018), à laquelle j'ai contribué de manière mineure (Briet, 2018). Cette recherche visait à étudier la flore bactérienne et sa résistance aux antimicrobiens dans les produits de la pêche et de l'aquaculture ne provenant pas spécifiquement de la Manche et la mer du Nord. L'objectif était d'analyser la flore bactérienne mésophile cultivable isolée de neuf matrices alimentaires destinées à la consommation humaine (mollusques, poissons, crustacés, etc.). Ces bactéries étaient identifiées à l'aide des techniques MALDI-TOF et/ou par séquençage de gènes de ménage, puis leur sensibilité aux antibiotiques critiques pour la santé humaine était évaluée à travers des tests phénotypiques. Au total, 1882 isolats bactériens ont été obtenus, représentant 150 espèces et 57 genres bactériens. Dans un deuxième temps, nous avons étudié la résistance aux antimicrobiens des genres bactériens les plus fréquemment isolés de ces produits, à savoir *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Exiguobacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio* et *Proteus*. Il en est ressorti que 46% des isolats étaient résistants aux antibiotiques et 3% étaient multi-résistants.

Parallèlement à cette thèse, j'ai co-dirigé le projet RESCAPE (2017-2020) avec Graziella Midelet et participé au projet RECOMANCHE (2016-2019). L'objectif principal de ces projets était d'évaluer la prévalence des BRA isolées de matrices alimentaires et environnementales provenant spécifiquement de la Manche et de la Mer du Nord. Un des sous objectifs de ces projets, en complément de la thèse d'Arnaud Briet, était d'identifier de potentielles sources de contamination et des facteurs environnementaux influençant l'occurrence de l'antibiorésistance dans ces régions maritimes.

Ces travaux reprenaient globalement les approches mises en place dans la thèse d'Arnaud Briet, mais avec un échantillonnage ciblé sur des espèces de poissons spécifiques : le merlan (*Merlangius merlangus*) pour le projet RESCAPE et le chinchard (*Trachurus trachurus*) pour le projet RECOMANCHE. Ces espèces étaient ciblées en raison de leur occurrence importante en Manche et mer du Nord, ainsi que leur intérêt économique lié à leur consommation en France. Dans le projet RESCAPE, nous avons également échantillonné des eaux de surface afin d'avoir une idée de l'occurrence de BRA dans l'environnement marin. Une fois l'échantillonnage effectué, nous avons isolé des flores cultivables en ensemençant chaque échantillon sur 16 milieux de culture différents (sélectifs et non sélectifs) à des températures spécifiques selon les flores recherchées (Bridier et al., 2021). Trois colonies ont été prélevées sur chaque milieu, puis identifiées par MALDI-TOF et séquençage de l'ADN 16S. L'identification bactérienne était confirmée en cas de double identification par le MALDI-TOF et le séquençage de l'ADN 16S (Brauge et al., 2021). Une fois les flores identifiées, les résistances phénotypiques ont été mesurées en suivant deux antibiogrammes conçus lors de la thèse d'Arnaud Briet avec l'aide de Sophie Granier (Figure 5 et Figure 6).

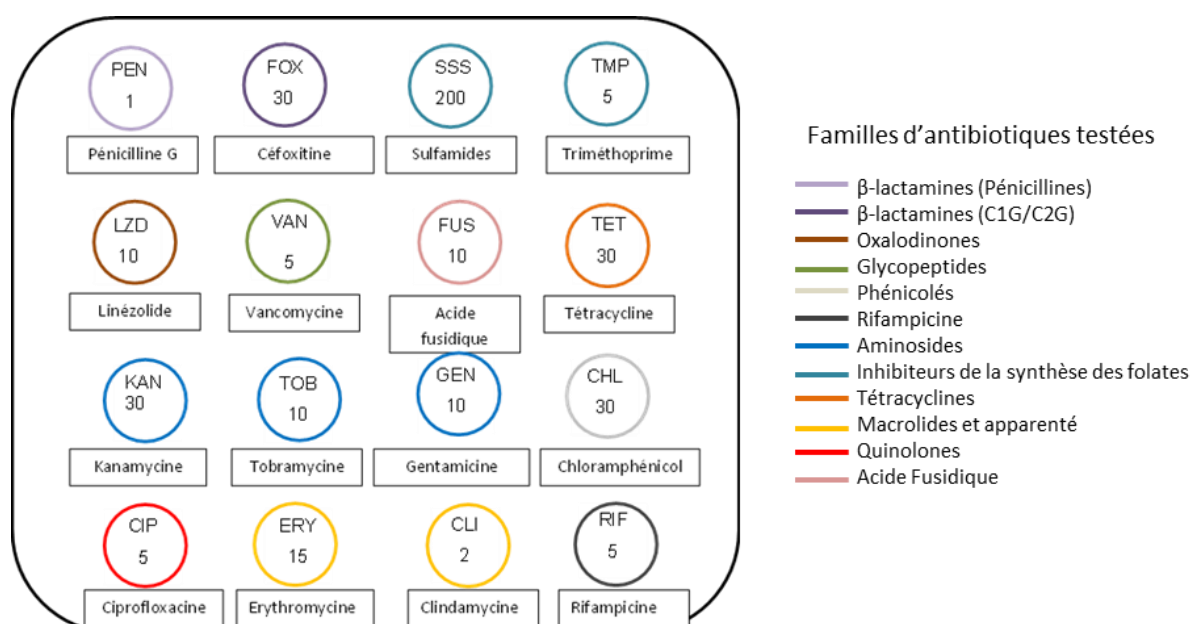


Figure 5 : Antibiogramme des bactéries Gram positif

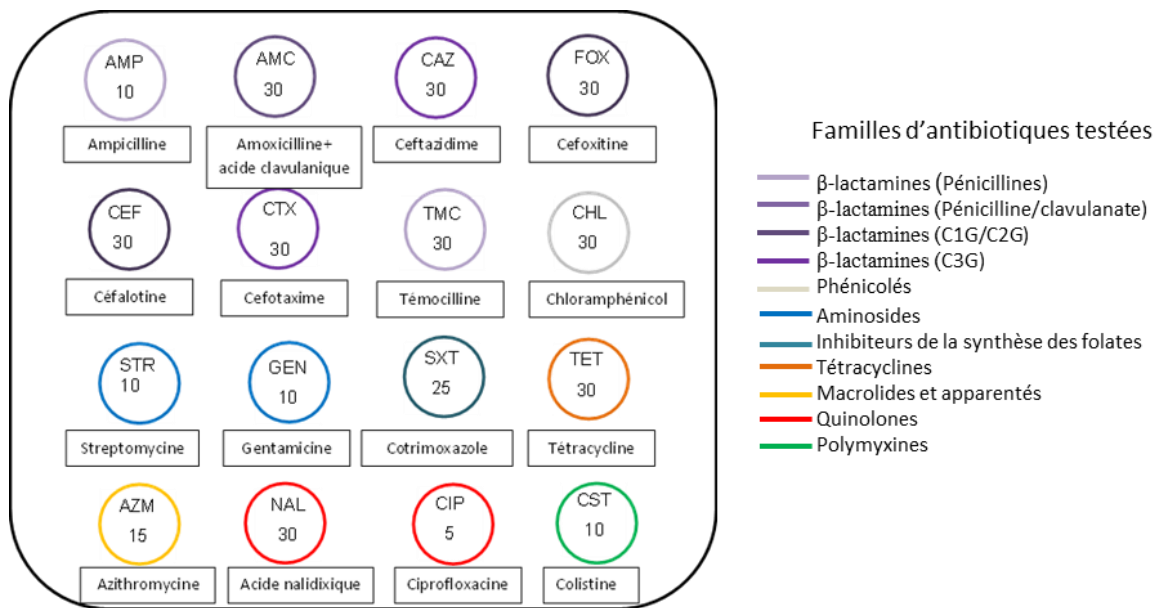


Figure 6 : Antibiogramme des bactéries Gram négatif.

Les projets RESCAPE et RECOMANCHE nous ont permis d'isoler plus de 1000 souches bactériennes et de constater que les flores présentes dans les poissons étaient similaires à celles des eaux de surface. Rien que pour le projet RESCAPE, nous avons identifié 35 espèces bactériennes. Dans l'ensemble des deux projets, les genres bactériens majoritaires isolés étaient *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Psychrobacter*, *Aerococcus* et *Exiguobacterium*. Nous avons ensuite mesuré l'antibiorésistance phénotypique de ces flores cultivables majoritaires. Les souches du genre *Bacillus* n'ont pas été étudiées, car selon les référentiels CLSI et EUCAST, il n'est pas recommandé d'évaluer leur résistance aux antibiotiques par antibiogramme par diffusion, méthode utilisée dans ces travaux. De plus, à l'époque, il n'y avait pas de seuils cliniques et épidémiologiques disponibles dans les référentiels EUCAST et CLSI pour les genres *Psychrobacter*, *Aerococcus* et *Exiguobacterium*. Pour le genre *Pseudomonas*, les seuils cliniques et épidémiologiques n'étaient pas exploitables car définis dans des conditions expérimentales différentes des nôtres (35°C / 16-20 h). Finalement, les résistances phénotypiques des souches du genre *Staphylococcus* ont pu être mesurées en utilisant des seuils définis par les référentiels (12 antibiotiques) ainsi que des seuils définis par Arnaud Briet (2 antibiotiques). Concernant les souches de *Staphylococcus* isolées dans le cadre du projet RESCAPE, cette étude a fait l'objet d'un article scientifique (Brauge et al., 2024b) (Figure 7).

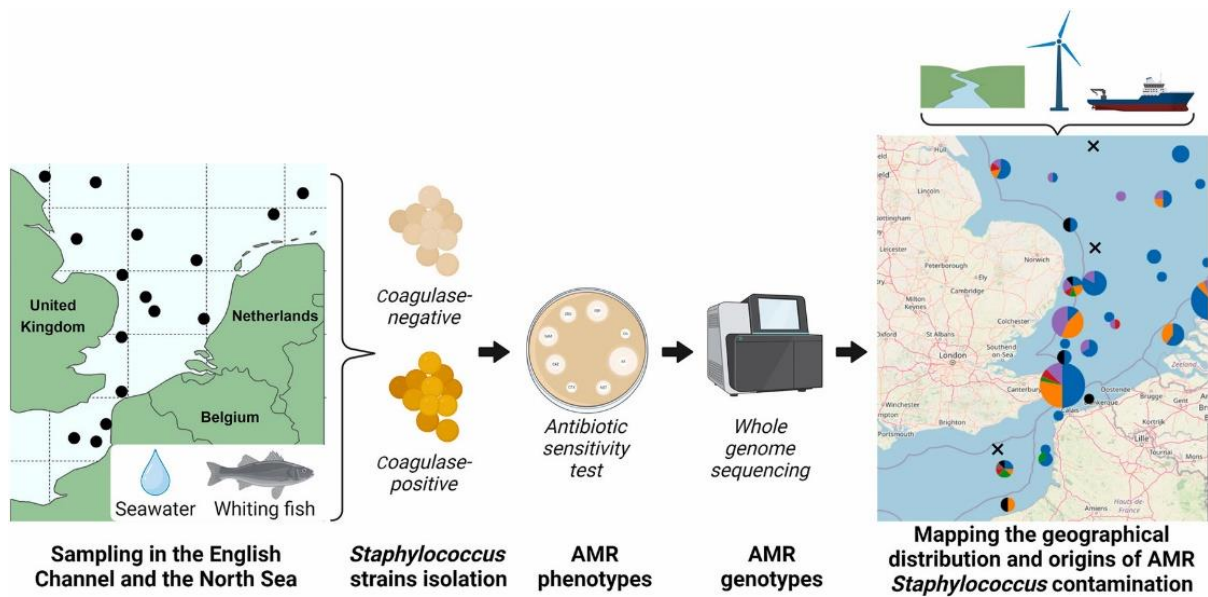


Figure 7 : Résumé graphique de l'étude sur la résistance aux antimicrobiens et la répartition géographique de souches de *Staphylococcus* sp. isolées du merlan (*Merlangius merlangus*) et de l'eau de mer de la Manche et de la mer du Nord (Brauge et al., 2024b).

Dans cette étude publiée nous avons présenté les résultats d'antibiorésistance phénotypique de 238 souches de *Staphylococcus*, dont 12 souches à coagulase-positives (CoPs) et 226 souches à coagulase négative (CoNs). Tous les isolats de CoPs présentaient une résistance à au moins l'un des 16 antibiotiques testés. Parmi les souches CoNs, 52 % ont démontré une résistance à au moins un antibiotique, et 7 isolats ont été classés comme multirésistants. Dans ces souches multirésistantes, nous avons identifié des GRA qui ont confirmé le phénotype de résistance, ainsi que d'autres gènes, tels que ceux conférant une résistance à l'ammonium quaternaire. Une souche CoNS portait 9 gènes de résistance, incluant des gènes de résistance aux antibiotiques et aux biocides. En cartographiant les phénotypes résistants, nous avons démontré que les rivières avaient une influence locale, notamment près des côtes anglaises, sur l'apparition de *Staphylococcus* résistant aux antibiotiques. Nous avons également corrélié l'occurrence de *Staphylococcus* résistant aux antibiotiques avec les paramètres environnementaux mesurés lors de la campagne d'échantillonnage. Cette analyse des paramètres environnementaux marins a révélé que la turbidité et les concentrations de phosphate étaient corrélées positivement à la présence de *Staphylococcus* résistant aux antibiotiques.

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette corrélation, la plus plausible étant la pollution. Une turbidité élevée est souvent le signe d'une pollution, indiquant la présence de matières organiques en décomposition, de déchets, ou de rejets issus d'activités agricoles et industrielles. Ces conditions peuvent résulter du ruissellement des terres agricoles, des rejets d'eaux usées, ou encore de l'érosion côtière. De même, des concentrations élevées de phosphates sont généralement associées à des sources telles que les effluents agricoles (notamment les engrais), les eaux usées domestiques et industrielles, ou les rejets

provenant des systèmes d'aquaculture. La présence importante de phosphates constitue ainsi un indicateur de pollution d'origine anthropique. Ce contexte de pollution pourrait donc non seulement alimenter les zones marines par des *Staphylococcus* résistants aux antibiotiques mais également favoriser la prolifération de ces souches.

Ces premières études phénotypiques ont permis de mettre en évidence :

- 1) La présence de BRA dans les produits de la pêche et de l'aquaculture
- 2) Le rôle potentiel de l'eau de mer dans la dissémination des BRA dans l'environnement marin et la contamination initiale des produits de la pêche.
- 3) L'impact anthropique corrélé à la présence de ces BRA.

Il est important de souligner que parallèlement à ces trois projets portant sur l'antibiorésistance (Thèse Arnaud Briet et projets RESCAPE et RECOMANCHE) aucune espèce bactérienne spécifique n'a été identifiée comme étant commune à tous les animaux aquatiques testés et à leur environnement. Cela suggère que plusieurs bactéries indicatrices de la résistance aux antimicrobiens (RAM) pourraient être nécessaires pour surveiller efficacement la RAM dans les produits de la pêche et de l'aquaculture.

Une limite également que nous avons identifiée lors de nos approches sur l'étude des BRA était que seulement 1 % de la flore bactérienne dans l'environnement est cultivable, il est donc assez complexe de définir des bactéries indicatrices de contamination de l'environnement marin par la résistance aux antimicrobiens similairement à *E. coli* dans le milieu terrestre. Afin de compléter ces approches phénotypiques, visant à étudier l'occurrence des BRA nous avons développé une approche génotypique, se concentrant sur la détection directement des GRA dans les animaux aquatiques et leur environnement. Pour cela, nous avons initié la thèse d'Erwan Bourdonnais (2019-2022) portant sur l'étude des GRA d'intérêt clinique au sein d'un réseau trophique marin (Bourdonnais, 2022). L'objectif de ces travaux était d'étudier l'occurrence de quatre gènes indicateurs de résistance aux antimicrobiens, *tetA*, *blaTEM*, *sul1* et *intI1*, dans un réseau trophique benthique et dans les eaux de surface. D'abord, des outils de biologie moléculaire ont été mis au point pour quantifier les gènes indicateurs de la résistance aux antimicrobiens dans des échantillons représentatifs d'un réseau trophique benthique et des échantillons d'eau. Cela incluait de valider des protocoles de filtration d'eau, d'extraction d'ADN bactérien total à partir d'échantillons de plancton, de mollusques bivalves, de poissons plats et d'eau ainsi que l'optimisation de qPCR ciblant les quatre gènes indicateurs. Ces protocoles ont été appliqués à des échantillons prélevés dans la Manche/mer du Nord représentatifs du réseau trophique benthique et de l'eau de mer (phytoplancton, zooplancton, bivalve et poisson plat) et à des échantillons d'eaux fluviales et côtières. Ces travaux nous ont permis de mettre en évidence une prévalence globale (tous échantillons confondus) des gènes indicateurs de résistance aux antimicrobiens de 81,7 % dans ces échantillons avec une abondance plus élevée dans le fleuve et les zones soumises à l'anthropisation (Figure 8).

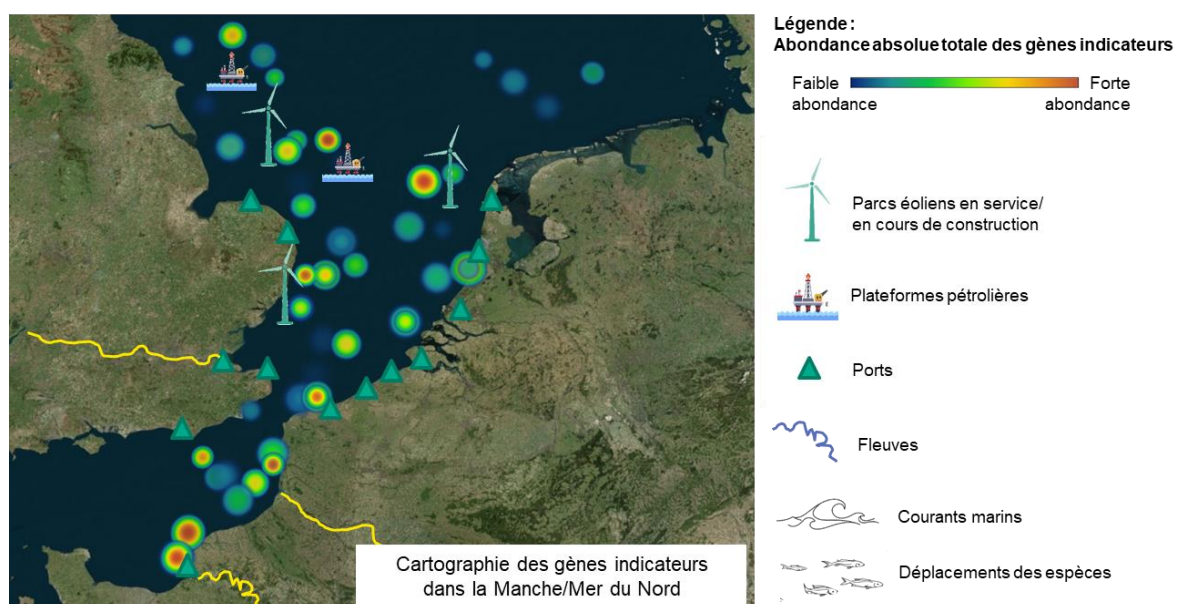


Figure 8 : Abondance cumulée des gènes indicateurs de la résistance aux antimicrobiens *tetA*, *blaTEM*, *sul1* et *intI1* isolés d'eau de surface, de poisson, de plancton et de coquillage (Bourdonnais, 2022).

Une prévalence plus élevée des gènes *sul1* et *intI1* a été observée dans l'ensemble des échantillons par rapport aux gènes *tetA* et *blaTEM*. Une accumulation des gènes indicateurs de résistance aux antimicrobiens a été constatée dans la chair des mollusques, la peau et les branchies des poissons. Certains facteurs environnementaux mesurés dans l'eau de mer comme la turbidité et la saturation en oxygène étaient corrélés à l'abondance des gènes indicateurs de la résistance aux antimicrobiens.

Lors de ces travaux, nous avons également cherché à identifier de nouveaux gènes indicateurs de la RAM dans des échantillons marins en mettant en place une méthode de métagénomique fonctionnelle. Cette méthode a été optimisée sur des souches témoins pures de *V. parahaemolyticus* isolées de produits de la pêche, présentant une résistance phénotypique à plusieurs classes d'antibiotiques et dont le résistome avait déjà été caractérisé par séquençage du génome complet (WGS). L'identification des gènes de résistance par métagénomique fonctionnelle comparée au WGS a permis de retrouver certains GRA initialement identifiés par WGS, tels que *tetA*, *sul2*, *strA* et *intI*. En revanche, la métagénomique fonctionnelle a également permis d'identifier de nouveaux gènes de résistance connus mais non détectés par WGS, comme *tetR* et *merR*. Par ailleurs, nos analyses WGS ont mis en évidence, pour la première fois, la présence du gène *blaOXA-SHE* dans une souche de *V. parahaemolyticus*.

VIII.B. *Vibrio* entéropathogènes

L'objectif de nos travaux sur les *Vibrio* entéropathogènes est double. D'une part, nous avons évalué si *V. parahaemolyticus* présente un risque en termes de résistance aux antimicrobiens et s'il peut agir comme un réservoir de GRA, contribuant ainsi à leur dissémination dans les produits de la pêche et de l'aquaculture. D'autre part, nous avons cherché à déterminer la répartition environnementale des *Vibrio* entéropathogènes (*V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* non-O1/non-O139 et *V. vulnificus*), dans les ateliers de transformation alimentaire. Nous avons également évalué la réponse des biofilms formés par ces pathogènes face à des outils de lutte innovants, tels que des surfaces antibactériennes et des traitements antimicrobiens.

VIII.B.1. L'antibiorésistance de *V. parahaemolyticus*

Pour évaluer si *V. parahaemolyticus* représente un risque en termes de résistance aux antimicrobiens et s'il peut agir comme un réservoir de GRA, nous avons utilisé la collection de souches isolées par le LNR *Vibrio* à partir de produits de la pêche et de l'aquaculture. Les premiers travaux sur le sujet ont été initiés dans le cadre de la thèse d'Arnaud Briet et ont fait l'objet d'une publication à laquelle j'ai contribué (Bourdonnais et al., 2024). Dans cette étude, la résistance aux antibiotiques d'une collection de 304 souches de *V. parahaemolyticus*, isolées entre 2012 et 2016, a été étudiée. Le premier défi était de définir des seuils épidémiologiques expérimentaux, en l'absence de critères disponibles dans les référentiels EUCAST et CLSI pour cette espèce. Une fois ces critères établis, nous avons observé que 19,1 % des isolats bactériens avaient acquis une résistance à au moins une classe d'antibiotiques. Le plus grand nombre de résistances était associé à la tétracycline (14,5 % des souches) et au triméthoprim-sulfaméthoxazole (3,6 %). De plus, sept souches étaient multirésistantes (MR, résistantes à au moins trois classes d'antibiotiques).

Pour compléter notre étude, nous avons séquencé le génome complet des sept souches multirésistantes. Les gènes les plus fréquemment identifiés dans ces souches étaient *aph(3'')-Ib/aph(6)-Id* (résistance aux aminoglycosides), *sul2* (sulfamides), *tet(59)* (tétracycline) et *floR* (chloramphénicol). Les gènes ICE de la famille SXT/R391 et de l'intégron-intégrase de classe 1 ont été détectés par PCR dans trois et une souche multirésistantes de *V. parahaemolyticus*, respectivement. Cette première étude a montré que *V. parahaemolyticus* dans les produits de la mer pouvait agir comme un réservoir de résistances aux antibiotiques, constituant un risque pour la santé du consommateur. Cependant, nous souhaitons approfondir la compréhension moléculaire de cette résistance aux antibiotiques de *V. parahaemolyticus*.

Cela fait l'objet de la thèse d'Antoine Regnier (2022-2025), dont le sujet est "Analyses du MOBILOME, VIRULOME et RESISTOME de *V. parahaemolyticus* isolées de produits de la mer en lien avec des caractéristiques phénotypiques".

VIII.B.2. Les biofilms de *Vibrio* entéropathogènes

Les biofilms des *Vibrio* entéropathogènes représentent une thématique de recherche encore peu explorée, en grande partie en raison de la rareté des études d'occurrence disponibles (Brauge et al., 2024a). Les objectifs de nos études étaient donc dans un premier temps d'évaluer l'occurrence des *Vibrio* entéropathogènes (*V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* non-O1/non-O139 et *V. vulnificus*), dans les ateliers de transformation alimentaire puis d'évaluer la réponse des biofilms formés par ces pathogènes face à des outils de lutte innovants, tels que des surfaces antibactériennes et des traitements antimicrobiens.

Le premier projet sur le sujet que j'ai codirigé avec Graziella Midelet était le projet SILVERPROTECT portant sur l'évaluation de matériaux innovants incluant des ions argent pour garantir une meilleure sécurité sanitaire des produits de l'aquaculture. Ce projet avait pour but d'évaluer l'efficacité de revêtements de surfaces polymères (film, résine, revêtement peinture, plastique caisse, PVC de lanières) incluant comme agents antibactériens les ions argent à empêcher la formation de biofilms des *Vibrio* entéropathogènes en complément des opérations de nettoyage et désinfection. En laboratoire, nous avons montré que les *V. parahaemolyticus* adhéraient de la même manière sur les résine, revêtement peinture, plastique caisse et PVC de lanières conditionnés ou non avec du jus de saumon ou crevettes sauf pour les films (hydrophobe) qui semblaient limiter son adhésion en absence de conditionnement avec du jus de crevettes. Aucun effet antibactérien des ions argent en présence ou non de biocides n'a été observé sur *V. parahaemolyticus* à part un effet synergique des ions argent qui a été montré avec les biocides sur le film conditionné avec du jus de crevette. En parallèle de notre étude en laboratoire, des matériaux (film, résine, revêtement peinture, plastique caisse, PVC de lanières) avec et sans ions argent ont été installés dans des ateliers de transformation pour une campagne de prélèvements réalisée sur une année. Suite à la campagne, 736 échantillons ont été analysés avec des prévalences de 0% de *V. parahaemolyticus*/ *V. cholerae*/ *V. vulnificus* que ce soit sur les matériaux avec ou sans ions argent.

Cette étude a montré :

- 1) L'absence de contamination surfacique par *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* et *V. vulnificus* dans quatre ateliers de transformation de produits de la pêche et de l'aquaculture.
- 2) L'inefficacité des surfaces polymères testées (film, résine, revêtement de peinture, plastique pour caisses, PVC pour lanières), même lorsqu'elles contenaient des agents antibactériens tels que des ions argent, sur la formation des biofilms de *V. parahaemolyticus*.

Suite à cette étude, et toujours dans l'idée d'évaluer la résistance des biofilms des *Vibrio* entéropathogènes face à la désinfection j'ai coordonné le projet SEASAFEFOOD. Ce projet explorait l'utilisation de deux protéines naturelles, l'ovotransferrine et la phosphodiesterase, pour maîtriser les contaminations de surface à *Vibrio* entéropathogènes tout au long de la chaîne de production des produits de la mer. Pour mener à bien ce projet et favoriser les partenariats internationaux, j'ai programmé une mission à l'étranger de six mois dans des instituts de renommée internationale : trois mois au ARC Training Centre for Biofilm Research and Innovation de la Flinders University à Adelaide (Australie), et trois mois au Kentville Research and Development Centre du centre Agriculture and Agri-Food Canada. De plus, une équipe du département des sciences marines de l'université de Göteborg en Suède a été intégrée en tant que partenaire. Cette étude n'a pas permis de montrer l'efficacité de l'ovotransferrine et de la phosphodiesterase contre les biofilms de *V. parahaemolyticus* dans nos conditions expérimentales. En revanche, nos recherches ont mis en évidence que les résidus de chlorure de benzalkonium, un désinfectant couramment employé tout au long de la chaîne alimentaire des produits de la mer, non seulement n'éliminent pas les biofilms de *Vibrio* entéropathogènes, mais favorisent leur prolifération en stimulant la production de biofilms via la surexpression de *c-di-GMP* (Mougin et al., 2024). Cette étude a également été l'occasion de rédiger une revue sur les différentes voies de contamination alimentaire par les *Vibrio* pathogènes pour l'homme (Brauge et al., 2024a).

VIII.C. *Listeria monocytogenes*

La thématique de recherche sur *L. monocytogenes* est la plus approfondie dans mon travail, car j'y travaille depuis mon arrivée au laboratoire en tant que stagiaire de Master 2. L'un des premiers objectifs développés dans ce domaine a été l'étude de l'occurrence alimentaire et environnementale de ce pathogène, ainsi que le typage des souches pour comprendre sa répartition dans les produits de la pêche et de l'aquaculture. Dans cette optique, nous avons mis au point des méthodes de détection et de quantification de *L. monocytogenes*. Nous avons d'abord évalué des outils de prélèvement de surface optimaux, puis développé des outils de détection innovants applicables à la fois aux prélèvements de surface et aux matrices alimentaires. Ces outils ont ensuite été utilisés pour réaliser nos études d'occurrence mais également pour répondre à un second objectif : évaluer l'impact du processus de transformation du saumon fumé sur la viabilité de *L. monocytogenes* et analyser l'effet des désinfectants sur la viabilité de *L. monocytogenes* contenue dans des biofilms matures.

VIII.C.1. Performance des prélèvements de surface

L'objectif principal de ces études était de sélectionner un outil de prélèvement de surface optimal pour la détection de *L. monocytogenes* lors de nos études d'occurrence. L'efficacité des prélèvements de surface représente également une préoccupation majeure pour les professionnels de la filière. Lors de nos échanges avec ces acteurs, ainsi qu'avec des organisations telles que la Confédération des Industries de Traitement des Produits des Pêches Maritimes et de l'Aquaculture (CITPPM), ce sujet a été fréquemment abordé. Ces préoccupations se sont accentuées lorsque le LRUE a également soulevé des questions concernant l'efficacité des prélèvements de surface pour la recherche de *L. monocytogenes*.

Pour répondre à cet objectif, nous avons comparé la performance des méthodes de prélèvement couramment employés par les professionnels sur des biofilms matures de *L. monocytogenes*. Le projet VINOCUP, dirigé par Graziella Midelet, a été un cadre clé pour ces recherches, et j'ai contribué aux aspects techniques ainsi qu'à la rédaction du rapport final et des valorisations. Ce projet portait sur l'« Etude des bactéries viables non cultivables (VNC) sur les surfaces par l'intermédiaire de différentes techniques de microbiologie, de biochimie et de biologie moléculaire dans la filière des produits de la pêche ». Un des objectifs de cette étude était d'évaluer la performance des méthodes de prélèvement (boîtes contact, éponges et écouvillons) pour décrocher des populations de biofilms de *L. monocytogenes*, en tenant compte des conditions spécifiques des environnements de transformation des produits de la mer. Différents matériaux (acier inoxydable, chlorure de polyvinyle, polyuréthane) ont été conditionnés avec des filtrats de poisson (saumon fumé, cabillaud) avant d'ajouter des suspensions de *L. monocytogenes*, seules ou en mélange avec des souches de *Pseudomonas fluorescens* ou *Carnobacterium spp*. Les biofilms de 48 heures ont ensuite été prélevés avec différentes méthodes. Les populations bactériennes cultivables ont été dénombrées sur agar, tandis que les populations totales et viables de *L. monocytogenes* ont été quantifiées par qPCR et PMAqPCR, respectivement (technique dont le développement sera présenté dans le point suivant).

Nos résultats ont montré que la quantité de *L. monocytogenes* dans les biofilms était affectée uniquement par la nature du conditionnement, avec une adhérence bactérienne plus faible pour le cabillaud comparé au saumon fumé. En termes de population totale, l'écouvillon affichait les valeurs les plus basses par rapport aux éponges et aux boîtes de contact. Les observations microscopiques ont révélé que les bactéries étaient piégées dans l'écouvillon. Le décrochage des populations bactériennes cultivables n'était pas significativement différent entre les trois méthodes de prélèvement. En revanche, les populations VNC n'étaient détachées que par deux des trois méthodes (boîtes contact, éponges), tandis que pour les populations mortes, les boîtes contact et les écouvillons étaient efficaces. L'ensemble de ces travaux ont été valorisés par une publication (Faille et al., 2020).

En 2017, nous avons analysé les résultats d'une enquête européenne menée en 2010 par Brigitte Carpentier du LRUE, révélant que, outre les boîtes contact et les éponges, les lingettes étaient également

largement utilisées. Nous avons donc mené une seconde étude sur l'efficacité des méthodes de prélèvement (boîte contact, éponges, lingettes et écouvillons) en collaboration avec huit partenaires du RMT, publiée en 2020 (Brauge et al., 2020b). Sur un total de 137 questionnaires provenant de 14 États membres de l'Union européenne, les résultats de l'enquête ont montré que les professionnels préféraient les méthodes d'échantillonnage par friction avec des lingettes, des écouvillons et des éponges aux méthodes d'échantillonnage par contact. Nous avons ensuite comparé l'efficacité de ces trois méthodes d'échantillonnage par frottement et par boîtes contact, comme recommandé dans la norme EN ISO 18593, pour le décrochage de *L. monocytogenes* dans des biofilms mono-espèces. Cette étude n'a montré aucune différence significative entre l'efficacité des quatre méthodes d'échantillonnage pour détacher la population bactérienne viable cultivable (VC) de ces biofilms mono-espèces.

En conclusion, ces études ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative d'efficacité entre les outils de prélèvement, tels que les boîtes de contact, les éponges, les lingettes et les écouvillons, pour le décrochage des biofilms matures de *L. monocytogenes*. L'ensemble de ces études a permis, en 2018, de réviser la norme ISO 18593 Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthodes horizontales pour les prélèvements de surface, à laquelle nous avons participé (ISO, 2018). Ces données ont également permis de réviser le Guide technique LRUE sur l'échantillonnage de la zone de transformation des aliments et les équipements pour la détection de *L. monocytogenes* (Midelet et al., 2022).

En 2023, j'ai coordonné une nouvelle étude avec le projet Ready to Safe sur l'efficacité des méthodes rapides prêtes à l'emploi pour la recherche de *L. monocytogenes*, c'est-à-dire les méthodes combinant prélèvement et analyse directe de l'échantillon de surface. Un essai interlaboratoire (EIL) a été organisé sur trois méthodes principalement utilisées dans l'industrie (3M™ Petrifilm™ *Listeria*, InSite™ *Listeria* spp et SwabSURE *Listeria*). Les résultats du projet sont en cours d'analyse.

VIII.C.2. Mise au point d'outils de détection et de quantification innovants

L'objectif principal de ces études était de développer des outils de détection et de quantification innovants pour *L. monocytogenes*. Le développement de ces outils était une étape préalable nécessaire pour mettre en place des études sur l'occurrence de ce pathogène dans la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture, mais également sur l'évaluation de l'impact des facteurs stressants, tels que les procédures de nettoyage et de désinfection et les process alimentaires, sur la viabilité de ce pathogène.

Les outils de microbiologie classique présentent des limites en termes de détection et de quantification des microorganismes. Ils sont coûteux, chronophages et ne prennent pas en compte l'état VNC. Dans cet état, les bactéries ralentissent leur métabolisme et ne se divisent plus, mais elles peuvent rétablir leurs cultivabilité et redevenir pathogènes dans des conditions favorables de croissance. Du fait qu'elles ne se divisent plus, les bactéries VNC sont indétectables par les techniques microbiologiques classiques, telles que celles recommandées par les normes ISO 11290:2017 qui préconisent des milieux sélectifs pour détecter *L. monocytogenes*. Cela a rendu nécessaire le développement de nouvelles techniques, plus rapides et permettant de détecter et d'étudier l'état VNC. Dans ce cadre, des outils moléculaires basés sur la qPCR ont été développés, offrant plusieurs avantages significatifs. La qPCR permet une détection et une quantification plus rapides (en moyenne 1h30) et plus précises des microorganismes. Associée à un prétraitement au propidium monoazide (PMAqPCR), il est possible d'identifier et de quantifier les populations VNC dans un échantillon. En 2011, à l'occasion de mon stage de Master 2, j'ai développé une qPCR et une PMAqPCR ciblant *L. monocytogenes*.

Cependant, nous avons rapidement été confrontés à une limite de la qPCR et de la PMAqPCR liée à un seuil de sensibilité trop élevé (de l'ordre de 1 000 à 10 000 cellules/ml ou /g). Un challenge était donc de développer une nouvelle technique innovante, plus sensible, tout aussi rapide et spécifique. Dans ce contexte, nous avons entrepris, en collaboration avec Pierre Marcoux, chercheur au CEA Leti, et le CEA Tech, de développer une nouvelle méthode basée sur la microspectroscopie Raman associée au marquage isotopique par le deutérium (DIP). L'objectif était d'utiliser cette technique pour suivre l'activité métabolique des bactéries au niveau de la cellule unique, permettant ainsi de déterminer leur état de viabilité par quantification de l'intégration du deutérium. Le principe du DIP-Raman repose sur l'analyse du métabolisme cellulaire pour mesurer la viabilité bactérienne (Figure 9). Concrètement, il s'agit d'incorporer du deutérium (D_2O), un isotope stable, dans les bactéries. Les bactéries métaboliquement actives intègrent ce deutérium, ce qui induit des changements caractéristiques dans leurs signatures spectrales. La spectroscopie Raman, méthode à la fois non destructive et hautement spécifique, permet de détecter ces modifications au niveau moléculaire. En comparant les spectres Raman des bactéries avant et après l'incorporation du deutérium, il devient possible de déterminer si les bactéries sont viables, c'est-à-dire si elles sont actives sur le plan métabolique. Cette technique offre une évaluation rapide et précise de l'état de viabilité bactérienne, tout en évitant les méthodes de culture classiques, qui sont souvent plus longues et moins spécifiques.

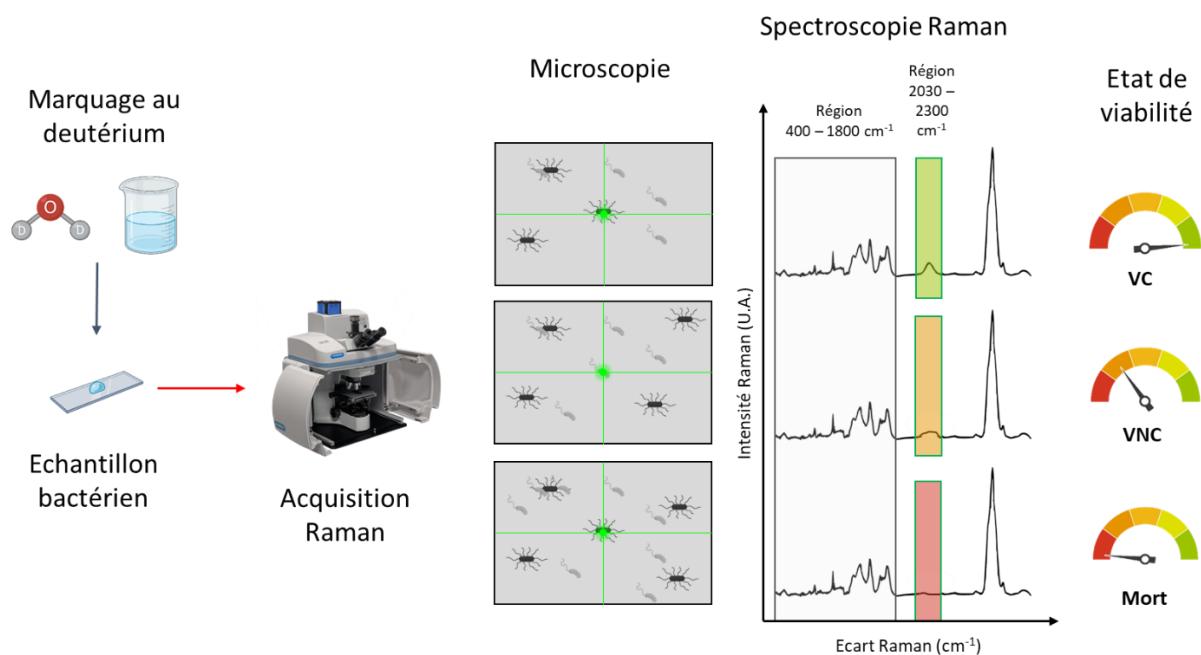


Figure 9 : Principe du DIP-Raman pour la mesure du métabolisme bactérien et la détermination de l'état de viabilité bactérienne (Source : Thèse Darius Abedini)

Les premiers travaux réalisés par notre doctorant Sylvain Trigueros (2019-2022) ont porté sur les espèces *L. innocua* et *L. monocytogenes* (Trigueros, 2022). Ces recherches ont permis d'optimiser les conditions de marquage au D_2O pour les cellules de *L. innocua*, en trouvant un équilibre optimal qui permet une intégration efficace du D_2O sans altérer la viabilité bactérienne. Le protocole optimal identifié implique une exposition des cellules à une concentration de 75 % de D_2O , suivie d'une incubation à 37°C pendant 1h30. Nous avons ensuite mesuré le métabolisme des cellules viables, VNC, et mortes en utilisant la technique DIP-Raman, à partir de suspensions de *L. monocytogenes* et *L. innocua* soumises à divers stress, notamment des désinfectants, du sel et des variations de température. Les résultats ont révélé que les facteurs salins et les variations de température n'avaient pas d'impact significatif sur la viabilité des cellules des deux espèces. En revanche, l'exposition aux désinfectants a induit des états cellulaires de mort et de VNC (Trigueros et al., 2023).

Suite aux travaux de Sylvain Trigueros et à l'installation d'un nouveau microspectromètre Raman XploRA Plus, deux nouveaux projets ont été initiés : le projet Vibrato (2023-2026), portant sur la « détermination de l'état de viabilité de bactéries soumises à un stress environnemental (*L. monocytogenes*, *Bacillus* spp., *V. parahaemolyticus*, *Escherichia coli*) par un système innovant de microspectroscopie Raman et marquage isotopique », et la thèse DATASET (2024-2026) menée par Darius Abedini, portant sur l'« Identification de bactéries pathogènes et détermination de leur état de viabilité par microspectroscopie Raman couplée au marquage isotopique ». Ces deux projets sont actuellement en cours.

En conclusion, le développement d'outils de détection et de quantification innovants pour *L. monocytogenes*, nous a permis de développer une méthode qPCR et une PMA-qPCR spécifiques pour la détection de *L. monocytogenes*, capable de déterminer la présence de populations mortes et VNC de ce pathogène. Cet outil a été opérationnel et utilisé dans de nombreuses études d'occurrence et pour examiner l'impact des facteurs externes (environnementaux) et internes (caractéristiques des produits) sur la viabilité de *L. monocytogenes* (voir section ci-dessous). Cependant, les limites en terme de sensibilité de la qPCR et de la PMA-qPCR nous ont conduit au développement d'une nouvelle technique basée sur le RAMAN-DIP, qui est actuellement en cours de développement.

VIII.C.3. Occurrence de *L. monocytogenes* VC, VNC et morte en atelier de transformation

Après avoir montré l'efficacité des outils de prélèvement de surface pour l'isolement de *L. monocytogenes* et mis au point nos techniques moléculaires (qPCR et PMAqPCR) pour déterminer les différents états de viabilité de ce pathogène, nous avons réalisé plusieurs études d'occurrence de *L. monocytogenes* au sein des ateliers de transformation. Ces études d'occurrence présentaient de multiples intérêts : elles aidaient non seulement les professionnels de la filière à surveiller leur environnement de production, mais aussi à identifier des points critiques dans leurs ateliers et à évaluer l'efficacité de leurs procédures de nettoyage et de désinfection vis-à-vis de l'élimination de *L. monocytogenes*. En contrepartie, ces études nous permettaient de réaliser des études d'occurrence alimentaire et surfacique de *L. monocytogenes*, ainsi que de collecter des souches de terrain essentielles à nos projets et de pouvoir fournir des données pour l'évaluation du risque.

Lors de nos campagnes d'échantillonnage, nous évaluons la présence de *L. monocytogenes* dans les prélèvements de surface et/ou alimentaires en nous appuyant sur les résultats d'analyses microbiologiques conventionnelles. Ces analyses pouvaient être complétées par l'utilisation de nos approches moléculaires (qPCR et PMAqPCR), présentées précédemment, selon l'objectif du projet. De cette manière, le niveau de prévalence était affiné en prenant également en compte les formes viables non cultivables de *L. monocytogenes*, ainsi que les cellules mortes. Au total, 18 ateliers de transformations ont été échantillonnés (parfois les mêmes) entre 2015 (projet LIVIFLO) et 2023 (Projet SILVERPROTECT) (Tableau 1). Les prévalences globales étaient de 2,58% pour les populations VC, 17,79% pour les populations viables (VC et VNC) et 35,13% pour les populations totales (viables et mortes).

Tableau 1 : Prévalence globale (aliment et surface) de *L. monocytogenes* dans 18 entreprises de transformation des produits de la pêche et de l'aquaculture entre 2015 et 2023 (Projets LIVIFLO, CUSTAPHY, STRESSBACFISH et SILVERPROTECT)

Méthode	Formes détectées	Nombre échantillons positifs	Nombre échantillons analysés	Prévalence (%)
Méthode culturale	Viables cultivables	40	1549	2,58
PMAqPCR seule	Viables, cultivables ou non	137	797	17,19
qPCR seule	Toutes	280	797	35,13

En conclusion, ces études ont révélé une occurrence de populations VC de *L. monocytogenes* de 2,58 %, ce qui est cohérent avec les données de la littérature (Jami et al., 2014). Cependant, l'utilisation de la PMAqPCR et de la qPCR a permis de montrer, pour la première fois, la présence importante de populations dans un état potentiellement VNC et mortes dans les prélèvements, un phénomène qui n'avait jamais été mis en évidence auparavant. La présence des populations VNC représente un risque pour le consommateur en cas de revivification des bactéries (Cappelier et al., 2007). Ces résultats ont fait l'objet d'une publication dans le cadre du projet LIVIFLO (Brauge et al., 2020a).

VIII.C.1. Typage des souches de *L. monocytogenes* de la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture

L'objectif de ces études étaient d'évaluer la diversité génétique de souches de *L. monocytogenes* circulant dans la filière des produits de la pêche principalement sur la base des CCs. Des recherches antérieures ont mis en évidence des spécificités phénotypiques en fonction des CCs de *L. monocytogenes*. Par exemple, certains CC (comme CC1, CC2, CC4 et CC6) ont été associés de manière préférentielle aux cas cliniques de listériose humaine (Maury et al., 2016). Fritsch et al. (2018) ont également fourni une vue d'ensemble globale sur la virulence des souches en fonction de leur distribution dans les produits alimentaires et des cas cliniques humains. De même, Stoller et al. (2019) et Maury et al. (2016) ont montré que CC9 et CC121 étaient plus spécifiques au secteur alimentaire et avaient une tendance accrue à former des biofilms, bien que ces résultats puissent varier selon les essais de biofilm effectués (Lee et al., 2019). Au vu de l'importance du saumon et de la truite dans l'alimentation française et du peu de données disponibles sur la diversité génétique des souches isolées de la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture, nous avons caractérisé 698 isolats issus de notre

souchothèque, recueillis dans la filière française du saumon et de la truite entre 2006 et 2017 (Projet TYPLm, 2022). Pour ce faire, nous avons utilisé des outils innovants tels que la cartographie des clusters MLST/PFGE et la PCR en temps réel à haut débit GENOLISTERIA pour laquelle nous avons participé au développement et qui a été publiée (Felix et al., 2023). Ces techniques nous ont permis d'identifier les CCs de chaque souche et d'évaluer leurs caractéristiques, notamment la virulence, la résistance et la persistance. Lors de cette étude, nous avons identifié treize CC et un type de séquence (ST) avec des distributions variables dans les échantillons de saumon et de truite (nourriture, environnement) (Figure 10). Les trois CC les plus répandus étaient CC121, CC26 et CC204. Ces résultats sont cohérents avec les études de Lee et al. (2019) et Stoller et al. (2019), qui ont décrit le CC26 comme ayant une capacité élevée à former des biofilms, tandis que le CC204 a été identifié comme prépondérant dans l'industrie alimentaire et porteur de gènes de résistance aux biocides. Concernant le CC121, il est bien établi que ce CC est fortement dominant dans les produits de la pêche en France (Felix et al., 2018; Maury et al., 2019), avec des caractéristiques de persistance, de production de biofilms et une faible virulence (Holch et al., 2013; Maury et al., 2016; Nielsen et al., 2017; Fritsch et al., 2018). Des souches de ST191 et CC54 ont été détectées pour la première fois dans ces secteurs, tandis que moins de 0,6 % des isolats appartenaient aux hypervirulents CC1, CC6 et CC20. Aucun CC n'était exclusivement associé au secteur du saumon. Ce projet nous a permis d'évaluer la diversité des populations de CC de *L. monocytogenes* dans les industries du saumon et de la truite.

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication (Brauge et al., 2023)

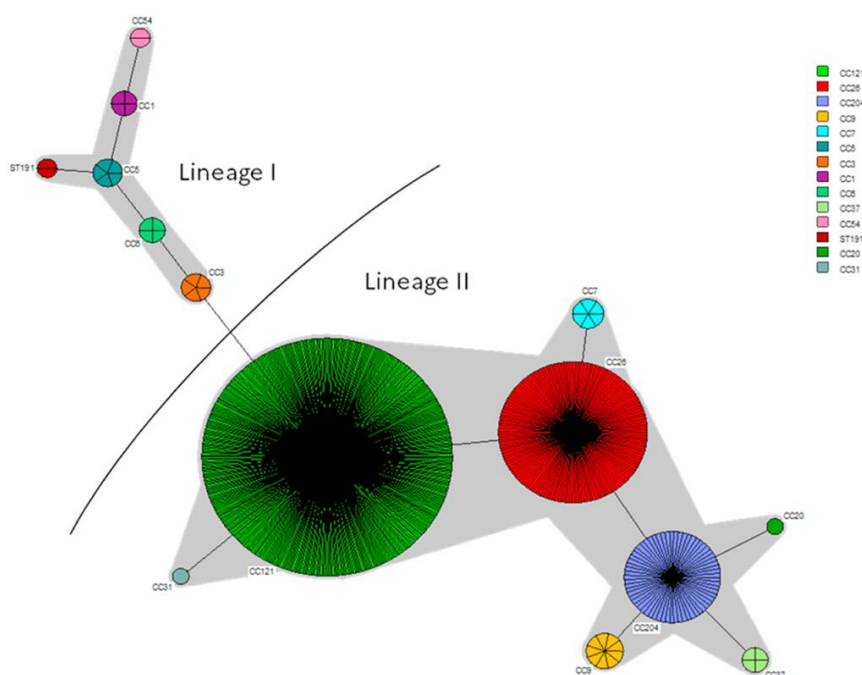


Figure 10 : Arbre de regroupement minimum des données MLST pour 698 isolats de *L. monocytogenes*. Chaque cercle représente un complexe clonal et chaque segment de diagramme en camembert correspond à un isolat individuel. La

taille du cercle est proportionnelle au nombre d'isolats ayant ce CC. Les zones grises regroupent les isolats de la même lignée. Les lignes de connexion indiquent les relations phylogénétiques en termes de nombre de différences allélique (Brauge et al., 2023).

Toujours en collaboration avec la CITPPM, nous avons poursuivi nos travaux avec le projet INVLM (2023), faisant suite au projet TYPLM. L'objectif de ce projet était de transférer la méthode PCR en temps réel à haut débit GENOLISTERIA au laboratoire, et d'identifier les CCs des souches de *L. monocytogenes* isolées entre 2016 et 2023 au laboratoire. Bien que cette étude n'ait pas encore été publiée, les résultats préliminaires révèlent une évolution notable des tendances des CCs, avec l'émergence de CCs hypervirulents tels que le CC8 dans les produits de la pêche. Ce dernier a été impliqué dans une épidémie survenue en 2017 au Danemark, causée par *L. monocytogenes* ST8 (CC8) et faisait partie d'une épidémie plus vaste touchant 12 cas humains au Danemark, en France et en Allemagne, tous liés à la consommation de saumon fumé produit en Pologne (EFSA, 2019). Cela pourrait indiquer l'émergence de ce profil dans la filière. Par ailleurs, une grande diversité de CC a été observée, variant selon l'entreprise échantillonnée.

VIII.C.2. Impact du process de transformation du saumon fumé sur la viabilité et la croissance de *L. monocytogenes*

Un des objectifs de nos recherches a été également d'évaluer l'impact du processus de transformation du saumon fumé sur *L. monocytogenes*, en nous intéressant particulièrement à l'induction de l'état VNC. Dans ce cadre nous avons participé au projet LIVIFLO (2015-2017). Pour établir un état des lieux sur ce sujet, nous avons dans un premier temps réalisé une campagne d'échantillonnage au cours de laquelle nous avons quantifié les populations VC, viables totales (VC et VNC), et totales (viables et mortes) de *L. monocytogenes* présentes dans le saumon fumé, juste après les étapes de salage et de fumage (Tableau 2).

Cette étude a révélé qu'après le salage et le fumage, les formes de *L. monocytogenes* quantifiées étaient principalement VNC et mortes, le fumage semblant être plus létal pour *L. monocytogenes* comparé au salage. Cela paraît cohérent puisque le processus de fumage implique l'exposition à des composés chimiques issus de la fumée, tels que les phénols, les acides organiques et les composés carbonylés. Ces composés possèdent des propriétés antimicrobiennes qui peuvent stresser les cellules de *L. monocytogenes* et ainsi induire l'état VNC. De plus, les conditions de fumage, comme le stress thermique modéré et l'osmolarité accrue due à l'ajout de sel, créent un environnement hostile qui peut entraîner la mort des cellules les plus sensibles (Leroi et al., 1998). À la lumière de ces observations, un des objectifs du projet LIVIFLO était d'évaluer l'évolution des populations de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé tout au long de son procédé de fabrication et de sa durée de vie. Pour ce faire, des saumons fumés présentant des caractéristiques physico-chimiques similaires à celles observées lors de

précédents projets ont été préparés. Ainsi des saumons crus ont été transformés en saumon fumé dans une halle technologique confinée P3, permettant la manipulation de microorganismes pathogènes dans un environnement contrôlé, proche des conditions réelles de production. Les résultats ont montré que le processus de transformation, en particulier le séchage-fumage, réduisait significativement la population bactérienne cultivable et pourrait éliminer une faible contamination initiale par *L. monocytogenes* (Figure 11). Cette discordance peut vraisemblablement être attribuée aux conditions expérimentales en halle technologique, qui, bien qu'elles se rapprochent des conditions réelles rencontrées en atelier de transformation, ne reflètent pas toujours fidèlement l'ensemble des variables environnementales rencontrées en atelier de transformation.

Tableau 2 : Prévalence de *L. monocytogenes* dans du saumon issu de 4 entreprises de transformation après salage et après fumage (Projet LIVIFLO)

Après salage				
Méthodes	Formes détectées	Nombre échantillons positifs	Nombre échantillons analysés	Prévalence (%)
Microbiologie	Viables cultivables	0	32	0
PMAqPCR	Viables (VC + VNC)	8	32	25
qPCR	Viables et mortes	18	32	58,25

Après fumage				
Méthodes	Formes détectées	Nombre échantillons positifs	Nombre échantillons analysés	Prévalence (%)
Microbiologie	Viables cultivables	0	31	0
PMAqPCR	Viables (VC + VNC)	3	31	9,68
qPCR	Viables et mortes	16	31	51,61

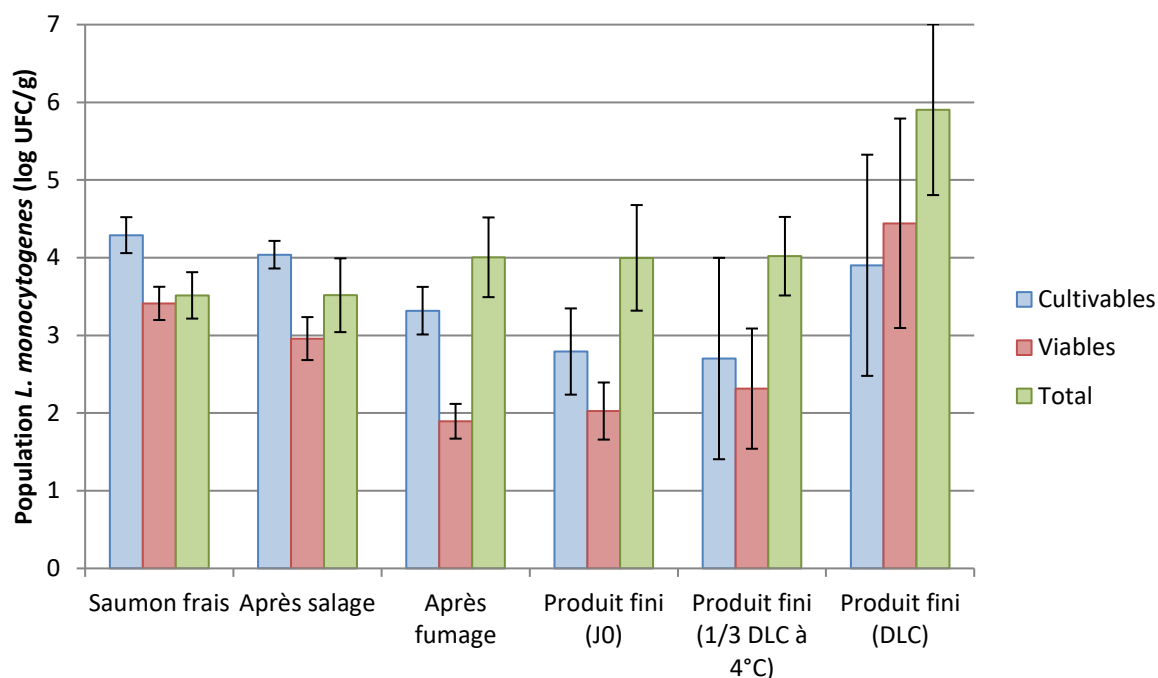


Figure 11 : Evolution de l'état physiologique de *L. monocytogenes* pendant le procédé de transformation et la durée de vie du saumon fumé. L'histogramme bleu représente la valeur de dénombrement obtenue par méthode culturale. En rouge sont représentés les résultats issus de la PMAqPCR (ADN de bactéries viables) et en vert, les résultats obtenus par qPCR (ADN bactérien total).

VIII.C.3. Impact des désinfectants et des surfaces antibactériennes sur les biofilms de *L. monocytogenes*

Un objectif important dans beaucoup de nos projets a été d'évaluer l'efficacité des procédures de nettoyage et de désinfection vis-à-vis de l'élimination des biofilms de *L. monocytogenes*. Ainsi, dans nos campagnes d'échantillonnage, nous surveillons systématiquement la prévalence de *L. monocytogenes* avant et après ces procédures (Tableau 3) (Brauge et al., 2020a). À plusieurs reprises, des populations VC ont été retrouvées après le nettoyage et la désinfection. Outre la matrice extracellulaire des biofilms qui procure une protection physique aux cellules de *L. monocytogenes* contenues dans le biofilm, nous nous sommes interrogés sur les mécanismes de résistance de *L. monocytogenes* aux désinfectants.

Tableau 3 : Prévalence de *L. monocytogenes* sur les surfaces de 8 entreprises de transformation de poisson issus de l'aquaculture et de la pêche avant et après nettoyage et désinfection (projet LIVIFLO et STRESSBACFISH)

Avant nettoyage et désinfection				
Méthodes	Formes détectées	Nombre échantillons positifs	Nombre échantillons analysés	Prévalence (%)
Microbiologie	Viables cultivables	5	106	4,7
PMAqPCR	Viables (VC + VNC)	17	106	16
qPCR	Viables et mortes	31	106	29,2
Après nettoyage et désinfection				
Méthodes	Formes détectées	Nombre échantillons positifs	Nombre échantillons analysés	Prévalence (%)
Microbiologie	Viables cultivables	2	98	2
PMAqPCR	Viables (VC + VNC)	25	98	25,5
qPCR	Viables et mortes	31	98	31,6

Dans un premier temps, afin de sélectionner les désinfectants les plus pertinents à tester dans nos études, nous avons réalisé à plusieurs reprises des enquêtes sur les pratiques de nettoyage et de désinfection. Nous avons regroupé les résultats de ces enquêtes menées dans différents projets, ce qui nous a permis d'obtenir une tendance globale sur le type de désinfectant utilisé, représentative de la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture (Bridier et al., 2021) (Tableau 4). Une fois ces désinfectants identifiés, nous avons évalué leur efficacité pour éliminer les biofilms préformés de *L. monocytogenes*. Un des premiers résultats majeurs que nous avons obtenus a été la mise en évidence que des désinfectants à base de soude à 0,5%, d'ammonium quaternaire et de peroxyacides utilisés à des concentrations recommandées par les fabricants, ne permettaient pas d'éliminer les populations VC de *L. monocytogenes*, mais induisaient l'état VNC (Brauge et al., 2018; Brauge et al., 2020a).

Tableau 4 : Enquête réalisée entre 2010 et 2015 sur l'utilisation des biocides dans 18 entreprises de la filière des produits de la pêche.

Biocides	Nombre d'entreprises utilisatrices	Utilisation
Ammoniums quaternaires	15/20	Application : mousse/pulvérisation (15/15), nébulisation (2/15), ND (1/15)
		Usage : quotidien (9/14), hebdomadaire (5/14), ND (4/14)
		Substances actives : chlorure d'alkyl diméthyl benzyl ammonium (CAS n°68424-85-1) et chlorure de didécyl diméthyl ammonium (CAS n°7173-51-5)
Peroxyacides	13/20	Application : mousse/pulvérisation (11/14), NEP (2/14), nébulisation (1/14), ND (1/14)
		Usage : quotidien (5/14), hebdomadaire (8/14), ND (2/14)
		Substances actives : acide peracétique (CAS n°79-21-0) et peroxyde d'hydrogène (CAS n°7722-84-1)
Alcalins chlorés	7/20	Application : mousse/pulvérisation (7/10), NEP (3/10), trempage (1/10)
		Usage : quotidien (7/10), hebdomadaire (3/10), ponctuel (1/10)
		Substance active : hypochlorite de sodium (CAS n°7681-52-9)
Triamines	5/20	Application : mousse/pulvérisation (4/5), nébulisation (1/5)
		Usage : quotidien (5/5)
		Substance active : N-(3-aminopropyl)-N-dodécylpropane-1,3-diamine (CAS n°2372-82-9)
Solutions hydroalcooliques	2/20	Application : mousse/pulvérisation (1/2), lingettes (1/2)
		Usage : quotidien (2/2)
		Substances actives : éthanol (CAS n°64-17-5) et isopropanol (CAS n° 67-63-0).

L'observation que les désinfectants induisent fortement l'état VNC chez *L. monocytogenes*, ainsi que la prévalence importante de ces populations VNC dans les aliments (VIII.C.2), nous a conduit à poser deux questions cruciales :

- 1) Ces bactéries VNC stressées ont-elles un potentiel de transfert surface/aliment important ?
- 2) Comment évoluent ces populations de *L. monocytogenes* stressées par des désinfectants et en état VNC une fois transférées dans un aliment ?

Pour répondre à ces questions, le projet STRESSBACFISH (2017-2019) a été mis en place, portant sur l'impact de différents stress rencontrés en entreprise de transformation du poisson sur la viabilité et la croissance de *L. monocytogenes* et de la flore annexe.

Dans le cadre de ce projet, des biofilms ont été cultivés sur des coupons d'acier inoxydable. Ensuite, ces coupons ont été en contact avec des morceaux calibrés de poisson ionisé. Huit contacts successifs ont été effectués dans des conditions standardisées (force appliquée et durée) sur huit morceaux de poissons différents, simulant ainsi le contact de tranches de poisson passant successivement sur une surface initialement contaminée. Une fois les contacts réalisés, les morceaux de poisson étaient conditionnés sous vide. Une quantification des populations VC, viables (VC et VNC), et totales (VC, VNC, et mortes) de *L. monocytogenes* a été effectuée immédiatement après le transfert (première série de coupons) puis à la DLC (Date Limite de Consommation) afin d'observer le transfert, l'évolution de la viabilité, et le développement de *L. monocytogenes* ayant subi un stress durant la conservation du produit (Figure 12).

Cette étude a révélé que *L. monocytogenes* stressée par les désinfectants et en état de VNC se transférait efficacement dans l'aliment et présentait un fort potentiel de croissance. Cela conduisait à des concentrations élevées de *L. monocytogenes* dans l'aliment à la DLC (J21). Une question subsiste quant à l'origine de cette reprise de cultivabilité dans les échantillons sous vide. Deux hypothèses peuvent être avancées :

- Il pourrait s'agir d'une revivification des populations VNC de *L. monocytogenes* qui se sont ensuite développées dans l'aliment.
- Il pourrait s'agir d'une très faible fraction de population VC, non détectée initialement car en dessous du seuil de détection de nos techniques culturales, qui se serait ensuite développée dans l'aliment.

Ce résultat est particulièrement intéressant, car de nombreux professionnels s'interrogent sur les raisons pour lesquelles, à J0, aucune *L. monocytogenes* n'est détectée dans leurs échantillons, alors qu'à la DLC les taux sont très importants. Grâce à cette expérience, nous avons obtenu des premiers éléments de réponse à ce phénomène.

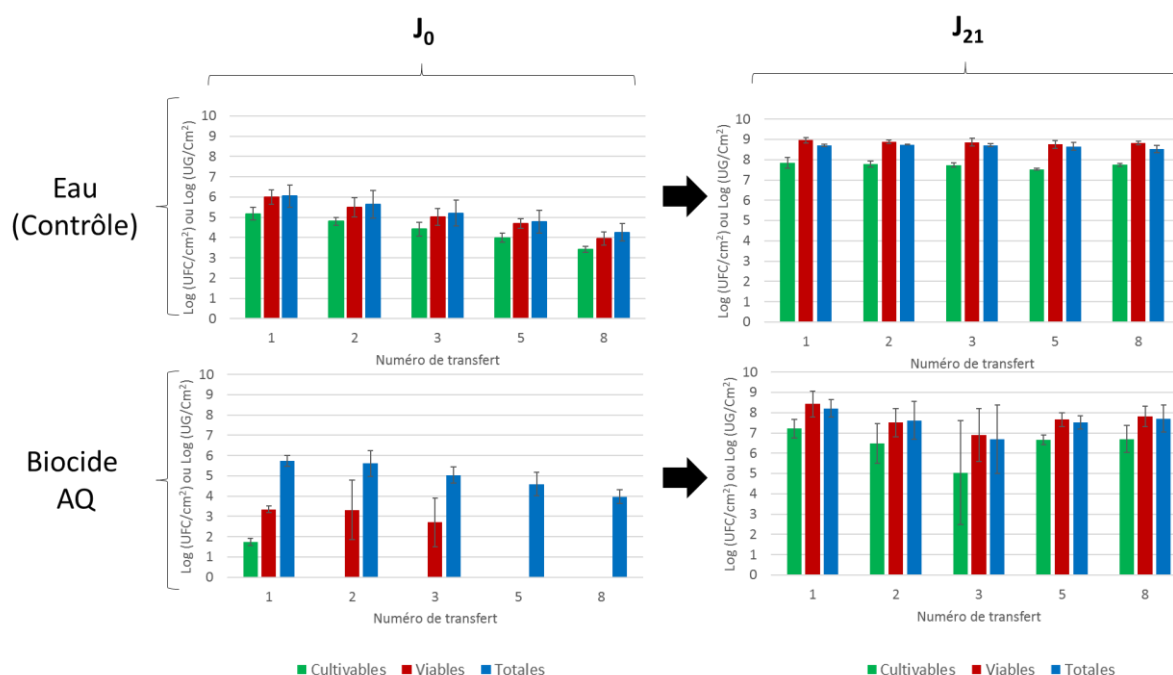


Figure 12 : Transfert de *L. monocytogenes* en biofilm mono espèce traité à l'eau (contrôle) ou au biocide ammonium quaternaire (AQ) de la surface vers l'aliment

Une autre approche que nous avons étudiée à travers le projet SILVERPROTECT est l'efficacité des surfaces à propriétés antimicrobiennes contenant des ions argent. Comme expliqué dans la section VIII.B.2, ce type de surface peut présenter l'avantage de réduire le risque de formation de biofilms et de contamination bactérienne en inhibant la croissance et la prolifération des microorganismes dès leur adhésion. Ce projet nous a permis, entre autres, de montrer que *L. monocytogenes* adhérerait de la même manière sur tous les matériaux testés (film, résine, revêtement peinture, plastique caisse, PVC de lanières) conditionnés ou non avec du jus de saumon ou de crevettes (Figure 13). Aucun effet antibactérien des ions argent en présence ou non de biocides n'a été observé sur *L. monocytogenes*. Ce projet a donc montré que dans nos conditions expérimentales les surfaces à propriétés antimicrobiennes contenant des ions argent étaient inefficaces pour maîtriser le risque associé à *L. monocytogenes*.

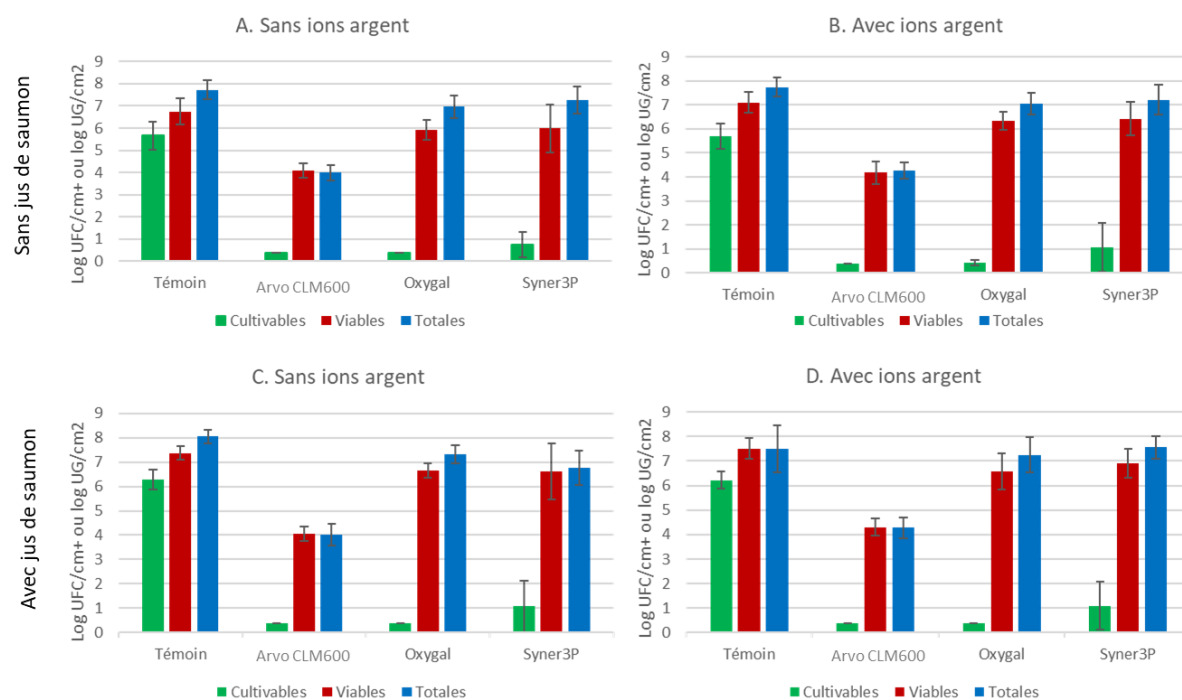


Figure 13 : Flores viables cultivables, viables et totales quantifiées à partir des biofilms monoespèce de *L. monocytogenes* réalisés sur les matériaux lanière Estruflex non conditionnés (A) sans et (B) avec ions Ag^+ et conditionnés (C) sans et (D) avec ions Ag^+ , sans traitement et après traitement avec des biocides Arvo, Oxygal ou Syner 3P.

IX. PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Mes activités de recherche sur la sécurité alimentaire des produits de la pêche se sont jusqu'à présent articulées autour de trois grandes thématiques : l'antibiorésistance, les *Vibrio* entéropathogènes, et *L. monocytogenes*, avec une attention particulière sur les étapes précoces de la chaîne alimentaire (Figure 14). Pour l'antibiorésistance, j'ai concentré mes efforts sur le milieu marin, tandis que pour *L. monocytogenes* et les *Vibrio* entéropathogènes, j'ai étudié principalement les ateliers de transformation. Dans mes perspectives de recherche, je souhaite maintenir ces trois thématiques et poursuivre les travaux déjà engagés tout en développant de nouveaux axes.

Concernant l'antibiorésistance marine, mon objectif est d'identifier des indicateurs fiables de la RAM et d'identifier les sources de contamination, tout en évaluant la propagation de la RAM le long de la chaîne de production des produits de la pêche. Celui-ci ne sera atteint que par l'optimisation des méthodes et des indicateurs.

En ce qui concerne les *Vibrio* entéropathogènes, je souhaite porter une attention particulière à ces pathogènes émergents. Il s'agit d'une problématique d'avenir qui nécessite d'acquérir, dès à présent, des compétences, des connaissances et des données. Nous avons montré que *V. parahaemolyticus* présente une résistance importante aux antibiotiques en termes de diversité et de fréquence. Je souhaite évaluer le potentiel de dissémination des GRA et la dangerosité en termes de virulence de ces souches résistantes. Je souhaite également poursuivre les études sur l'occurrence environnementale et alimentaire des *Vibrio* entéropathogènes et continuer à explorer la résistance aux désinfectants des biofilms formés par ces pathogènes.

Une perspective importante que je souhaite développer, concerne spécifiquement *V. parahaemolyticus* dans une approche holistique et intégrative suivant le principe *One Health*. Cette approche permettrait d'étudier cet agent pathogène non seulement dans un contexte de sécurité alimentaire et de santé humaine, mais également de santé animale. En effet, en plus de son impact sur la santé humaine, *V. parahaemolyticus* provoque des infections chez les organismes marins, notamment les crevettes, ce qui représente un enjeu majeur dans le domaine de l'aquaculture (Prithvisagar et al., 2021).

Concernant *L. monocytogenes*, je souhaiterais identifier quelles sont les fréquences et les conditions d'apparition de *L. monocytogenes* tout au long de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture, tout en évaluant la diversité génétique des souches isolées. J'aimerais également évaluer la résistance des biofilms de *L. monocytogenes* face à des traitements innovants, respectueux de

l'environnement, et applicables tout au long de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture.

Enfin, parallèlement à mes trois grandes thématiques de recherche (l'antibiorésistance, les *Vibrio* entéropathogènes, et *L. monocytogenes*), je souhaite développer deux nouveaux axes de recherche. Le premier concerne l'impact du réchauffement climatique sur la prolifération des pathogènes et le risque associé (en terme de résistance et de virulence). Le second ambitionne d'évaluer le risque vis-à-vis de *Vibrio* entéropathogènes, et de *L. monocytogenes* lié à la consommation de nouveaux aliments tel que les algues alimentaires et à l'utilisation de nouveaux contenants alimentaires réutilisables.

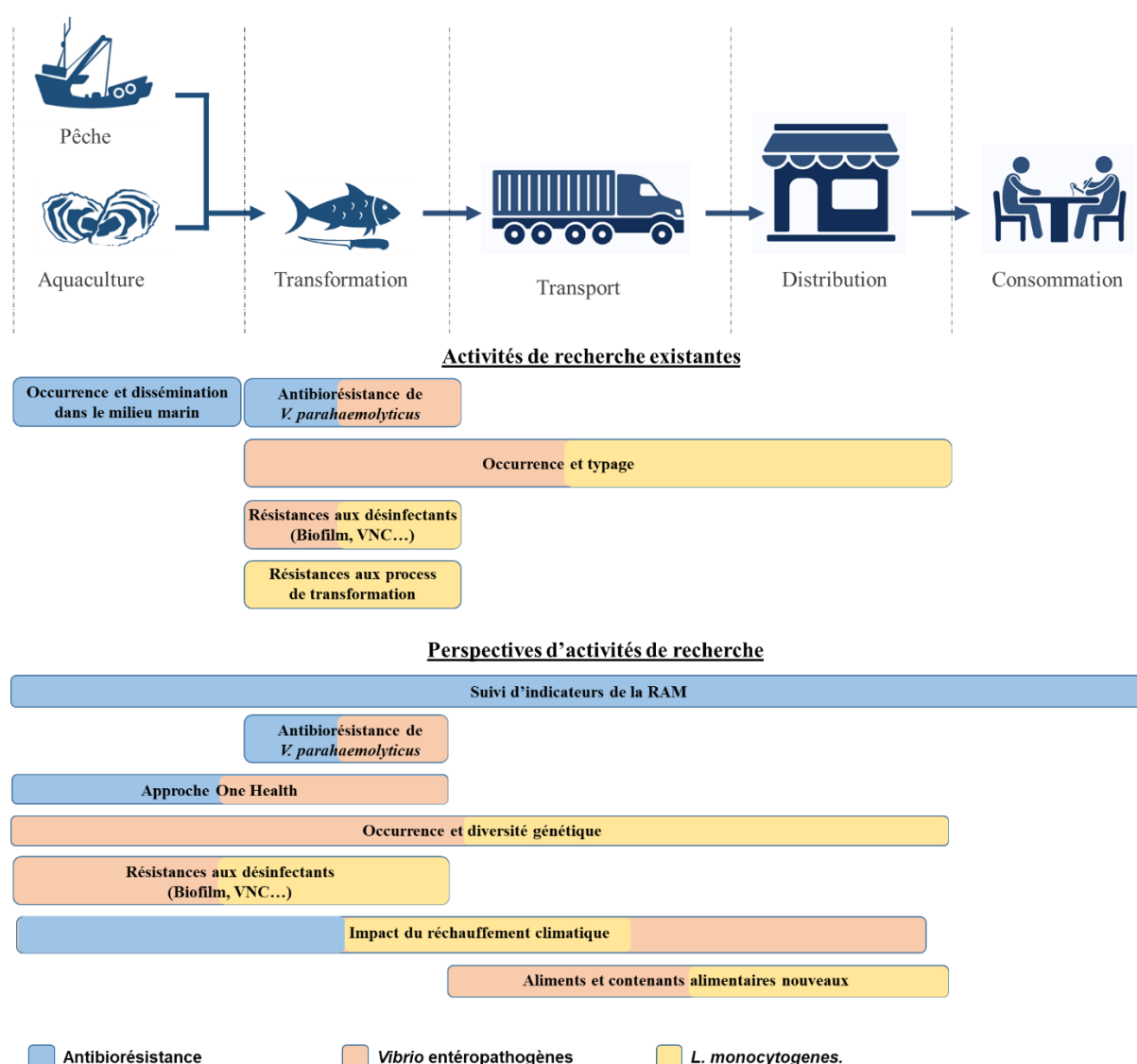


Figure 14 : Activités de recherche existantes et perspectives de recherche selon les étapes de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture

IX.A. Antibiorésistance des produits de la pêche

IX.A.1. Identification d'indicateurs de la RAM dans les produits de la pêche et de l'aquaculture

Un de mes objectifs à court terme concernant l'antibiorésistance des produits de la pêche est d'identifier des indicateurs fiables de la RAM dans le milieu marin.

Par définition, un indicateur de la RAM doit être relativement simple à suivre, informer sur la dynamique de résistance globale, indiquer une pression anthropique et peut être couplé avec la recherche de GRA pour apprécier la dynamique de transfert (Hocquet et al., 2020). Dans nos travaux, nous avons cherché à identifier des bactéries indicatrices de la RAM ainsi que des gènes indicateurs de cette résistance. Il me semble nécessaire de poursuivre ces études afin de mieux caractériser ces deux types d'indicateurs, qui sont complémentaires pour une évaluation globale et précise de la RAM.

Pour nous permettre de trouver une bactérie indicatrice de la RAM, j'aimerais dans un premier temps améliorer les outils d'identification des espèces bactériennes isolées des milieux marins et des produits de la pêche et de l'aquaculture. Cet aspect est essentiel pour détecter et suivre les bactéries indicatrices de la RAM. Dans nos projets, nous avons largement utilisé des outils tels que la spectrométrie de masse MALDI-TOF et le séquençage du gène 16S pour cette identification (Brauge et al., 2021). Cependant, de nombreuses souches ont été mal ou non identifiées avec ces méthodes. Une de mes perspectives est de développer et d'affiner notre utilisation de MALDI-TOF en collaboration avec la plateforme MALDI_TOF de l'Anses de Nancy. J'ai pour objectif de créer notre propre base de données de spectres, en utilisant notre collection de souches provenant du milieu marin et des ateliers de transformation afin d'établir des spectres de référence, en particulier pour des espèces moins courantes comme *Exiguobacterium*. De telles approches ont par exemple été mises en place par Mougin et al. (2020) qui a développé la base de données interne de profils spectraux MALDI-TOF Luvibase pour l'identification rapide des espèces de *Vibrio* du clade *Harveyi*. Ce développement nous permettrait de faire une identification plus rapide et précise des isolats bactériens, renforçant ainsi notre capacité à surveiller et à gérer les risques liés à l'antibiorésistance. Une autre approche d'identification bactérienne que je souhaiterais développer et qui est totalement innovante est l'identification bactérienne par microspectroscopie Raman. Actuellement, dans le cadre de la thèse de Darius Abedini, nous travaillons à l'application de cette méthode pour identifier des espèces appartenant aux genres *Listeria* et *Vibrio*. À terme, je souhaiterais que nous étendions cette technologie à l'identification de l'ensemble des souches présentes dans notre collection, y compris celles isolées des milieux marins, ainsi que des produits de la pêche et de l'aquaculture. Nous pourrions comparer l'efficacité de cette technique par rapport à d'autres techniques de référence telles que le MALDI-TOF ou le séquençage de l'ADNr 16s. Des premiers travaux ont été réalisés sur le sujet mais comportent un nombre restreint d'espèces bactériennes et

aucune provenant du milieu marin (Zhang et al., 2022). Cette approche pourrait offrir une alternative rapide et non invasive pour l'identification bactérienne.

Dans cette recherche d'indicateurs bactériens de la RAM, les tests phénotypiques de sensibilité aux antibiogrammes sont très chronophages. J'aimerais à long terme développer une alternative plus rapide à cette méthode en développant la technique de DIP-Raman au service de cette problématique. Cette méthode a déjà été appliquée pour des souches cliniques mais jamais pour des souches provenant du milieu marin et de la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture. Par exemple, Yi et al. (2021) a appliqué cette méthode sur des bactéries résistantes aux antibiotiques, isolées à partir d'échantillons d'urine et de sang de patients. Le principe de ce test repose sur la détection de l'activité métabolique des bactéries au niveau unicellulaire en présence d'antibiotiques, via la spectroscopie Raman. Plus précisément, il s'agit de suivre l'incorporation de D₂O (eau lourde) par les bactéries exposées à un antibiotique spécifique. La mesure de l'activité métabolique, en réponse à cet antibiotique, permettrait de déterminer l'efficacité de celui-ci à inhiber ou tuer les bactéries. Cette approche présente plusieurs avantages majeurs. D'une part, elle est considérablement plus rapide que les méthodes culturales. D'autre part, elle offre une sensibilité accrue grâce à l'analyse au niveau de la cellule unique, ce qui permet de détecter des réponses hétérogènes au sein de populations bactériennes. Des essais comparatifs pourraient être menés en parallèle avec les antibiogrammes classiques ou les méthodes de concentration minimale inhibitrice (CMI). Il est important de noter que cette perspective de recherche est le fruit de plusieurs discussions avec Pierre Marcoux et se construira en collaboration avec le CEA LETI.

À l'aide de ces méthodes nouvellement développées et/ou de méthodes conventionnelles, je souhaite identifier des indicateurs bactériens de la RAM dans les environnements marins et les produits d'origine aquatique. Dans nos travaux antérieurs, aucune espèce bactérienne spécifique n'a été identifiée comme commune à tous les animaux aquatiques et à leur environnement. Deux hypothèses se présentent : soit les conditions d'isolement des bactéries (température ou milieu de culture) n'étaient pas optimales pour identifier un unique indicateur, soit plusieurs espèces bactériennes sont nécessaires pour surveiller efficacement la résistance aux antibiotiques dans les produits de la pêche et de l'aquaculture. Pour vérifier ces hypothèses, j'aimerais mener des études complémentaires en effectuant de nouvelles campagnes d'échantillonnage dans la Manche et la mer du Nord à différentes saisons et examiner la RAM des bactéries isolées des produits de la pêche (comme les maquereaux, sardines, etc.), des crustacés (crabes, crevettes, etc.) et des mollusques (calmars, palourdes, etc.). Dans cette approche, nous pourrions ajuster les conditions d'isolement et de culture des bactéries afin d'optimiser leur identification et leur analyse.

Pour nous permettre de trouver des gènes indicateurs de la RAM, j'aimerais dans un premier temps développer de nouveaux outils de détection ciblée de GRA. Dans le cadre de la thèse d'Erwan

Bourdonnais, nous avons ciblé la détection de quatre gènes indicateurs de résistance aux antimicrobiens (*tetA*, *blaTEM*, *sul1* et *intI1*) dans l'environnement marin. Ces gènes ont été sélectionnés parmi une liste proposée par Berendonk et al. (2015), considérés comme marqueurs pertinents pour évaluer la contamination de l'environnement par la RAM. Le choix de *tetA*, *blaTEM* et *sul1* s'est basé sur leur rôle critique dans la résistance aux antimicrobiens d'importance pour la santé humaine, ainsi que sur les résistances phénotypiques identifiées dans les populations bactériennes isolées du milieu marin lors de nos études phénotypiques précédentes (thèse d'Arnaud Briet et projets RESCAPE et RECOMANCHE). L'étude menée par Erwan Bourdonnais sur les poissons plats, le plancton, les mollusques bivalves et l'eau de mer a montré que *sul1* et *intI1* avaient des prévalences globales (tous échantillons confondus) de 57,1 % et 61,0 %, respectivement, dans la Manche et la Mer du Nord, ce qui en fait des candidats prometteurs pour le milieu marin. Toutefois, il est possible que d'autres gènes de la liste de Berendonk et al. (2015) soient plus adaptés au contexte marin. Pour compléter cette étude, j'aimerais à court terme développer de nouvelles qPCR ciblant d'autres gènes indicateurs de résistance, tels que *sul2* (résistance aux sulfonamides), *blaCTX-M*, *blaNDM-1* et *mecA* (résistance aux β -lactamines), *blaVIM* et *blaKPC* (résistance aux carbapénèmes), *qnrS* (résistance aux quinolones), *aac-(6')-Ib-cr* (résistance aux aminosides et fluoroquinolones), *vanA* (résistance aux glycopeptides), ainsi que les gènes *ermB* et *ermF* (résistance aux macrolides), *tetM* (résistance aux tétracyclines) et *aph* (résistance aux aminosides). La plupart de ces gènes ont déjà été détectés dans des échantillons d'eaux côtières, de sédiments marins et de moules, renforçant ainsi leur pertinence pour une étude approfondie (Tan et al., 2018; Sacramento et al., 2019; Su et al., 2020). Il serait ensuite pertinent de rechercher ces gènes dans un premier temps dans les échantillons de la thèse d'Erwan Bourdonnais, que nous avons conservés, puis à partir de nouveaux échantillons provenant de campagnes d'échantillonnage récentes dans la Manche et la mer du Nord, réalisées à différentes saisons.

IX.A.2. Identification des sources de contamination et propagation de la RAM dans la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture.

À long terme, une perspective intéressante consisterait à identifier les voies de contamination du milieu marin par la RAM le long du continuum terre-mer, tout en déterminant les principaux réservoirs de ces résistances. Cette approche s'inscrit dans le cadre du concept *One Health*, en mettant en lumière les interactions entre la santé humaine, animale et environnementale, pour avoir une vision globale des mécanismes de transmission de la RAM à travers différents écosystèmes. Dans nos projets antérieurs, nous avons formulé plusieurs hypothèses sur les origines possibles de la contamination et la dissémination de la RAM, telles que les eaux de ballasts des navires, les oiseaux marins, les fleuves. Il serait donc pertinent de vérifier ces hypothèses en recherchant les indicateurs de la RAM identifiés précédemment dans ces différents compartiments. Cette approche nous permettrait non seulement d'identifier les sources de contamination, mais aussi d'évaluer l'impact des

activités humaines, sur l'occurrence de la résistance aux antibiotiques dans le milieu marin. En complément de cette démarche d'identification des sources de contamination, nos travaux antérieurs (notamment la thèse d'Arnaud Briet et les projets RESCAPE et RECOMANCHE) ont permis d'isoler des espèces des genres *Enterococcus* et *Staphylococcus* dans divers produits de la pêche et de l'aquaculture. Cela soulève des questions sur leur origine : ces bactéries sont-elles naturellement présentes dans le milieu aquatique, ou proviennent-elles de contaminations terrestres ? Les animaux marins pourraient être contaminés par ces bactéries via les effluents ou à différents stades de la chaîne de production, depuis la pêche jusqu'à la livraison. Pour explorer cette question, il serait pertinent de typer les souches d'*Enterococcus* et de *Staphylococcus* isolées des produits aquatiques en utilisant des méthodes telles que le MLST ou la PFGE, puis de les comparer avec des souches humaines ou provenant d'animaux terrestres. Des profils de typage similaires indiqueraient une origine commune, tandis que des profils distincts suggéreraient des origines différentes. Nous pourrions également, en parallèle du suivi de nos indicateurs de la RAM, réaliser un suivi d'indicateurs primaires de contamination fécale, tels que *E. coli* ou les entérocoques, soit par des approches culturales, soit par des méthodes de qPCR. Cela permettrait d'identifier les niveaux d'anthropisation des lieux de prélèvement et de mettre ces informations en perspective avec le niveau de contamination des indicateurs de la RAM.

À long terme, j'aimerais valider les indicateurs de la RAM mise en évidence dans nos études et les utiliser pour identifier des voies de contamination dans des écosystèmes marins. Pour cela, nous pourrions répéter nos études faites dans la région de la Manche et de la mer du Nord sur d'autres littoraux français, en tenant compte des pays voisins ayant des politiques de prescription d'antibiotiques différentes. Par exemple, comparer les littoraux de la mer Méditerranée, influencés par des pays comme l'Espagne et l'Algérie, à ceux de la Manche et de la mer du Nord, bordés par l'Angleterre, l'Allemagne, la Belgique et les Pays-Bas, permettrait d'affiner notre compréhension des dynamiques de résistance aux antibiotiques dans ces différents contextes. Dans cette perspective, j'ai initié une collaboration avec l'Ifremer de Montpellier, qui travaille notamment sur la résistance aux antibiotiques des souches de *Vibrio* isolées des parcs d'ostréiculture. Une fois cette étude nationale menée, il serait très intéressant, à plus long terme, d'étendre cette recherche à l'échelle européenne, puis mondiale afin de confirmer la pertinence de nos indicateurs de la résistance aux antibiotiques dans le milieu marin. De même dans cette optique, des collaborations ont été initiées avec l'Australie, le Sénégal et le Canada.

Dans cette même perspective, il serait également pertinent d'étudier les écosystèmes aquacoles ainsi que les produits alimentaires issus de l'aquaculture. Ces environnements sont particulièrement sensibles à la pression exercée par l'utilisation d'antimicrobiens. L'usage fréquent d'antimicrobiens dans les élevages aquacoles, pour prévenir et traiter les infections, favorise la sélection de souches résistantes, qui peuvent ensuite se disséminer dans l'environnement marin et/ou contaminer les produits alimentaires. L'étude de ces environnements nous permettrait non seulement de valider la pertinence de nos indicateurs de la RAM dans ce secteur, mais aussi d'identifier si l'aquaculture peut être un vecteur de contamination de

la RAM dans les écosystèmes marins. Je souhaiterais mener ces recherches dans des fermes aquacoles françaises et les étendre à nos partenaires internationaux, notamment en Australie, au Canada et au Sénégal.

A long terme j'aimerais évaluer si la RAM se propage le long de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture, depuis les étapes initiales de capture ou de récolte, jusqu'à la transformation, le transport, et la distribution des produits. Pour cela, il serait intéressant d'évaluer la présence des indicateurs de résistance aux antibiotiques tout au long de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture. En suivant ces indicateurs, nous pourrions identifier les points critiques où la résistance est susceptible d'augmenter (par exemple à cause de pression de sélection d'espèce bactérienne ou de résistance spécifique), et ainsi développer des stratégies ciblées pour limiter la dissémination de la résistance aux antibiotiques tout le long de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture.

IX.B. *Vibrio* entéropathogènes

IX.B.1. L'antibiorésistance de *V. parahaemolyticus*

Pour *V. parahaemolyticus*, je souhaite évaluer la capacité d'émergence et de dissémination (via des éléments génétiques mobiles) de la RAM et de la virulence. Pour cela, je souhaiterais à court terme tester systématiquement la sensibilité aux antibiotiques des souches de *V. parahaemolyticus* dès leur réception au sein du LNR *Vibrio* dans les produits de la pêche. Afin d'identifier le risque associé à ces souches résistantes en termes de dissémination et de virulence, je prévois d'analyser en profondeur le RESISTOME, le MOBILOME et le VIRULOME de ces bactéries. Le RESISTOME englobe l'ensemble des GRA présents dans une population bactérienne, tandis que le MOBILOME se réfère aux éléments génétiques mobiles, tels que les plasmides, transposons et intégrons, qui facilitent le transfert horizontal de ces gènes. Le VIRULOME quant à lui regroupe l'ensemble des gènes de virulence. Une étude approfondie du RESISTOME de *V. parahaemolyticus* permettrait d'identifier les gènes de résistance spécifiques présents dans différentes souches. Simultanément, l'analyse du MOBILOME viserait à comprendre les mécanismes par lesquels ces gènes de résistance sont transférés entre bactéries, ainsi que l'impact des éléments génétiques mobiles sur la dissémination de la résistance. En parallèle, l'analyse du VIRULOME chez les souches résistantes versus sensibles permettrait de déterminer si les souches les plus virulentes sont également celles qui présentent les niveaux de résistance les plus élevés, afin d'évaluer les implications pour la santé publique. Ces aspects font déjà l'objet de travaux dans le cadre de la thèse d'Antoine Regnier (2022-2025).

De plus, l'un des défis actuels auquel nous sommes confrontés est de relier les données de résistance de *V. parahaemolyticus* à des régions spécifiques du monde et à des pratiques d'aquaculture et de pêche, tout en suivant l'évolution de la sensibilité aux antibiotiques au fil des ans. A ce jour, les souches de notre collection proviennent exclusivement des analyses réalisées par le LNR, ce qui induit un biais et un manque d'exhaustivité. À moyen terme, je prévois donc de mettre en place une cartographie détaillée de l'antibiorésistance de *V. parahaemolyticus* dans différentes régions marines, en comparant des zones tempérées et non tempérées, notamment face aux défis posés par le réchauffement climatique et l'élévation des températures. Un accent particulier sera mis sur les régions associées à l'aquaculture et à la pêche. Les collaborations déjà initiées, notamment avec des partenaires au Sénégal et à l'Ifremer de Montpellier, dans le cadre de la pénéiculture et de l'ostréiculture, offrent une base solide pour développer cette perspective. Cette cartographie détaillée aura pour objectif d'identifier les zones à haut risque et de comprendre les pratiques de productions et les facteurs géographiques et environnementaux qui influencent la distribution des souches résistantes de *V. parahaemolyticus*. En outre, l'intégration des métadonnées associées aux échantillonnages, telles que les pratiques de pêche, les méthodes d'aquaculture, les niveaux de pollution et les caractéristiques des écosystèmes locaux, sera essentielle pour évaluer l'impact de ces pratiques sur l'émergence et la propagation de l'antibiorésistance.

À long terme, je souhaiterais mettre en place un système de surveillance de l'antibiorésistance tout au long de la chaîne alimentaire, avec un focus particulier sur *V. parahaemolyticus*. Tout d'abord, je souhaiterais établir un réseau de surveillance en partenariat avec les producteurs et les pêcheurs, les usines de transformation et les laboratoires de contrôle qualité afin d'assurer une collecte régulière d'échantillons de produits de la pêche et de l'aquaculture à tous les stades de la chaîne alimentaire, depuis la pêche jusqu'à la distribution. Les échantillons devraient être analysés pour détecter *V. parahaemolyticus* et déterminer leur profil de résistance aux antibiotiques à l'aide de méthodes standardisées que nous avons développées. Parallèlement, des analyses génétiques par qPCR pourront être réalisées afin d'identifier les GRA présents dans les souches isolées. L'idée sera ensuite d'alimenter une base de données centralisée pour enregistrer les résultats et suivre les tendances de la résistance au fil du temps. Une analyse régulière de ces données permettra de détecter les variations dans les profils de résistance, d'identifier les sources potentielles de contamination, et de mettre en place des mesures de gestion adaptées. Ces données pourraient nous permettre de développer des modèles mathématiques et épidémiologiques pour prédire la transmission et la persistance des souches résistantes de *V. parahaemolyticus* dans les environnements marins et les chaînes alimentaires. Cela facilitera l'évaluation quantitative des risques liés à cette problématique. Pour ce faire, je souhaiterais collaborer avec la Direction de l'Évaluation des Risques (DER) de l'ANSES afin de réaliser des analyses quantitatives du risque associé aux *V. parahaemolyticus* résistants aux antibiotiques.

Une autre perspective que je souhaiterais explorer est le rôle des biofilms de *V. parahaemolyticus* dans la dissémination de la résistance aux antimicrobiens. En effet, les biofilms peuvent favoriser le transfert de GRA non seulement au sein des populations de *V. parahaemolyticus* (transferts intraespèces) mais également entre différentes espèces bactériennes (transferts interespèces) (Michaelis and Grohmann, 2023). Ces interactions peuvent permettre à *V. parahaemolyticus* d'acquérir des résistances naturelles présentes chez d'autres bactéries marines, telles que *Shewanella*, qui sont connues par exemple pour être le réservoir naturel du gène de résistance *OXA-48* codant pour une β -lactamase (Poirel et al., 2004). Étudier ces processus pourrait révéler des mécanismes de dissémination des résistances non seulement dans les écosystèmes marins mais aussi tout au long de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture. En outre, je souhaiterais également étudier l'impact de facteurs liés au réchauffement climatique sur la transférabilité de ces GRA. Ces aspects sont développés dans la section IX.D

IX.B.2. Les biofilms des *Vibrio* entéropathogènes

À court terme, je souhaite évaluer si les *Vibrio* entéropathogènes représentent un risque de contamination croisée lié aux surfaces industrielles, ainsi que déterminer la résistance des biofilms formés par ces agents pathogènes. Pour ce faire, je propose de réaliser des campagnes d'échantillonnage environnemental (surfaces) et alimentaire dans tous les secteurs de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture, de la production à la consommation. Ces analyses permettront de déterminer la prévalence de ce pathogène sur les équipements et les surfaces de travail, ainsi que d'évaluer leur potentiel de transfert vers les aliments. Elles permettront également d'identifier les étapes critiques de la chaîne de production en termes de contamination par *V. parahaemolyticus* et de souligner les points critiques nécessitant des protocoles de nettoyage et de désinfection améliorés, notamment au sein des ateliers impliqués dans la campagne. Ces campagnes devront être réalisées sur les mois d'été afin de maximiser les chances d'isoler des *Vibrio* entéropathogènes.

Concernant la résistance aux désinfectants des biofilms de *Vibrio* entéropathogènes, à court terme, je souhaiterais également approfondir notre étude sur la sensibilité des biofilms de *V. parahaemolyticus* aux désinfectants en collaboration avec l'Australie et le Canada (Mougin et al., 2024). Lors de cette étude, nous avons mis en évidence que des résidus de chlorure de benzalkonium induisaient une surproduction de biofilms chez plusieurs espèces de *Vibrio* entéropathogènes, notamment *V. parahaemolyticus*. Je souhaiterais désormais tester des concentrations supérieures de ce désinfectant, conformément aux recommandations des fabricants, ainsi que d'autres désinfectants tels que l'acide peracétique, l'hypochlorite alcalin, et des désinfectants émergents comme la triamine, dont l'utilisation

devient de plus en plus courante. J'aimerais évaluer leurs impacts sur la formation des biofilms à l'aide de techniques complémentaires telles que la microscopie, avec des marquages live/dead, des outils moléculaires tels que la qPCR et la PMAqPCR et des technologies innovantes en développement, telles que la microscopie Raman DIP afin de distinguer les différentes formes de viabilité des *Vibrio* entéropathogènes (formes cultivables, VNC, ou mortes).

IX.B.3. Etude de la transmission entre les animaux, l'environnement et les humains : approche *One Health*

Une de mes perspectives prioritaires suit une approche *One Health* où j'aimerais étudier la transmission des *Vibrio* entéropathogènes entre les animaux, l'environnement et les humains. Je souhaiterais notamment identifier les réservoirs principaux des *Vibrio* entéropathogènes dans les environnements aquacoles (eaux, sédiments, animaux aquatiques) et comment ces réservoirs favorisent la transmission vers les animaux d'élevage et, *in fine*, vers les consommateurs humains.

Dans ce cadre, cette étude se concentrerait sur *V. parahaemolyticus*. En effet, *V. parahaemolyticus* présente un double risque : en tant que pathogène alimentaire affectant la sécurité des produits de la mer destinés à la consommation humaine, et en tant qu'agent infectieux pour les organismes marins, notamment dans les systèmes d'aquaculture. Pour répondre à cet objectif de recherche, une approche pratique et intégrée est nécessaire. Tout d'abord, il s'agira de réaliser une campagne d'échantillonnage dans différents compartiments des environnements aquacoles : les eaux, les sédiments, les surfaces de cage ou de bassin aquacole (biofilms), ainsi que les animaux aquatiques (poissons, mollusques, crustacés). Ces échantillons seront analysés pour détecter et quantifier les populations de *V. parahaemolyticus* entéropathogènes, à l'aide de méthodes de culture microbiologique, de qPCR et de séquençage du génome complet (WGS). Ces analyses permettront d'identifier les réservoirs principaux de *Vibrio* entéropathogènes et d'étudier la diversité génétique de souche de *Vibrio* entéropathogènes isolées, leur sensibilité aux antibiotiques et leur potentiel pathogène.

En parallèle, il sera nécessaire de mener des études environnementales pour comprendre comment ces réservoirs favorisent la transmission des *Vibrio* entéropathogènes vers les animaux d'élevage. Cela pourrait impliquer l'observation de pratiques aquacoles spécifiques, telles que la gestion de l'eau, l'alimentation, et la densité des animaux, qui influencent la prolifération et la dissémination des pathogènes. Enfin, pour évaluer l'impact sur la santé humaine, nous pourrions mener des études épidémiologiques sur les consommateurs de produits de la pêche et de l'aquaculture, en collaboration avec des experts en santé publique, afin de tracer les voies de transmission tout au long de la chaîne alimentaire.

IX.C. *Listeria monocytogenes*

Sur cet axe de recherche une de mes perspectives de recherche est d'identifier quelles sont les fréquences et les conditions d'apparition de *L. monocytogenes* tout au long de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture (de la production à la distribution). L'ensemble des études d'occurrence que nous avons réalisées jusqu'à présent se sont concentrées sur les ateliers de transformation, en prenant en compte uniquement les procédures de nettoyage, de désinfection, et le processus de transformation des produits de la pêche et de l'aquaculture. Dans cette nouvelle approche, je propose donc d'étendre les études d'occurrence à l'ensemble de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture. Pour cela, je prévois de mettre en place un protocole de surveillance plus large, incluant des échantillons prélevés non seulement au niveau des installations de transformation, mais aussi à différents stades de la chaîne, depuis la production et la collecte jusqu'à la distribution et la vente. Cette approche englobera les environnements aquatiques naturels (comme les eaux et les sédiments), les fermes aquacoles, les conditions de stockage, les pratiques de manipulation post-capture, ainsi que les différents modes de conservation et de distribution des produits. En intégrant ces différents aspects, nous pourrions obtenir une vue d'ensemble plus complète de la répartition de *L. monocytogenes* tout au long de la chaîne de production et ainsi identifier les points critiques susceptibles de favoriser sa présence et sa prolifération. La recherche de *L. monocytogenes* se fera sur la base d'une recherche des populations VC mais également VNC. Pour cela, je prévois de poursuivre le développement méthodologique du DIP-Raman comme outil d'identification et de caractérisation de la viabilité de ce pathogène. Une fois la méthode mise au point par Darius Abedini, l'un des objectifs sera de tester la performance de cet outil dans divers scénarios analytiques. Par exemple, nous évaluerons l'efficacité du DIP-Raman en analysant différentes matrices alimentaires et des prélèvements de surface artificiellement contaminés pour examiner l'impact de la matrice sur sa performance. Nous testerons également la présence de flore annexe couramment associée à *L. monocytogenes* dans la filière des produits de la pêche, comme *Carnobacterium* ou *Pseudomonas*.

En lien avec cette première perspective de recherche, une seconde perspective consiste à évaluer la diversité génétique des souches de *L. monocytogenes* isolées des produits de la pêche et de l'aquaculture, et à comparer ces souches en fonction des différents secteurs de la chaîne de production des produits de la pêche (pêche, aquaculture, transformation, transport, distribution) ainsi qu'avec celles provenant d'autres secteurs alimentaires. Pour ce faire, je prévois de procéder au typage des souches issues des campagnes d'échantillonnage décrites précédemment. À moyen terme, je souhaite développer l'utilisation de la spectroscopie Raman pour ce typage, afin de déterminer les CCs sans recourir aux méthodes classiques de culture et d'analyse moléculaire (PCR ou séquençage), qui sont à la fois longues et coûteuses. Pour cela, je compte créer une base de données de spectres Raman spécifiques à chaque CC de *L. monocytogenes*. Cette optimisation sera réalisée à partir des souches de

L. monocytogenes que nous possédons déjà au laboratoire, représentant une large diversité de CC isolés de la filière. Pour approfondir l'étude de la diversité génétique de *L. monocytogenes* dans la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture, je souhaiterais parallèlement caractériser génétiquement des souches de *L. monocytogenes* en utilisant le séquençage du génome entier (Whole Genome Sequencing, WGS). Ces données nous permettront de suivre le RESISTOME, le MOBILOME et le VIRULOME de ces souches, et ainsi déterminer le potentiel de virulence et de résistance des souches de *L. monocytogenes* au cours du temps et en fonction des différentes étapes de la chaîne de production. De plus, ces analyses pourraient révéler de nouveaux marqueurs génétiques associés à la virulence et à la persistance de *L. monocytogenes*. À cet effet, des discussions ont déjà été initiées avec la CITPPM pour obtenir régulièrement des souches issues des autocontrôles des adhérents.

Une troisième perspective de recherche vise à évaluer la résistance des biofilms de *Listeria monocytogenes* à des traitements innovants, respectueux de l'environnement, et applicables tout au long de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture. Dans ce contexte, j'ai précédemment réalisé une étude en 2023 (SEASAFEFOOD) en partenariat avec l'Université de Flinders, Agriculture Agri-Food Canada, et l'Université de Göteborg. Cette étude a examiné l'impact de deux molécules naturelles sur les biofilms bactériens. Cependant, le manque de temps n'a pas permis d'effectuer ces essais sur *L. monocytogenes*. Je souhaite donc répéter cette étude en concentrant les tests sur les biofilms de *L. monocytogenes*. Les essais évalueront l'impact de ces molécules sur la formation des biofilms ainsi que sur les biofilms préformés. Les conditions de culture varieront en fonction du scénario envisagé : Bouillon marin (MB) pour les étapes précoces de la chaîne de production ou milieu Bouillon soja tryptone (TSB) pour les étapes tardives. De plus, dans un contexte d'aquaculture, notamment aux premières étapes de la chaîne de production, certains pisciculteurs, comme dans la filière truite, utilisent des bains de vinaigre pour décontaminer les poissons. Il serait pertinent d'étendre nos études sur l'efficacité des désinfectants en incluant ces solutions vinaigrées, appliquées cette fois-ci sur des surfaces biotiques telles que celles des poissons. Pour ce faire, une collaboration avec l'Anses de Ploufragan, qui possède une expertise en pisciculture, pourrait s'avérer très utile. Pour ces études, j'aimerais évaluer l'impact des désinfectants naturels sur la formation des biofilms à l'aide de techniques complémentaires telles que la microscopie, avec des marquages live/dead, des outils moléculaires tels que la qPCR et la PMAqPCR et des technologies innovantes en développement, telles que la microscopie Raman DIP afin de distinguer les différentes formes de viabilité des *L. monocytogenes* (formes cultivables, VNC, ou mortes).

IX.D. Le réchauffement climatique

Le réchauffement climatique représente un défi croissant pour la sécurité alimentaire, notamment en influençant la prolifération et la distribution de *Vibrio* entéropathogènes et *L. monocytogenes*. Ces bactéries sont particulièrement sensibles aux changements de température et d'autres conditions environnementales. **Mes recherches futures viseront donc à comprendre comment le réchauffement climatique et les changements des écosystèmes tout le long de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture affectent la prolifération, la résistance et la virulence de *Vibrio* entéropathogènes et *L. monocytogenes* dans les aliments.**

Pour répondre à cet objectif de recherche, nous adopterons une approche intégrée combinant des études de terrain, des analyses en laboratoire et des collaborations avec les acteurs de la filière de la pêche et de l'aquaculture. Tout d'abord, des campagnes d'échantillonnage seront menées à différentes étapes de la chaîne de production (de l'environnement aquacole et du milieu marin jusqu'au produit fini), en tenant compte des conditions climatiques changeantes, notamment les variations de température, de salinité et de pH des eaux. Ces paramètres seront essentiels pour comprendre comment le réchauffement climatique influence la prolifération des *Vibrio* entéropathogènes dans ces milieux. Plusieurs types de prélèvement seront réalisés (organismes marins, aliments, eau, biofilm...) Ensuite, nous analyserons ces échantillons pour identifier les souches de *Vibrio* entéropathogènes présentes, en évaluant leur niveau de virulence et leur résistance aux antibiotiques, à l'aide de méthodes phénotypiques (antibiogramme) et moléculaires telles que le séquençage et la qPCR. Ces analyses nous permettront d'établir des liens entre les conditions environnementales et la présence de ces pathogènes dans les produits alimentaires.

En parallèle, nous travaillerons en étroite collaboration avec les producteurs d'aquaculture et les pêcheurs pour comprendre comment les pratiques d'aquaculture (utilisation d'antibiotiques, nettoyage des bassins, etc.) et de pêche influencent la prolifération des *Vibrio* entéropathogènes dans les élevages. Ce travail inclura également une étude sur les traitements post-récolte, pour évaluer l'impact des processus de transformation sur la survie des bactéries dans les aliments.

Sur la base de nos analyses phénotypiques et génétiques sur les souches isolées, nous sélectionnerons des conditions environnementales (température, pH, salinité, type de surface) où nous avons identifié une présence importante de *Vibrio* entéropathogènes résistants (idéalement Multi résistants) et virulents. Nous reproduirons ensuite en laboratoire ces conditions environnementales, en cultures planctoniques et/ou en biofilm, afin de faire des études de transcriptomique des gènes de virulence et de résistance que nous avons majoritairement identifiés. Pour cela nous mettront au point des RTqPCR. Comme mentionné précédemment (section IX.B.1), une perspective intéressante serait également d'étudier le rôle des biofilms dans le transfert horizontal des GRA et des gènes de virulence. Ce transfert sera examiné au sein des populations de *V. parahaemolyticus* (transfert intraespèce) mais aussi entre

différentes espèces bactériennes (transfert interspèce). Pour cela, je propose de cultiver des biofilms *in vitro* en reproduisant les conditions identifiées lors des campagnes de prélèvement favorisant la prolifération de *Vibrio* entéropathogènes résistants et virulents (pH, CO₂ atmosphérique, température, type de surface). Nous mesurerons ensuite la transférabilité des gènes de résistance et de virulence à des souches réceptrices, comprenant d'autres *Vibrio* entéropathogènes et diverses espèces bactériennes provenant de flores non pathogènes ou pathogènes pour l'homme et/ou les organismes marins, toujours dans le but d'avoir une approche *One Health*. Dans ce cadre, une collaboration a été initiée avec l'Ifremer de Montpellier spécialisé dans l'étude de l'antibiorésistance des bactéries provenant des activités ostréicoles.

Concernant *L. monocytogenes*, un pathogène principalement associé aux environnements froids et aux aliments réfrigérés, les effets du réchauffement climatique peuvent être contre-intuitifs mais tout aussi préoccupants. Les températures plus élevées peuvent influencer les comportements de consommation et de stockage des aliments, augmentant ainsi les risques de contamination. De plus, *L. monocytogenes*, connu pour sa capacité à survivre dans des conditions variées, pourrait voir sa distribution géographique s'étendre, augmentant les risques de contamination alimentaire. Une de nos perspectives de recherches s'oriente donc à évaluer comment le réchauffement affecte la survie et la prolifération de *L. monocytogenes* dans différents contextes, en particulier dans les environnements de transformation des aliments et les chaînes du froid. Ainsi pour comprendre comment le réchauffement climatique et les changements des écosystèmes tout le long de la chaîne de production des produits de la pêche et de l'aquaculture affectent la prolifération de *L. monocytogenes* dans les aliments, nous commencerons par une campagne d'échantillonnage dans divers environnements de production et de transformation des produits de la pêche et de l'aquaculture, en ciblant différentes saisons pour capturer les variations liées aux températures et aux conditions climatiques. Ces prélèvements seront réalisés dans des installations situées dans des régions potentiellement affectées par le réchauffement climatique national et international, avec une attention particulière portée aux points critiques de la chaîne du froid, où *L. monocytogenes* pourrait se développer. Ensuite, les données collectées lors de cette campagne nous permettront d'identifier les conditions environnementales propices à la survie et à la prolifération de *L. monocytogenes*. Nous reproduirons ces conditions en laboratoire, où nous réaliserons des essais expérimentaux pour évaluer la réponse de *L. monocytogenes* à des paramètres spécifiques comme la température, l'humidité et la salinité. Ces essais incluront également l'étude de la formation de biofilms, un facteur clé dans la résistance de *L. monocytogenes* aux traitements de désinfection.

A plus long terme, l'idée serait de développer des modèles prédictifs pour évaluer les risques liés à ces pathogènes dans un contexte de changement climatique. Ces modèles pourraient prendre en compte les variations de température, de salinité, de pH, et d'autres paramètres environnementaux, ainsi que les

interactions complexes avec d'autres espèces microbiennes et les pratiques humaines. Ce modèle permettrait de prévoir les zones géographiques à risque accru vis-à-vis de ces pathogènes.

IX.E. Aliments et contenants alimentaires nouveaux

Avec l'évolution des habitudes alimentaires et des préoccupations environnementales, de nouvelles pratiques telles que l'utilisation d'emballages réutilisables et l'introduction de nouveaux aliments prennent de l'ampleur. **Une de mes perspectives de recherche sera d'évaluer l'impact de tendances émergentes, telles que la consommation accrue d'algues et l'utilisation d'emballages réutilisables, sur le risque de contamination par *Vibrio* entéropathogènes et *L. monocytogenes*. L'objectif sera d'identifier les mesures de contrôle les plus efficaces pour garantir la sécurité alimentaire dans ces nouveaux contextes.**

Pour évaluer le risque associé au réemploi des emballages alimentaires, une des premières actions consistera à réaliser une étude d'occurrence des *Vibrio* entéropathogènes et de *L. monocytogenes* à partir d'emballages réutilisés tout au long de la chaîne de production des produits de la pêche, depuis les caisses de manutention utilisées en industrie jusqu'aux emballages chez les particuliers. Une fois cette étude réalisée, nous pourrons évaluer la capacité de formation des biofilms par ces pathogènes sur les différents types de surfaces rencontrées dans les emballages réutilisables. Un autre aspect à examiner sera la transférabilité des contaminations microbiennes de la surface des emballages aux aliments. Enfin, nous testerons la performance de différentes méthodes de nettoyage et de désinfection pour éliminer ces contaminations microbiennes des emballages réutilisables. Nous envisagerons de comparer les procédures de nettoyage et de désinfection industrielles avec celles adaptées au grand public, comme celles réalisées avec des lave-vaisselle domestiques.

Dans cette optique, nous avons soumis une demande de financement auprès de l'ANR France 2030 dans le cadre du projet TRANSCONTAFOOD.

Concernant nos perspectives sur l'évaluation du risque associé à la contamination par *Vibrio* entéropathogènes et *L. monocytogenes* dans les nouveaux aliments, nous concentrerons nos recherches sur les algues. Ces dernières, de plus en plus prisées en tant que super-aliments et ingrédients durables, comme la spiruline (Giri et al., 2023), connaissent une croissance significative. En 2022, la production mondiale d'algues a atteint 38 millions de tonnes (poids humide), dont 97 % provenaient de l'aquaculture. Cette production représente une augmentation de 4 % par rapport à 2020, poursuivant ainsi la forte croissance des dernières décennies, avec seulement 12 millions de tonnes en 2000 (FAO, 2024).

Dans un premier temps, nous réaliserons une étude sur l'occurrence des contaminations par *Vibrio* entéropathogènes et *L. monocytogenes* dans différents échantillons d'algues provenant des différentes étapes de la chaîne de production (production, transformation, distribution). Les souches isolées seront typées et analysées en termes de résistance et de virulence pour évaluer leur potentiel de dangerosité pour les consommateurs. Dans un second temps, nous évaluerons l'impact des processus de transformation des algues sur la prolifération de ces pathogènes, ainsi que sur leurs résistances et virulences. Nous chercherons à identifier les points critiques pour prévenir la contamination et garantir la sécurité des produits finis vis-à-vis de ces pathogènes.

X. PERSPECTIVES STRATEGIQUES

X.A. Ouverture à l'international

Nombreuses de mes perspectives de recherche reposent sur des collaborations avec des partenaires internationaux. Cette ouverture à l'international de mon laboratoire me tient particulièrement à cœur. En effet, l'ouverture à l'international d'une équipe de recherche présente de nombreux avantages. Tout d'abord, elle permet de s'enrichir des expériences et du savoir-faire d'autres laboratoires, favorisant

ainsi l'acquisition de nouvelles compétences techniques et scientifiques. Elle renforce également notre capacité à aborder des problématiques complexes sous des angles diversifiés, en intégrant des perspectives issues de différents contextes environnementaux et réglementaires. De plus l'internationalisation accroît aussi la visibilité de notre laboratoire sur la scène scientifique mondiale, attirant des collaborations de haut niveau, des financements internationaux, et des talents étrangers, permettant des échanges d'idées, de techniques et de technologie.

Dans ce cadre, j'ai initié deux collaborations que je souhaite développer de manière durable. La première est avec la Professeure Sophie Leterme de l'Université de Flinders et concerne mes perspectives de recherche sur l'étude des *Vibrio* entéropathogènes suivant l'approche *One Health* (section IX.B.3). Cette collaboration revêt une importance particulière pour plusieurs raisons. Tout d'abord, la Professeure Leterme est la directrice de l'ARC Training Centre for Biofilm Research and Innovation, un institut de renommée internationale. De plus, elle possède une expertise sur les écosystèmes marins, un domaine où notre laboratoire de Boulogne-sur-Mer présente des lacunes. Elle maîtrise également plusieurs techniques avancées en santé animale, telles que la mesure de la virulence bactérienne sur des modèles d'huîtres en bassin d'essai P2, des compétences et des techniques que nous ne pouvons pas mettre en œuvre à Boulogne-sur-Mer. La seconde collaboration est avec le Dr Timothy Ells, chercheur à Agriculture et Agroalimentaire Canada (Agriculture and Agri-Food Canada) et concerne nos perspectives de recherche sur *L. monocytogenes*. Agriculture et Agroalimentaire Canada est également un centre d'excellence de renommée internationale. Timothy Ells possède une expertise sur *L. monocytogenes* dans la filière végétale, ce qui est un atout précieux pour une approche holistique et multifilière de la recherche sur ce pathogène. De plus, Timothy Ells maîtrise plusieurs techniques innovantes, notamment l'impact de cycles répétés de désinfection sur les biofilms de *L. monocytogenes*.

J'ai également initié des échanges avec le Dr Mamadou Diop de l'École Supérieure Polytechnique de Dakar (Sénégal) dans le cadre de nos perspective de recherche sur l'étude des *Vibrio* entéropathogènes suivant l'approche *One Health* (section IX.B.3). Le partenariat avec le Sénégal revêt une importance stratégique majeure, en raison des conditions climatiques particulières du pays. Situé dans une zone déjà chaude, le Sénégal est confronté à des problématiques sanitaires qui pourraient préfigurer les défis futurs pour la France et d'autres pays européens, à mesure que le réchauffement climatique progresse. En collaborant étroitement avec des institutions sénégalaises, nous avons l'opportunité d'étudier et de comprendre des enjeux sanitaires qui deviendront de plus en plus pertinents en France et en Europe, notamment en ce qui concerne les agents pathogènes émergents telles que les *Vibrio* entéropathogènes et l'évolution de la RAM dans un contexte de changement climatique. De plus, ce partenariat est d'une importance stratégique pour des raisons économiques et productives. Contrairement à l'Europe, qui a connu une stabilité relative de sa production aquatique ces dernières décennies, l'Afrique, et en particulier le Sénégal, a vu sa production mondiale d'animaux aquatiques dans le secteur de la pêche et

de l'aquaculture augmenter de manière significative, doublant presque au cours des 20 dernières années (Figure 15). Cette croissance rapide suggère que l'Afrique pourrait devenir un fournisseur clé de produits de la pêche et de l'aquaculture à l'échelle mondiale dans les années à venir. Par conséquent, il est crucial de mettre en place une surveillance sanitaire robuste dans ces régions pour anticiper et gérer les risques sanitaires liés à cette expansion.

Plus largement, la collaboration avec l'Australie, le Canada, et le Sénégal nous offrira des opportunités pour réaliser nos perspectives de recherche concernant l'antibiorésistance (section IX.A) , en comparant les résultats que nous avons obtenus en Manche et Mer du Nord avec ceux d'autres continents concernant la pertinence de nos indicateurs de l'antibiorésistance et les sources de contamination que nous avons identifiées. Cela nous permettra d'acquérir une vision mondiale de ces enjeux.

À court terme, je souhaite que l'ensemble de ces partenariats internationaux offre également des opportunités d'échanges de chercheurs et de formations, permettant à nos équipes de se familiariser avec de nouvelles technologies et pratiques de pointe, et d'accroître leur expertise dans des domaines spécifiques.

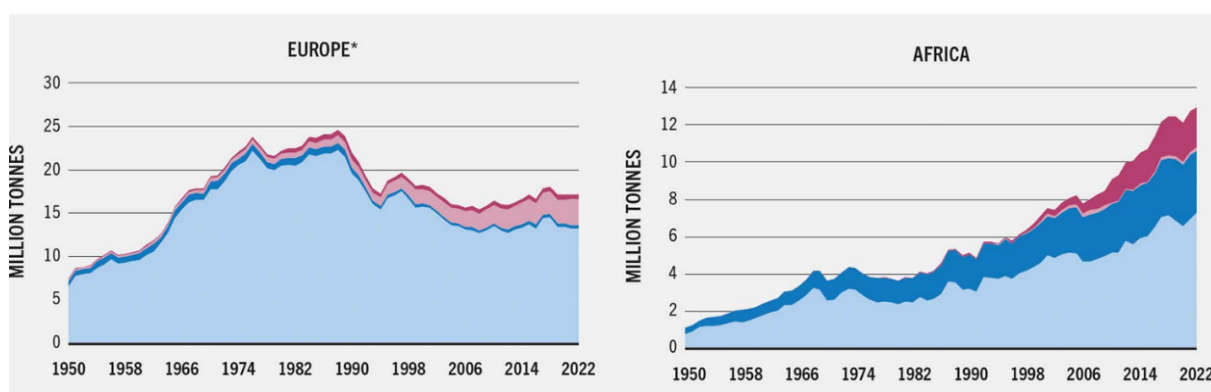


Figure 15 : Production mondiale d'animaux aquatiques dans le secteur de la pêches et de l'aquaculture en Europe et en Afrique, 1950-2022. * L'Europe comprend des données pour l'Union des républiques socialistes soviétiques pour les années 1950-1991. (FAO, 2024)

X.B. Organisation d'un congrès

Dans le cadre des efforts de mon laboratoire pour promouvoir une compréhension globale des risques associés aux produits de la mer, une de mes perspectives est d'organiser un congrès consacré à la qualité et à la sécurité de ces produits. Un format assez similaire avait déjà été organisé par le passé par Anne Brisabois (ancienne directrice du site de Boulogne sur Mer) le 17-18-19 juin 2015 avec le

Colloque Qualité Sécurité des produits Aquatiques. Cet événement que je souhaiterais organiser pourrait avoir une portée nationale ou internationale, visant à rassembler des experts, des chercheurs, des autorités compétentes (telles que la DGAL), et des professionnels de l'industrie pour discuter des défis et des avancées dans ce domaine. L'objectif principal du congrès serait de couvrir l'ensemble des contaminants pouvant affecter les produits de la pêche, qu'ils soient biologiques ou chimiques. Pour garantir une couverture exhaustive et approfondie de ces thématiques, j'aimerais collaborer étroitement avec mes collègues du laboratoire de Boulogne-sur-Mer, qui possèdent une expertise précieuse et complémentaire dans ces domaines. Pour le volet sur *Vibrio*, je pourrai faire appel à ma collègue Stéphanie Copin, responsable du LNR *Vibrio*, qui pourrait fournir des points de référence sur les aspects législatifs et de surveillance. Pour le volet parasitologie, je solliciterai Mélanie Gay et Maureen Duflot, dont les travaux sur les parasites aquatiques et leur impact sur la santé humaine sont largement reconnus. Elles pourraient diriger les sessions dédiées à l'identification, la surveillance et la maîtrise du risque lié aux parasites dans les produits de la mer, en mettant l'accent sur les dernières techniques de détection et les stratégies de prévention. En ce qui concerne les contaminants chimiques, Alexandre Dehaut et Guillaume Duflos seront invités à organiser ce volet. Leur expertise en analyse des contaminants chimiques, tels que les microplastiques sera essentielle pour explorer les méthodes de détection et les impacts potentiels sur la santé humaine et l'environnement. De même, nos collègues de l'Anses de Maisons-Alfort pourraient être sollicités, notamment Adrien Assere, chef du LRUE, pour discuter des aspects de référence concernant *L. monocytogenes*, accompagné de Léna Barre, responsable du LNR *Listeria*. Nous pourrions également demander la participation de Petru Jitaru, chef de l'Unité Éléments Traces et Nanomatériaux, qui travaille notamment sur la contamination des produits de la pêche par les métaux lourds. Jean-Charles Leblanc, spécialiste des biotoxines marines, pourrait également être invité à cet événement.

.

XI. APPRENTISSAGE SUR LES RELATIONS HUMAINES

Il me semble important d'aborder mon apprentissage sur les relations humaines dans mon HDR, car au-delà des compétences scientifiques, le succès d'une carrière académique repose en grande partie sur la capacité à collaborer, à encadrer ou manager des équipes, et à communiquer efficacement avec des collègues, des étudiants, et des partenaires extérieurs. Ces compétences interpersonnelles sont selon moi essentielles pour mener à bien des projets de recherche. En partageant cette dimension de mon parcours, je souhaite souligner l'importance de ces aspects souvent négligés, mais pour moi fondamentaux voire essentiels dans le développement d'une carrière équilibrée et réussie.

XI.A. L'encadrement et le management

Depuis plus de dix ans, j'encadre des stagiaires de Master 2 et depuis quatre ans, je supervise des doctorants (avec deux thèses soutenues et quatre en cours de réalisation). Ces expériences ont été et sont extrêmement enrichissantes et formatrices. En travaillant avec des jeunes chercheurs à des étapes

importantes de leur parcours académique, j'ai appris l'importance de l'écoute active et de l'empathie. Ces compétences sont essentielles selon moi pour comprendre leurs besoins, leurs aspirations et les défis qu'ils rencontrent. Mon rôle d'encadrant m'a poussé à développer une communication claire et constructive, afin de fournir des retours précis et encourageants, tout en aidant à surmonter les obstacles rencontrés lors de leurs projets de recherche. J'ai également appris à ajuster mon comportement et mes attentes à chaque encadré.

L'encadrement des doctorants et des stagiaires implique deux éléments primordiaux selon moi. Le premier est de convenir de tâches réalisables adaptées à leurs compétences pour éviter la frustration, et les encourager au maximum pour qu'ils dépassent leurs limites. Le second est une planification rigoureuse, veillant à ce que les objectifs soient atteints tout en maintenant un équilibre entre rigueur scientifique et flexibilité. Evidemment, cela présente des difficultés et cela m'a permis de développer mes compétences en résolution de problèmes et en prise de décision en temps réel, souvent nécessaires lors de l'encadrement.

Le mentorat des doctorants et des stagiaires m'a appris l'importance de soutenir leur développement professionnel et personnel. Offrir des opportunités de formation, de participation à des conférences et de publication de leurs travaux est, selon moi, essentiel pour leur croissance. En les guidant dans la construction de leur réseau professionnel et en les préparant aux défis de la carrière scientifique, j'essaie de contribuer à leur avenir tout en enrichissant ma propre expérience. J'encourage activement les étudiants à surmonter leur timidité et à sortir de leur zone de confort, par exemple, en les incitant à discuter avec d'autres scientifiques et à présenter leurs travaux lors des congrès. Mon expérience m'a également appris à toujours mettre l'humain avant la science, car il est facile de se laisser entraîner par la frénésie de la recherche et de vouloir toujours travailler plus. Je suis convaincu que lorsque l'esprit avance, la science suit, mais la réciproque n'est pas forcément vraie. Au fil des années, j'ai eu trop de conversations avec des collègues traumatisés par leur expérience de thèse avec des encadrants tyranniques. Pour moi, le véritable échec d'une thèse peut résider ici.

Récemment, suite au départ de notre cheffe d'unité Graziella, j'ai pris des fonctions de management d'une équipe de recherche. Cette expérience s'est révélée riche et passionnante. J'ai appris que diriger une équipe ne se limite pas à la gestion de projets scientifiques, mais implique également la création d'un environnement propice à la motivation, à la créativité et à la croissance personnelle. Mon expérience dans le rugby m'a enseigné l'importance de la cohésion et du partage des valeurs, que j'essaie d'appliquer également dans mon rôle de chef d'équipe. Exprimer clairement mes idées et mes ressentis est nécessaire selon moi pour une communication efficace au sein de l'équipe, favorisant ainsi un climat de confiance. J'ai également appris à ne jamais réagir sous le coup de l'émotion.

Les compétences que j'ai développées en encadrant des doctorants, des stagiaires sont directement applicables au management : l'écoute active, l'empathie, la planification stratégique, l'allocation des ressources, la définition d'objectifs clairs et réalisables, ainsi que la supervision attentive de leur mise en œuvre.

Pour l'avenir, tant dans l'encadrement que dans le management, je souhaite continuer à développer le partage et la cohésion, comme dans une équipe de rugby. Cela inclut de partager non seulement les victoires, mais aussi les défaites. Je souhaite créer des moments où nous pouvons célébrer ensemble nos succès, tels que les publications, tout en encourageant mes collègues à partager leurs difficultés et leurs ressentis. Je pense que cette approche contribuera à renforcer les liens au sein de l'équipe et à promouvoir un environnement de travail où chacun se sent soutenu et motivé.

Enfin, mon expérience dans l'encadrement et le management m'a appris l'importance de la gratitude et de la reconnaissance. Je m'efforce de ne jamais être avare de compliments sincères et de remercier régulièrement les membres de mon équipe pour leurs efforts et leurs réussites. J'ai le sentiment que cette approche non seulement renforce leur motivation et leur engagement, mais elle contribue également à créer un environnement de travail positif et respectueux. J'ai le sentiment que la reconnaissance des contributions de chacun, aussi petites soient-elles, valorise le travail accompli et encourage une culture de soutien mutuel et de collaboration au sein de l'équipe. Selon moi cette reconnaissance ne doit pas se limiter aux encadrés mais aussi à nos propres managers. Je rajouterai que « *Les études corrélationnelles et les recherches expérimentales montrent que les individus ayant un niveau élevé d'orientation reconnaissante sont plus heureux, énergiques, optimistes, empathiques, ont davantage tendance à émettre des comportements prosociaux, sont plus enclins à penser que le monde est juste envers eux, éprouvent davantage d'émotions positives (joie, émerveillement...), rapportent moins de troubles physiques communs (migraines, maux de ventre, acné, toux), de symptômes anxieux, dépressifs et de sentiments de solitude, d'envie ou de frustration* » (Lyubomirsky, 2001; Shankland and Martin-Krumm, 2012).

XI.B. Construction de partenariat

À travers mes expériences dans le domaine de la recherche, j'ai appris que la construction de partenariats efficaces ne repose pas uniquement sur des objectifs scientifiques communs, mais également sur des affinités humaines et des valeurs partagées. Collaborer avec d'autres chercheurs ou institutions n'est pas simplement une question de mise en commun de compétences ou de ressources ; c'est aussi une question de confiance mutuelle, de respect et d'engagement personnel. Il est important, avant même de débiter un projet collaboratif, de s'assurer que les relations humaines sont solides. Une bonne collaboration scientifique repose sur une compréhension et une appréciation mutuelles entre les

partenaires. Cette dimension humaine est cruciale car elle influence non seulement la qualité de la coopération, mais aussi la durabilité et le succès du partenariat. Un intérêt scientifique partagé peut certes être le catalyseur initial, mais c'est le soutien mutuel, la communication ouverte et la capacité à résoudre les conflits qui garantiront le bon déroulement du projet.

Dans le cadre de la construction de partenariats scientifiques, j'ai donc appris qu'il est crucial de privilégier les collaborations avec des personnes avec lesquelles un lien de confiance solide s'est déjà établi, ou qui manifestent une véritable volonté d'engagement. Cette approche assure que les interactions ne sont pas seulement productives, mais aussi harmonieuses, ce qui est fondamental pour surmonter les défis des projets de recherche. Mon expérience m'a également révélé que certains scientifiques peuvent être motivés principalement par des intérêts personnels. Il est donc essentiel de collaborer avec des partenaires qui sont conscients de **l'importance du bénéfice mutuel dans une collaboration**.

Mon expérience en collaboration m'a également révélé qu'une exigence envers les autres ne peut être crédible que si elle est accompagnée d'une même rigueur personnelle. En d'autres termes, pour que nos attentes et exigences envers nos partenaires de travail soient respectées et justifiées, nous devons nous montrer tout aussi exigeants envers nous-mêmes. Travailler avec des individus qui imposent des normes strictes aux autres tout en se montrant laxistes envers eux-mêmes peut non seulement créer des tensions, mais aussi compromettre la qualité du travail collectif.

Mon expérience m'a également enseigné qu'un partenariat réussi est également fondé sur des objectifs communs clairement définis et une vision partagée. Les attentes doivent être alignées dès le départ, avec une compréhension mutuelle des rôles, des responsabilités et des contributions de chaque partie. Cette clarté permet d'éviter les malentendus et de maximiser les synergies entre les partenaires. En outre, la construction d'une relation collaborative requiert également de la flexibilité et de l'ouverture. Les projets scientifiques sont souvent sujets à des changements et à des ajustements en cours de route. Il est donc important que les partenaires soient prêts à adapter leurs stratégies et leurs approches en fonction des nouvelles informations et des évolutions du projet.

XII. CONCLUSION

Je souhaite conclure ce mémoire en partageant une réflexion globale sur mon parcours de chercheur, tout en présentant l'évolution que je souhaite donner à mes travaux futurs. Mes recherches de ces dernières années se sont concentrées sur les risques bactériens liés à la consommation des produits de la pêche et de l'aquaculture, en particulier autour de trois axes principaux : l'antibiorésistance, les *Vibrio* entéropathogènes, et *L. monocytogenes*, ce dernier ayant occupé une place centrale.

L. monocytogenes, pathogène majeur en sécurité alimentaire, a constitué le fil rouge de mes études. Mes recherches ont révélé plusieurs points importants, notamment la faible occurrence de ce pathogène sous forme cultivable dans la filière, mais une présence significative de sous-populations viables mais non cultivables (VNC) dans les aliments transformés et sur les surfaces traitées avec des désinfectants. Cela montre l'importance considérable des outils utilisés pour leur détection et leur élimination, soulignant ainsi la nécessité de repenser certaines pratiques de contrôle sanitaire dans les environnements industriels. De plus, l'analyse de la diversité génétique de ce pathogène a révélé une grande variabilité de CCs dans la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture, avec la présence de CCs ayant des prédispositions à la persistance et un faible nombre d'isolats appartenant à des CCs hypervirulents.

En parallèle, mes travaux sur les *Vibrio* entéropathogènes, notamment *V. parahaemolyticus*, ont pris une importance croissante. Ce pathogène, intrinsèquement lié aux écosystèmes marins, a vu son occurrence augmenter, particulièrement en raison des changements climatiques qui favorisent sa prolifération dans

les eaux côtières. Mes recherches ont montré une prévalence élevée de la RAM parmi les populations de *V. parahaemolyticus* isolées des produits de la pêche et de l'aquaculture importés en France. Couplée à la virulence intrinsèque de certaines souches, cette résistance fait de *Vibrio* un pathogène émergent à suivre avec une attention particulière. Mes travaux ont également montré l'adaptation de ce pathogène face aux résidus de désinfectants couramment utilisés dans l'industrie des produits de la mer et de l'aquaculture. Ce constat souligne la nécessité d'optimiser les stratégies de contrôle pour mieux maîtriser ce micro-organisme.

Mon troisième axe de recherche, centré sur l'antibiorésistance dans le milieu marin, a mis en évidence une forte occurrence de la RAM dans les environnements marins de la Manche et de la mer du Nord, probablement exacerbée par l'anthropisation. Ce phénomène représente un défi majeur non seulement pour la santé humaine, mais également pour la santé des écosystèmes marins et de leurs composantes/habitants/ êtres vivants.

Ces travaux ont permis d'enrichir les connaissances scientifiques dans ces domaines, tout en contribuant à l'élaboration de recommandations pratiques. Les résultats de mes recherches ont éclairé les professionnels des filières concernées sur les bonnes pratiques de contrôle microbiologique, contribuant ainsi à l'élaboration de guides et de protocoles visant à renforcer la sécurité sanitaire des aliments.

Aujourd'hui, je souhaite poursuivre ces trois axes de recherche, tout en mettant davantage l'accent sur les *Vibrio* entéropathogènes et l'antibiorésistance, qui représentent des enjeux cruciaux pour l'avenir. Le réchauffement climatique accentue l'émergence des *Vibrio* entéropathogènes, avec des impacts sur la sécurité alimentaire et la santé humaine, mais aussi sur les écosystèmes et la santé animale. Il devient primordial d'adopter une approche intégrée en lien avec le concept *One Health*, qui prend en compte les interactions complexes entre les santés humaine, animale et environnementale. Mon objectif prioritaire est de développer cette approche globale dans mes recherches, en collaborant étroitement avec des experts en santé animale et en écologie marine. Cela permettra de mieux comprendre l'impact des contaminants microbiens sur toute la chaîne alimentaire et de cibler les points critiques où la transmission de ces pathogènes peut être réduite. En prenant en compte ces interconnexions, une telle approche interdisciplinaire permettra de formuler des stratégies de prévention adaptées aux défis actuels et futurs, tant au niveau local qu'international.

Pour relever ces défis majeurs, je souhaite continuer les collaborations récemment établies et renforcer la formation par la recherche en poursuivant l'encadrement d'étudiants de Master 2, de doctorants et de postdoctorants.

XIII. PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES

Mes travaux ont abouti à la rédaction de 35 articles scientifiques, comprenant 4 chapitres de livre, 3 guides, 3 publications destinées aux professionnels et au grand public, ainsi que 25 articles publiés dans des revues internationales à comité de lecture, dont 12 en tant que premier ou dernier auteur. En août 2024, mes travaux ont été cités 556 fois, avec un indice h de 12 et un indice h10 de 15 (selon Google Scholar).

J'ai participé à 38 communications orales, dont 28 présentées par moi-même, ainsi qu'à 50 communications affichées.

XIII.A. Rédaction de chapitres d'ouvrages

2024

- Midelet G, **Brauge T** & Faille C (2024). Cross-contamination of food by contaminated surfaces. *Prevention of the biological contamination of food*. ISTE Editions. Wiley <http://dx.doi.org/10.1002/9781394299188.ch1>
- **Brauge T**, Faille C & Midelet G (2024). Commercial methods for the detection of surface bacterial contamination in the food industry. *Prevention of the biological contamination of food*. ISTE Editions. Wiley <http://dx.doi.org/10.1002/9781394299188.ch3>

2022

- **Brauge T**, Copin S, Gay M & Midelet G (2022). Bacterial and parasitic hazards in processed seafood. *Hazards in the food processing chain*. ISTE Editions. Wiley <https://doi.org/10.1002/9781394173822.ch2>

2021

- **Brauge T**, Hanin A, La Carbona S & Midelet G (2021). Use of biocides in the fishery products sector. *Disinfectant biocides in the food industry*. Lavoisier pp.87-104, 2021, 978-2-7430-2597-7. [Biocides désinfectants en agroalimentaire - Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail \(hal.science\)](#)

XIII.B. Guides

2023

- Midelet G, Barre L, Assere A, Lombard B & **Brauge T** (2023) EURL Lm Technical guidance document on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes* <https://zenodo.org/doi/10.5281/zenodo.8042073>

2021

- Hermon C, Midelet-Bourdin G, Denis C, André S, Boutillier A-L, **Brauge T**, Frémaux B, Guilbaud M, Faille C & Oulahal N (2021) Guideline for good sampling practices in the food industry. *RMT Actia CHLEAN-Guide sur les bonnes pratiques de prélèvement de surfaces en IAA*. [Surface sampling - ACTIA \(actia-asso.eu\)](#)
- **Brauge T**, Brisabois A & Midelet G (2021), OPINION and REPORT from Anses on “Antibiotic resistance and the environment - State and possible causes of environmental contamination in France by antibiotics, antibiotic resistant bacteria and genetic supports of antibiotic resistance, Contamination of coastal waters by antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes”. [EAUX2016SA0252Ra.pdf \(anses.fr\)](#)

XIII.C. Publications à destination des professionnels et du grand public

2021

- **Brauge T**, Soumet C, Hanin, A & Midelet G (2021), Resistance of *Listeria monocytogenes* to cleaning and disinfection procedures in the seafood industry, *Revue Industrie agro-alimentaire (IAA)*.

2019

- Bernard L & **Brauge T** (2019) *Listeria monocytogenes*: Gare aux viable non cultivables, *L'actualité de l'industrie agroalimentaire (Magazine RIA)*
- **Brauge T**, Midelet G & Gulbaud M (2019) Methods for the detection and quantification of pathogenic bacteria in the food industry. *Revue IAA*.

XIII.D. Publications dans des revues internationales à comité de lecture

2024

- Merda D, Vila-Nova M, Bonis M, Boutigny A-L, **Brauge T**, Cavaiuolo M, Cuntz A, Regnier A, Sayeb M, Vingadassalon N, Yvon C & Chesnais V (2024) Unraveling the impact of genome assembly on bacterial typing: A *One Health* perspective. *BMC Genomics*. Doi: <http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-4692225/v1>.
- Bourdonnais E, Briet A, **Brauge T**, Debuiche S, Helsens N, Granier S.A, & Midelet G (2024) Antimicrobial susceptibility profile and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from imported shrimps. *Microbiol Spectr* 12: e0017524. Doi: <https://doi.org/10.1128/spectrum.00175-24>.
- **Brauge T**, Bourdonnais E, Trigueros T, Cresson P, Debuiche S, Granier S & Midelet G (2024) Antimicrobial resistance and geographical distribution of *Staphylococcus* sp. isolated from whiting (*Merlangius merlangus*) and seawater in the English Channel and the North sea. *Environmental Pollution*: 123434. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123434>.
- Bourdonnais E, Le Bris C, **Brauge T** & Midelet, G. (2024) Monitoring indicator genes to assess antimicrobial resistance contamination in phytoplankton and zooplankton communities from the English Channel and the North Sea. *Frontiers in Microbiology*: 15 – 2024. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1313056>
- Bourdonnais E, Le Bris C, **Brauge T** & Midelet G (2024) Tracking antimicrobial resistance indicator genes in wild flatfish from the English Channel and the North Sea area: A one health concern. *Environmental Pollution* **343**: 123274. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.123274>
- **Brauge T**, Mougin J, Ells T & Midelet G (2024) Sources and contamination routes of seafood with human pathogenic *Vibrio* spp.: A Farm-to-Fork approach. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **23**: 1-25. Doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13283>.
- Mougin J, Whiley H, Leterme S, Best G, Ells T, Joyce A, Midelet G & **Brauge T** (2024) Benzalkonium chloride disinfectant residues stimulate biofilm formation and increase survival of *Vibrio* bacterial pathogens. *Front Microbiol* **14**. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1309032>.

2023

- Felix B, Capitaine K, Te S, Felten A, Gillot G, Feurer C, van den Bosch T, Torresi M, Sréterné Lancz Z, Delannoy S, **Brauge T**, Midelet G, Leblanc J.C & Roussel S (2023) Identification by high-throughput real-time PCR of 30 major circulating *Listeria monocytogenes* clonal complexes in Europe. *Microbiol Spectr*: e03954-03922. Doi: <https://doi.org/10.1128/spectrum.03954-22>.
- **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Capitaine K, Felix B & Midelet G (2023) Genetic population structure of *Listeria monocytogenes* strains isolated from salmon and trout sectors in France. *Heliyon* **9**: e18154. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18154>.
- Trigueros S, **Brauge T**, Dedole T, Debuiche S, Rebuffel V, Morales S, Marcoux P.R & Midelet G (2023) Deuterium isotope probing (DIP) on *Listeria innocua*: Optimisation of labelling and impact on viability state. *PLoS One* **18**: e0280885. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280885>.

2022

- Bourdonnais E, **Brauge T**, Debuiche S, Le Bris C & Midelet G (2022) Evaluation of bacterial DNA extraction methods on marine samples integrating a process control. *Mol Biol* **11**. Doi: <https://doi.org/10.37421/2168-9547.2022.11.346>.
- Delannoy S, Hoffer C, Youf R, Dauvergne E, Webb H.E, **Brauge T**, Tran M.-L, Midelet G, Granier S.A, Haenni M, Fach P & Brisabois A (2022) High throughput screening of antimicrobial resistance genes in Gram-negative seafood bacteria. *Microorganisms* **10**: 1225. Doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061225>.
- Bourdonnais E, Colcanap D, Le Bris C, **Brauge T** & Midelet G. (2022a) Occurrence of indicator genes of antimicrobial resistance contamination in the English Channel and North sea sectors and interactions with environmental variables. *Front Microbiol*: 1750. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.883081>.

2021

- **Brauge T**, Trigueros S, Briet A, Debuiche S, Leleu G, Gassilloud B, Wilhelm A, Py J-S & Midelet G (2021) MALDI-TOF Mass spectrometry fingerprinting performance versus 16S rDNA sequencing to identify bacterial microflora from seafood products and sea water samples. *Front Mar Sci* **8**. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.650116>.
- Dufлот M, Setbon T, Midelet G, **Brauge T** & Gay M. (2021) A review of molecular identification tools for the opisthorchioidea. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106258>.

2020

- Faille C, **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2020) Comparison of the performance of the biofilm sampling methods (swab, sponge, contact agar) in the recovery of *Listeria monocytogenes* populations considering the seafood environment conditions. *Int J Food Microbiol* **325**: 108626. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108626>.
- Palma F, **Brauge T**, Radomski N, Mallet L, Felten A, Mistou M.-Y, Brisabois A, Guillier L & Midelet-Bourdin G (2020) Dynamics of mobile genetic elements of *Listeria monocytogenes* persisting in ready-to-eat seafood processing plants in France. *BMC Genom* **21**: 130. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6544-x>.
- **Brauge T**, Faille C, Leleu G, Denis C, Hanin A & Midelet G (2020) Treatment with disinfectants may induce an increase in viable but non culturable populations of *Listeria monocytogenes* in biofilms formed in smoked salmon processing environments. *Food Microbiol*: 103548. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103548>.
- **Brauge T**, Barre L, Leleu G, André S, Denis C, Hanin A, Frémaux B, Guilbaud M, Herry J-M, Oulahal N, Anger B, Soumet C & Midelet G (2020) European survey and evaluation of sampling methods recommended by the standard EN ISO 18593 for the detection of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on industrial surfaces. *FEMS microbiology letters* **367**: fnaa057. Doi: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa057>.

2019

- **Brauge T**, Midelet-Bourdin G & Soumet C (2019) Viability detection of foodborne bacterial pathogens in food environment by PMAqPCR and by microscopic observation. *Methods Mol Biol* **1918**: 117-128. Doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9000-9_9

2018

- **Brauge T**, Faille C, Inglebert G, Dubois T, Morieux P, Slomianny C & Midelet-Bourdin G (2018) Comparative evaluation of DNA extraction methods for amplification by qPCR of superficial vs intracellular DNA from *Bacillus* spores. *Int J Food Microbiol* **266**: 289-294. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.012>.
- **Brauge T**, Faille C, Sadovskaya I, Charbit A, Benezech T, Shen Y, Loessner MJ, Bautista JR & Midelet-Bourdin G (2018) The absence of *N*-acetylglucosamine in wall teichoic acids of *Listeria monocytogenes* modifies biofilm architecture and tolerance to rinsing and cleaning procedures. *PLoS One* **13**: e0190879. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190879>.

- Cleach J, Watier D, Le Fur B, **Brauge T**, Duflos G, Grard T & Lencel P (2018) Use of ratiometric probes with a spectrofluorometer for bacterial viability measurement. *J Microbiol Biotechnol*. Doi: <https://doi.org/10.4014/jmb.1804.04048>.

2016

- Bonnin-Jusserand M, Copin S, Le Bris C, **Brauge T**, Gay M, Brisabois A, Grard T & Midelet-Bourdin G (2017) *Vibrio* species involved in seafood-borne outbreaks (*Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus*): review of microbiological versus recent molecular detection methods in seafood products. *Crit Rev Food Sci Nutr*. Doi: <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1384715>.
- **Brauge T**, Sadovskaya I, Faille C, Benezech T, Maes E, Guerardel Y & Midelet-Bourdin G (2016) Teichoic acid is the major polysaccharide present in the *Listeria monocytogenes* biofilm matrix. *FEMS Microbiol*. Doi: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv229>.

XIII.E. Communications orales dans des congrès nationaux et internationaux

➤ Communications orales invités (Présentateur)

2024

- **Brauge T et Copin S** (2024) *V. parahaemolyticus* et antibiorésistance. Journée pour la Santé, l'Environnement et la Microbiologie 2024 - Ifremer Centre de Nantes, France.
- **Brauge T** (2024) Antibiorésistance dans le milieu marin : focus dans la Manche et la mer du Nord. SFM, Lille, France.

2023

- **Brauge T** (2023) Antibiorésistance et produits de la mer. Journée pour la Santé, l'Environnement et la Microbiologie 2023 - Ifremer Centre de Nantes, France.

2018

- **Brauge T**, Faille C, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2018) Impact de biocides appliqués en entreprise agro-alimentaire sur la viabilité cellulaire de *Listeria monocytogenes* en biofilm. SFM, Paris, France.

➤ Communications orales (Présentateur)

2024

- Abedini D, Dikec J, Debuiche S, Ducloux O, Gay M, Midelet G, Marcoux PR & **Brauge T** (2024) Détermination de l'état de viabilité de *Listeria monocytogenes* et *Vibrio parahaemolyticus*, par microspectroscopie Raman-DIP. *SFM, Lille, France*.
- Bellay M, Fremaux B, Hanin A, Duquet B, Leleu G, Midelet G, Soumet C, Chesnais V, Bridier A & **Brauge T** (2024) Occurrence, diversité génétique et capacité de formation de biofilms des souches de *Listeria monocytogenes* issues de trois filières agroalimentaires. *SFM, Lille, France*.
- Lorenzo Colina I, **Brauge T**, Meyniel JP, Durand B, Roussel S & Chesnais V (2024) Nettoyer pour Innover : Améliorer la qualité des données publiques de pathogènes alimentaires pour une utilisation optimale dans des modèles d'IA. *SFM, Lille, France*.
- Regnier A, Chesnais V, Debuiche S, Gay M, Midelet G & **Brauge T** (2024). Antibiotic Resistance of *Vibrio parahaemolyticus* Strains Isolated from Seafood Products. *International Association for Food Protection (IAFP) Europe, Genève, Suisse*
- Mougin J, Midelet G, Leterme S, Best G, Ells T, Joyce A, Whiley H & **Brauge T** (2023) Benzalkonium Chloride Disinfectant Residues Stimulate Biofilm Formation and Increase Survival of *Vibrio* Bacterial Pathogens. *IAFP Europe, Genève, Suisse*

2023

- Midelet G, Barre L, Assere A, Lombard B & **Brauge T** (2023) Revision of EURL Lm “Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes*. *17th EURL workshop of the NRLs for Listeria monocytogenes, Paris, France*
- Mougin J, Whiley H, Leterme S, Best G, Joyce A, Midelet G & **Brauge T** (2023) Induction of *Vibrio* biofilm formation by Benzalkonium chloride. *AQUACULTURE EUROPE 2023, Vienna, Austria*.
- Bourdonnais E, Le Bris C, **Brauge T** & Midelet G (2023) Monitoring of Antimicrobial Resistance Indicator Genes in a Benthic Food Web in the English Channel and the North Sea. *IAFP Europe, Aberdeen, Ecosse*
- Duqué B, Michel A, Gravey F, Midelet G, **Brauge T**, Leleu G, Debuiche S, Colas A, Soumet C, Anger B, Bourgault E, Le Hello S & Hanin A (2023) Biofilm-Associated Traits and Tolerance to Didecyldimethylammonium Chloride are Involved in Enhanced Ability of *Listeria monocytogenes* to Persist in Seafood Processing Environments. *IAFP Europe, Aberdeen, Ecosse*

2022

- Trigueros S, Dedole T, **Brauge T**, Debuiche S, Rebuffel V, Marcoux PR & Midelet G (2022) Detection of the Viable But Non-Culturable State (VBNC) of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* induced by biocide stress using Raman microspectroscopy. *IAFP USA, Pittsburgh, Pennsylvania, USA*
- Trigueros S, **Brauge T**, Dedole T, Debuiche S, Rebuffel V, Marcoux PR & Midelet G (2022) Deuterium isotope probing (DIP) on *Listeria innocua*: optimisation of labelling and impact on viability state. *IAFP USA, Pittsburgh, Pennsylvania, USA*
- Trigueros S, **Brauge T**, Dedole T, Debuiche S, Rebuffel V, Marcoux PR & Midelet G (2022) Deuterium isotope probing (DIP) on *Listeria innocua*: optimisation of labelling and impact on viability state. *Symposium Fouling and Cleaning in Food Processing (FCFP) 2022, Lille, France*
- **Brauge T**, Trigueros S, Briet A, Debuiche S, Leleu G, Gassilloud B, Wilhelm A, Py JS & Midelet G (2022) Comparaison des performances de la spectrométrie de masse MALDI-TOF et du séquençage de l'ADNr 16S pour identifier la microflore bactérienne de produits de la mer et d'échantillons d'eau de mer. *Rencontres scientifiques de l'Anses, Maisons-Alfort, France*
- **Brauge T**, Leleu G, Colas A & Midelet G (2022) Impact of disinfectants neutralizing buffers used for sampling methods on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in monospecies biofilm. *IAFP Europe, Munich, Allemagne*
- **Brauge T**, Leleu G, Colas A & Midelet G (2022) Impact of disinfectants neutralizing buffers used for sampling methods on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in monospecies biofilm. *IAFP USA, Pittsburgh, Pennsylvania, USA*
- **Brauge T**, Leleu G, Felix B, Capitaine K & Midelet G (2022) Population genetic structure of *Listeria monocytogenes* strains isolated from salmon and trout products and in food plants in France. *IAFP Europe, Munich, Allemagne*
- **Brauge T**, Leleu G, Felix B, Capitaine K & Midelet G (2022) Population genetic structure of *Listeria monocytogenes* strains isolated from salmon and trout products and in food plants in France. *IAFP, Pittsburgh, Pennsylvania, USA*
- Bourdonnais E, Colcanap D, Le Bris C, **Brauge T** & Midelet G (2022) Occurrence of indicator genes of antimicrobial resistance contamination in the North Sea and English Channel seawaters. *RIF 2022, 8e Rencontres de l'Ichtyologie en France, Paris, France*

- Bourdonnais E, Colcanap D, Le Bris C, **Brauge T** & Midelet G (2022) Occurrence of indicator genes of antimicrobial resistance contamination in the North Sea and English Channel seawaters. *4th One Health European Joint Programme Annual Scientific Meeting, Orvieto, Italie.*
- Bourdonnais E, Colcanap D, Le Bris C, **Brauge T** & Midelet G (2022) Occurrence of indicator genes of antimicrobial resistance contamination in the North Sea and English Channel seawaters. *FEMS Conference on Microbiology, Belgrade, Serbie*
- **Brauge T**, Leleu G, Colas A & Midelet G (2022) Impact of disinfectants neutralizing buffers used for sampling methods on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in monospecies biofilm. *16th EURL workshop of the NRLs for Listeria monocytogenes, Porto, Portugal*

2021

- **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2021) Impact of disinfectant stress on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in biofilm and on their transfer from surfaces to food. *One Health European Joint Programme Annual Scientific Meeting, virtual meeting.*
- **Brauge T** (2021) Les contaminants dans les produits de la pêche. *Fêtes de la mer, Boulogne sur Mer, France*
- **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2021) Impact des désinfectants sur la viabilité de *Listeria monocytogenes* cultivée en biofilm et sur leur transfert des surfaces aux aliments. *Journée RMT Chlean, virtual meeting.*
- **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2021) Impact des désinfectants sur la viabilité de *Listeria monocytogenes* cultivée en biofilm et sur leur transfert des surfaces aux aliments. *Journée Critt Agro-Alimentaire et Biotechnologies, virtual meeting.*

2020

- **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2020) Impact of disinfectant stress on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in biofilm and on their transfer from surfaces to food. *One Health European Joint Programme Annual Scientific Meeting, virtual meeting.*

- **Brauge T** & Midelet G (2020) A la recherche de *Listeria monocytogenes* dans les ateliers de transformation. *Journée Merieux, Nantes, France*
- **Brauge T** & Midelet G (2020) Revision of EURL Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes*. *14th EURL workshop of the NRLs for Listeria monocytogenes, Paris, France*

2019

- **Brauge T** & Midelet G (2019) Comparison of sampling techniques from food processing surfaces for enumeration of *Listeria monocytogenes*. *14th EURL workshop of the NRLs for Listeria monocytogenes, Paris, France*
- **Brauge T** & Midelet G (2019) Impact de différents stress rencontrés en entreprise de transformation du poisson sur la viabilité et la croissance de *Listeria monocytogenes* et de la flore annexe pour une meilleure connaissance des risques microbiologiques associés aux produits de la mer. *Journées Maîtriser Listeria dans la filière des produits aquatiques, Boulogne sur Mer, France*
- **Brauge T**, **Cresson P**, Trigueros S, Briet A, Denamiel M, Rouquette M & Bourdin G (2019) RESCAPE : Antibiotic resistance in marine fish – Influence of trophic and environmental parameters. *2èmes journées scientifiques Manche Mer du Nord, Lille, France*
- **Brauge T** (2019) Les bactéries dans les produits de la pêche. *Fêtes de la mer, Boulogne sur Mer, France*

2018

- **Brauge T**, Faille C, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2018) Impact de biocides appliqués en entreprise agro-alimentaire sur la viabilité cellulaire de *Listeria monocytogenes* en biofilm. *SFM, Paris, France*.
- **Brauge T**, Faille C, Sadovskaya I, Charbit A, Benezech T, Shen Y, Loessner MJ, Bautista JR & Midelet-Bourdin G (2018) The absence of *N*-acetylglucosamine in wall teichoic acids of *Listeria monocytogenes* modifies biofilm architecture and tolerance to rinsing and cleaning procedures. *IAFP Europe, Stockholm, Sweden*.

2017

- **Brauge T**, Faille C, Sadvovskaya I, Charbit A, Benezech T, Shen Y, Loessner MJ, Bautista JR & Midelet-Bourdin G (2017) Rôle de la glycosylation de l'acide téichoïque par le *N*-acétylglucosamine sur la formation et le détachement des biofilms de *Listeria monocytogenes*, *Bioadh2017, Bouray sur Juine, France*
- **Brauge T**, Faille C, Sadvovskaya I, Charbit A, Benezech T, Shen Y, Loessner MJ, Bautista JR & Midelet-Bourdin G (2017) Rôle de la glycosylation de l'acide téichoïque par le *N*-acétylglucosamine sur la formation et le détachement des biofilms de *Listeria monocytogenes*, *8^e colloques du réseau national biofilms, Clermont-Ferrand, France*
- **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C, Faille C & Midelet G (2017) Comparison of methods for recovering microorganisms from industrial surface used in the seafood industries. *Microbial spoilers in food, Quimper, France*.

2016

- **Brauge T**, Bautista JR, Leleu G, Faille C & Midelet-Bourdin G (2016) Quantification des populations viables (cultivables et non-cultivables) de *Listeria monocytogenes* après nettoyage, *SFM, Paris, France*

XIII.E.1. Communications affichées dans des congrès nationaux et internationaux

2024

- Soumet C, Pissavin C, Anger B, Bridier A, Debuiche S, Leleu G, **Brauge T**, Midelet G & Hanin A (2024) May biocides treatment and use of materials containing silver ions significantly reduce risk of *Listeria monocytogenes* or *Vibrio parahaemolyticus* biofilms? *European Hygienic Engineering & Design Group (EHEDG), Nantes, France*
- Dikec J, Abedini D, Debuiche S, Dubois T, Faille C & **Brauge T** (2024) Mise au point de la détection des cellules Viable Non Cultivable (VNC) de bactéries pathogènes par un système innovant de microspectroscopie Raman couplé à un marquage isotopique (Raman SIP). *SFM, Lille, France*.
- Regnier A, Chesnais V, Debuiche S, Gay M, Midelet G & **Brauge T** (2024). Analyse du RESISTOME du MOBILOME et du VIRULOME de *Vibrio parahaemolyticus* isolées de produit pêche importés en France. *SFM, Lille, France*.
- Régnier A, Chesnais V, Debuiche S, Gay M, Midelet G & **Brauge T** (2024) Analyse du RESISTOME et du MOBILOME de *Vibrio parahaemolyticus* isolées de produit de

la pêche et de l'aquaculture importés en France. *Journée Régionale des Doctorants en Sciences de la Mer et Automatique, Boulogne sur Mer, France.*

- Bellay M, Leleu G, Debuiche S, Dumaire C, Midelet G, Gay M, Bridier A & **Brauge T** (2024) Occurrence, diversité génétique et capacité de formation de biofilms des souches de *Listeria monocytogenes* issues de la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture. *Journée Régionale des Doctorants en Sciences de la Mer et Automatique, Boulogne sur Mer, France.*
- Abedini D, Dikec J, Debuiche S, Ducloux O, Marcoux P.R, Gay M & **Brauge T** (2024) Identification de bactéries pathogènes *Listeria monocytogenes* et *Vibrio parahaemolyticus* et détermination de leur état de viabilité par microspectroscopie Raman couplée au marquage isotopique. *Journée Régionale des Doctorants en Sciences de la Mer et Automatique, Boulogne sur Mer, France.*
- **Brauge T**, Leleu G, Colas A & Midelet G (2024) Impact of disinfectants neutralizing buffers used for sampling methods on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in monospecies biofilm. *IAFP Europe, Genève, Suède.*
- Capitaine K, Te S, Guidi F, H. Plodková, S. Lueth, T. Mathisen Fagereng, Plodková H, Lueth S, Mathisen Fagereng T, Skerjald T, Ricao M, Agren P, Sréterné Lancz Z, van Hoek A, Jacobs W, Guedes H, Nieto Almeida G, Feurer C, Houry B, Michel V, Fontaine E, **Brauge T**, Dumaire C, Bourdonnais E, Ciupescu L, Marti E, Gillot G, Félix B (2024) European Inter-Laboratory Validation Trial on a multiplex real-time PCR method allowing the identification of 30 major Clonal Complexes of *Listeria monocytogenes* circulating in food in Europe. *FoodMicro 2024, Burgos, Espagne.*

2023

- Bourdonnais E, Colcanap D, Le Bris C, **Brauge T** & Midelet G (2023) Occurrence of Indicator Genes of Antimicrobial Resistance Contamination in the North Sea and English Channel Seawaters. *IAFP Europe, Aberdeen, Ecosse*
- Midelet G, Pissavin C, Leleu G, Colas A, Debuiche S, Hanin A, Vambalhoven M, Lucas C & **Brauge, T.** (2023) Impact of Silver-Containing Surfaces on *Listeria monocytogenes* Biofilm. *IAFP Europe, Aberdeen, Ecosse*
- Duqué B, Levert D, Midelet G, **Brauge T**, Soumet C, Pissavin C & Hanin A (2023) Low Temperatures Alter the Antimicrobial Activity of Silver Ions in Treated Surfaces. *IAFP Europe, Aberdeen, Ecosse*

- **Brauge T**, Whiley H, Leterme S, Ells T, Best G, Joyce A, Midelet G & Mougin J (2023) Induction of *Vibrio* biofilm formation by Benzalkonium chloride. *SFM, Rennes, France*.
- Pissavin C, Soumet C, Peree D, Vambalhoven M, Lucas C, Hanin A, **Brauge T** & Midelet G (2023) Efficacité de différents biocides et des ions argent sur la formation de biofilms de *Listeria monocytogenes* et *Vibrio parahaemolyticus*. *SFM, Rennes, France*.
- Trigueros S, Dedole T, **Brauge T**, Rebuffel V, Morales S, Marcoux PR & Midelet G (2023) Mesure du métabolisme sur cellules uniques par microspectroscopie Raman : application à la détection de l'état viable non cultivable. *SFM, Rennes, France*.
- Bourdonnais E, Colcanap D, Le Bris C, **Brauge T** & Midelet G (2023) Suivi de gènes indicateurs de résistance aux antimicrobiens dans un réseau trophique marin de la Manche et Mer du Nord. *SFM, Rennes, France*.

2022

- **Brauge T**, Leleu G, Colas A, Debuiche S & Midelet G (2022) Antimicrobial activity of silver-containing surfaces on *Listeria monocytogenes* biofilm. *FoodMicro 2022, Athens, Grèce*
- **Brauge T**, Leleu G, Colas A, Debuiche S & Midelet G (2022) Antimicrobial activity of silver-containing surfaces on *Listeria monocytogenes* biofilm. *One Health European Joint Programme Annual Scientific Meeting, Orvieto, Italie*.
- **Brauge T**, Trigueros S, Bourdonnais E, Cresson P, Granier S & Midelet G (2022) Antimicrobial resistance of *Staphylococcus* isolated from frozen Horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *FoodMicro 2022, Athens, Grèce*
- **Brauge T**, Trigueros S, Bourdonnais E, Cresson P, Granier S & Midelet G (2022) Antimicrobial resistance of *Staphylococcus* isolated from frozen Horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *FEMS Conference on Microbiology, Belgrade, Serbie*.
- Trigueros S, **Brauge T**, Dedole T, Debuiche S, Rebuffel V, Morales S, Marcoux PR & Midelet G (2022) Evaluation of *Listeria innocua* viability with Raman microspectroscopy after incorporation of heavy water (D₂O). *FEMS Conference on Microbiology, Belgrade, Serbie*.
- Trigueros S, Dedole T, **Brauge T**, Rebuffel V, Morales S, Marcoux PR & Midelet G (2022) Impact of environmental stresses on the viability state of *Listeria monocytogenes*

and *Listeria innocua* detected by Raman microspectroscopy, molecular biology and microbiology techniques. *IAFP USA, Pittsburgh, Pennsylvania, USA*

- Duqué B, Gravey F, **Brauge T**, Lefevre M, Sonnet E, Leleu G, Le Hello S, Soumet C, Bridier A, Midelet G & Hanin A (2022) Whole Genome Sequencing-Based Typing of *Listeria monocytogenes* Isolated from Seafood and Production Environments. *IAFP USA, Pittsburgh, Pennsylvania, USA*
- Duqué B, Gravey F, **Brauge T**, Lefevre M, Sonnet E, Leleu G, Le Hello S, Soumet C, Bridier A, Midelet G & Hanin A (2022) Whole Genome Sequencing-Based Typing of *Listeria monocytogenes* Isolated from Seafood and Production Environments. *IAFP Europe, Munich, Allemagne*

2021

- Bourdonnais E, **Brauge T**, Le Bris C, Debuiche S & Midelet G (2021) Evaluation of bacterial DNA extraction methods by integrating a process control in complex marine samples. *Third One Health European Joint Programme Annual Scientific Meeting, virtual meeting*
- Bourdonnais E, **Brauge T**, Le Bris C, Debuiche S & Midelet G (2021) Evaluation of bacterial DNA extraction methods by integrating a process control in complex marine samples. *SFM, Nantes, France*.
- Copin S, Raguenet V, **Brauge T**, & Midelet G (2021) Performance de trois systèmes de PCR quantitative pour la recherche de *Vibrio parahaemolyticus*. *SFM, Nantes, France*.
- **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2021) Impact of disinfectant stress on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in biofilm and on their transfer from surfaces to food. *SFM, Nantes, France*
- **Brauge T**, Leleu G, Colas A, Barre L & Midelet G (2021) Impact of disinfectants neutralizing buffers used for sampling methods on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in monospecies biofilm. *IAFP Europe, virtual meeting*.
- Trigueros S, **Brauge T**, Debuiche S, Rebuffel V, Marcoux PR & Midelet G (2021) Effect of heavy water incorporation on the viability on *Listeria innocua*. *IAFP Europe, virtual meeting*.
- **Brauge T**, Cresson P, Granier S, Trigueros S, A Briet, Denamiel M, Rouquette M & Midelet G (2021) Tracking antibioresistance in a North Sea largely harvested fish species: origin, drivers and human health issues. *SFM, Nantes, France*

2020

- **Brauge T**, Cresson P, Granier S, Trigueros S, A Briet, Denamiel M, Rouquette M & Midelet G (2020) Tracking antibioresistance in a North Sea largely harvested fish species: origin, drivers and human health issues. *2nd One Health European Joint Programme Annual Scientific Meeting, virtual meeting.*

2019

- **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2019) Impact of disinfectant stress on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in biofilm and on their transfer from surfaces to food. *ISOPOL, Toronto, Canada*
- **Barre L**, **Brauge T**, Midelet G & Lombar B (2019) Evaluation of sampling methods recommended by the Standard ISO 18593 to investigate *Listeria monocytogenes* biofilms from food processing surfaces *ISOPOL, Toronto, Canada*
- Briet A, Helsens N, **Brauge T**, Guillier L, Debuiche S, Brisabois A, Granier S & Midelet G (2019) Antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus*. *ARAE, Tours, France*
- **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2019) Impact of disinfectant stress on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in biofilm and on their transfer from surfaces to food. *ISOPOL, Toronto, Canada*
- **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2019) Impact of disinfectant stress on the viability of *Listeria monocytogenes* cells in biofilm and on their transfer from surfaces to food. *SFM, Nantes, France*
- **Brauge T**, Barre L, Leleu G, André S, Denis C, Hanin A, Frémaux B, Guilbaud M, Herry J-M & Oulahal N (2019) Évaluation des méthodes de prélèvement recommandées selon la norme ISO 18593 : 2018 pour la détection et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* en biofilm sur les surfaces de transformation alimentaire. *SFM, Paris, France*

2018

- **Brauge T**, Hanin A, Leleu G, Gassilloud B, Denis C & **Midelet G** (2018) Characterization of bacterial diversity in smoked salmon-processing environments. *Foodmicro, Berlin, Allemagne*

- **Brauge T**, Faille C, Sadvovskaya I, Charbit A, Benezzech T, Shen Y, Loessner MJ, Bautista JR & Midelet-Bourdin G (2018) The absence of *N*-acetylglucosamine in wall teichoic acids of *Listeria monocytogenes* modifies biofilm architecture and tolerance to rinsing and cleaning procedures. *Foodmicro, Berlin, Allemagne*
- **Brauge T**, Faille C, Leleu G, Hanin A, Denis C, & Midelet G (2018) Impact of biocides on viability of *Listeria monocytogenes* population in biofilm and on efficiency of recovery methods used in food environment. *Foodmicro, Berlin, Allemagne*
- Midelet-Bourdin G, Soumet C, **Brauge T**, Pain M, Leleu G, Anger-Lemaitre B, Denis C & Hanin A (2018) Surface materials and environmental microbiota affect recovery of *Listeria monocytogenes* in multispecies biofilms after biocide treatment. *Foodmicro, Berlin, Allemagne*
- Trigueros S, **Brauge T**, Briet A, Debuiche S, Gassilloud B & Midelet G (2018) Identification de souches bactériennes environnementales : MALDI-TOF vs séquençage ADNr 16S. *SFM, Paris, France*

2017

- Roussel V, Leleu G, Denis C, **Brauge T**, Midelet G, Soumet C & Hanin A (2017) Characterization of bacterial diversity in shrimp-processing environments. *Microbial spoilers in food, Quimper, France*
- Midelet G, **Brauge T**, Prost M, Burgau O, Gay M & Faille C (2017) Bacterial contamination of *Anisakis simplex* larvae isolated from hake. *Microbial spoilers in food, Quimper, France*
- Faille C, **Brauge T**, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2017) Comparison of methods for recovering microorganisms from industrial surface used in the seafood industries. *SFM, Paris, France*
- **Brauge T**, Faille C, Leleu G, Hanin A, Denis C & Midelet G (2017) Impact of biocides on viability of *Listeria monocytogenes* population in biofilm and on recovery methods used in food environment. *SFM, Paris, France*
- **Brauge T**, Faille C, Sadvovskaya I, Charbit A, Benezzech T, Shen Y, Loessner MJ, Bautista JR & Midelet-Bourdin G (2017) Rôle de la glycosylation de l'acide téichoïque par le *N*-acétylglucosamine sur la formation et le détachement des biofilms de *Listeria monocytogenes*, *Bioadh2017, SFM, Paris, France*

2016

- **Brauge T**, Couvreur C, Leleu G, Hanin A, Denis C, La Carbona S & Midelet-Bourdin G (2016) Quantification of viable but non culturable cells of *Listeria monocytogenes* using quantitative PCR, on seafood processing environment samples. *ISOPOL, Paris, France*
- **Brauge T**, Sadovskaya I, Faille C, Benezech T, Maes E, La Carbona S, Guérardel Y & Midelet-Bourdin G (2016) Exopolysaccharide characterization of extracellular matrix of *Listeria monocytogenes* biofilm. *ISOPOL, Paris, France*
- **Brauge T**, Faille C, Sadovskaya I, Charbit A, Bautista JR & Midelet-Bourdin G (2016) Role of teichoic acid from adhesion to 48h-biofilm formation of *Listeria monocytogenes* Réseau National Biofilm (RNB), Toulouse, France

XIV. ENCADREMENTS

Au cours de ma carrière, j'ai encadré six doctorants, dont deux ont soutenu leur thèse en 2022. J'ai également supervisé trois chargés de projet, quatre techniciens, et sept stagiaires, dont six en stage de fin de cycle d'ingénieur et/ou de Master 2

XIV.A. Chercheurs et chercheuses en doctorat (co-encadrements)

➤ Mme Marion Gouyette (2023 - 2026)

Chercheuse en doctorat à l'Adria Quimper

Co encadrement : Mélanie Gay (Anses), Nicolas. Nguyen Van Long (ADRIA) et Guillaume GILLOT (ADRIA)

« Impact de l'état physiologique de *L. monocytogenes* sur ses capacités de croissance »

Objectifs :

- Inclure la notion d'histoire cellulaire ou état physiologique des souches de *Listeria monocytogenes* dans les tests de croissance réalisés au laboratoire afin de rendre compte du réel risque de ce pathogène dans le saumon fumé.

- Déterminer les paramètres de croissance et utiliser des biomarqueurs transcriptomiques pour identifier des « signatures de stress » à reproduire dans les tests de croissance sur le saumon fumé réalisés au laboratoire.
- Moduler l'état physiologique de l'inoculum après exposition à différentes conditions plus ou moins stressantes.
- Étudier les stress correspondant aux paramètres stressants lors de la fabrication du saumon fumé (température, AW et fumée).

➤ Mr Antoine Regnier (2022 - 2025)

Chercheur en doctorat dans l'unité SANAQUA

Co encadrement : Mélanie Gay (Anses)

« Analyses du MOBILOME, VIRULOME et RESISTOME de *V. parahaemolyticus* isolées de produits de la mer en lien avec des caractéristiques phénotypiques »

Objectifs :

- Etude de la capacité de *V. parahaemolyticus* à former des biofilms
- Analyse de la résistance phénotypique aux antibiotiques de *V. parahaemolyticus*
- Analyse de la résistance phénotypique aux désinfectants de *V. parahaemolyticus*
- Analyse du MOBILOME, VIRULOME et RESISTOME de *V. parahaemolyticus*

➤ Mr Darius Abedini (2023 - 2026)

Chercheur en doctorat dans l'unité SANAQUA

Co encadrement : Pierre Marcoux (CEA) et Mélanie Gay (Anses)

« Identification de bactéries pathogènes et détermination de leur état de viabilité par microspectroscopie Raman couplée au marquage isotopique »

Objectifs :

- Mise au point de la spectroscopie Raman-DIP pour la mesure des états de viabilité (VC, VNC, mort) de *Listeria monocytogenes* et *Vibrio parahaemolyticus* induit par des stress rencontrés en atelier de transformation agroalimentaire

- Mise au point de l'identification des *Listeria monocytogenes* et *Vibrio parahaemolyticus* en monoculture et culture complexe par spectroscopie Raman-DIP
- Association du Raman-DIP pour l'identification et pour la mesure de l'état de viabilité de bactéries stressées

➤ Mme Maylis Bellay (2023 - 2026)

Chercheuse en doctorat dans l'unité SANAQUA

Co encadrement : Arnaud Bridier (Anses) et Mélanie Gay (Anses)

« Rôle des interactions écologiques dans la colonisation des surfaces et la survie de *Listeria monocytogenes* sur la chaîne alimentaire: Une approche multi-filières »

Objectifs :

- Caractérisation des souches de *L. monocytogenes*, des conditions environnementales et des flores annexes associées dans les filières des produits végétaux, de la pêche et de la charcuterie
- Evaluer l'impact de la flore annexe sur la formation et la résistance des biofilms de *L. monocytogenes* en conditions industrielles
- Identification par méta-analyses et par l'association des marqueurs génétiques de l'ensemble des facteurs extrinsèques influençant la présence/absence de *L. monocytogenes*

➤ Mr Erwan Bourdonnais (2019 - 2022)

Chercheur en doctorat dans l'unité B3PA

Co encadrement : Graziella Midelet (Anses)

« Etude des gènes de résistance aux antibiotiques d'intérêt clinique au sein d'un réseau trophique marin et impact en santé humaine »

Objectifs :

- Développer des outils de biologie moléculaire pour l'étude ciblée de gènes de résistance aux antimicrobiens

- Etudier l'occurrence des gènes indicateurs *tetA*, *bla_{TEM}*, *sul1* et *intI1* dans les eaux de surface
 - Etudier l'occurrence des gènes indicateurs *tetA*, *bla_{TEM}*, *sul1* et *intI1* dans un réseau trophique benthique
 - Identifier de nouveaux gènes de résistance aux antibiotiques par la mise au point d'une méthode de métagénomique fonctionnelle
- Mr Sylvain Trigueros (2019 - 2022)
Chercheur en doctorat dans l'unité B3PA
Co encadrement : Pierre Marcoux (CEA) et Graziella Midelet (Anses)
- « Mesure du métabolisme par microspectroscopie Raman : Application à la détection des cellules viables non cultivables de *Listeria* »

Objectifs :

- Validation de l'innocuité de l'eau lourde sur la viabilité de *L. innocua* et sélection d'une condition de marquage métabolique optimale au D₂O.
- Évaluation des performances du Raman-DIP pour la mesure du métabolisme de *L. innocua* et *L. monocytogenes* après exposition à un désinfectant relié à l'état de viabilité des populations bactériennes.
- Application du Raman-DIP à l'évaluation de l'impact de facteurs environnementaux rencontrés en entreprises agro-alimentaires, sur le métabolisme et la viabilité de *L. innocua* et *L. monocytogenes*.

XIV.B. Chargés de projets et post doctorants

- Mr Jonathan Dikec (2024 - 2025)
Chercheur en post doctorat dans l'unité B3PA – Projet VIBRATO
- Eglantine Chalivat (Août 2024 à Janvier 2025)
Chargée de projet scientifique et technique – Projet LRUE
- Guylaine Leleu (2015 – Présent)
Assistante ingénieur dans l'unité B3PA – Divers projets de recherche

XIV.C. Techniciens

- Sabine Debuiche (2015 – Présent)

Technicienne de recherche dans l'unité B3PA – Divers projets de recherche

- Cécile Dumaire (2023 – Présent)

Technicienne de recherche dans l'unité B3PA – Divers projets de recherche

- Clemence Couvreur (2015 – 2017)

Technicienne de recherche dans l'unité B3PA – Divers projets de recherche

- Anthony Colas (2020 – 2021)

Technicien de recherche dans l'unité B3PA – Divers projets de recherche

XIV.D. Stagiaires

- Eglantine Chalivat (Février - Juillet 2024)

École de Biologie Industrielle (EBI) – Etudiante Ingénieur

« Capacité de *V.parahaemolyticus* à former des biofilms en conditions industrielles en lien avec son
RESISTOME »

- Darina Colcanap (Mars - Septembre 2021)

*Université de Bretagne Occidentale et Ecole Supérieure d'Ingénieurs en Agroalimentaire de Bretagne
atlantique (ESIAB) – Etudiante Master 2 et Ingénieur*

« Etude de gènes de résistance aux antibiotiques dans le milieu marin »

- Benjamin Lacour (Janvier - Juin 2017)

Université Claude Bernard Lyon 1 – Etudiant Master 2 Biochimie-Biologie Moléculaire

« Mise au point d'une PMAqPCR pour la quantification de *Listeria monocytogenes* à partir de
prélèvements de surface provenant de l'industrie des produits de la pêche »

- Jean-Romain Bautista (Janvier - Juin 2019)

*L'Institut Agro Montpellier – Etudiant Master 2 Sciences et Procédés de l'Agro-alimentaire et de
l'Environnement*

« Fonctions des acides téichoïques et de leur ramification dans la formation et le détachement des biofilms de *Listeria monocytogenes* »

➤ Mathilde Prost (Janvier - Juin 2018)

Université de Bretagne Occidentale et Université de Rennes 1 – Etudiant Master Sciences, Technologies, Santé : Mention Microbiologie

« Etude des bactéries résistantes aux antibiotiques dans le milieu marin »

➤ Arnaud Chaigne (Janvier - Février 2014)

Université Lille 1 Sciences et Technologie - 2ème année DUT Génie Biologique,

« Etude de la fonction des acides téichoïques dans la formation des biofilms de *Listeria monocytogenes* »

➤ Johan Truy (Février - Mars 2014)

Université du littoral Côte d'Opale – Master IUP Qualité des Procédés Agroalimentaires et Halieutiques

« Etude de la fonction des acides téichoïques dans la formation des biofilms de *Listeria monocytogenes* »

XIV.E. Comité de suivi de thèses

Mme Liu Jingjing (2018-2021)

Chercheur en doctorat au Laboratoire Innovations thérapeutiques et résistances (INRAE/ENVT)

“Activity of antibiotics and non-antibiotics substances on *Staphylococcus aureus* biofilms”

XV. ACTIVITÉS CONNEXES

Si mes activités de recherche occupent la majeure partie de mon temps, je m'investis également dans d'autres types d'activités, connexes, qui nourrissent et sont nourries par mon travail de chercheur. Elles concernent mes missions dans le cadre d'expertise ou de groupes de travail, mais aussi de « reviewer » pour des journaux à comité de lecture ou encore comme chargé d'enseignement vacataire que je réalise en parallèle de mes activités à l'Anses. Ces activités sont présentées sous forme de trois sous-parties ci-après.

XV.A. Activité d'expertise et de conseil

Depuis 2017, en tant que membre du corps d'experts du pôle de compétitivité Aquimer, je contribue activement en fournissant des avis sur la labellisation de projets de recherche. Mon rôle consiste à évaluer la pertinence et la qualité des propositions soumises, participant ainsi à la sélection des initiatives les plus prometteuses.

Par ailleurs, début 2020, j'ai élargi mon engagement en rejoignant le conseil scientifique interne de la structure fédérative de recherche "Campus de la mer". Dans cette fonction, je suis impliqué dans la formulation d'avis éclairés sur les orientations stratégiques de la structure. En collaboration avec d'autres experts, nous contribuons à définir les priorités de recherche et à guider les choix qui façonnent le développement scientifique de cette entité. Cet investissement dans le conseil scientifique renforce ma participation active dans la communauté de recherche locale.

XV.B. Activité éditoriale

Depuis 2014, j'ai été sollicité à plusieurs reprises, par différentes revues scientifiques internationales à comité de lecture, pour être examinateur (« reviewer ») de différents travaux en lien avec mes thématiques de recherche. Ainsi, j'ai réalisé 7 révisions de manuscrits pour les revues suivantes : Applied microbiology and biotechnology (1), Biofilm (1), Biomolecules (2), BMC microbiology (2) et Environmental Science and Pollution Research (1).

Je suis également membre du comité de rédaction de la revue Ocean Microbiology, soutenue par BMC (BioMed Central).

XV.C. Enseignements et formations

En parallèle de mes activités de recherche, j'ai également réalisé des enseignements pour l'Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO), ainsi que des formations professionnelles pour le Centre de formation aux produits de la mer & de la terre (CFPMT) (Tableau 5).

Tableau 5 : Récapitulatif des enseignements et des formations dispensés

Années	Formation	Contenu	Heures CM	Heures TD	Heures TP
2020-2021	Formation opérateurs halieutiques du CFPMT	Formation en hygiène alimentaire des produits de la pêche (réglementation, bactériologie, parasitologie, et risque chimique).	22		
2019-2020	Formation opérateurs halieutiques du CFPMT	Formation en hygiène alimentaire des produits de la pêche (réglementation, bactériologie, parasitologie, et risque chimique).	34		
2018-2019	Formation Opérateurs halieutiques du CFPMT	Formation en hygiène alimentaire des produits de la pêche (réglementation, bactériologie, parasitologie, et risque chimique).	17		
2016-2017	DUT Génie biologique de l'ULCO	Microbiologie générale	0	0	14
2016-2017	M1 Qualité des procédés Agroalimentaire et Halieutiques (QPAH) de l'ULCO	Détection et identification par PCR de pathogènes alimentaires bactériens	0	2	14

XVI. REFERENCES

- Amato, E., Riess, M., Thomas-Lopez, D., Linkevicius, M., Pitkänen, T., Wołkowicz, T. et al. (2022) Epidemiological and microbiological investigation of a large increase in vibriosis, northern Europe, 2018. *Euro Surveill* **27**: 2101088. Doi: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2022.27.28.2101088>.
- ANSES (2019) Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments: Vibrions entéropathogènes: *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 et *Vibrio vulnificus*. In: ANSES Maisons-Alfort, France.
- Berendonk, T.U., Manaia, C.M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F. et al. (2015) Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature reviews microbiology* **13**: 310-317. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3439>.
- Bourdonnais, E. (2022) Étude des gènes de résistance aux antibiotiques d'intérêt clinique au sein d'un réseau trophique marin. Thèse de doctorat, Université du Littoral-Côte-d'Opale
- Bourdonnais, E., Briet, A., Brauge, T., Debuiche, S., Helsens, N., Granier, S.A., and Midelet, G. (2024) Antimicrobial susceptibility profile and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from imported shrimps. *Microbiol Spectr* **12**: e0017524. Doi: <https://doi.org/10.1128/spectrum.00175-24>.
- Brauge, T., Copin, S., Gay, M., and Midelet, G. (2022) Minimally Processed Seafood Products and Bacterial and Parasitic Hazards. *Hazards in the Food Processing and Distribution Chain*: 57. Doi: <https://doi.org/10.1002/9781394173822.ch2>.
- Brauge, T., Mougin, J., Ells, T., and Midelet, G. (2024a) Sources and contamination routes of seafood with human pathogenic *Vibrio* spp.: A Farm-to-Fork approach. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **23**: 1-25. Doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13283>.
- Brauge, T., Faille, C., Leleu, G., Denis, C., Hanin, A., and Midelet, G. (2020a) Treatment with disinfectants may induce an increase in viable but non culturable populations of *Listeria monocytogenes* in biofilms formed in smoked salmon processing environments. *Food Microbiol*: 103548. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103548>.
- Brauge, T., Leleu, G., Hanin, A., Capitaine, K., Felix, B., and Midelet, G. (2023) Genetic population structure of *Listeria monocytogenes* strains isolated from salmon and trout sectors in France. *Heliyon* **9**: e18154. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18154>.
- Brauge, T., Bourdonnais, E., Trigueros, S., Cresson, P., Debuiche, S., Granier, S.A., and Midelet, G. (2024b) Antimicrobial resistance and geographical distribution of *Staphylococcus* sp. isolated from whiting (*Merlangius merlangus*) and seawater in the English Channel and the North sea. *Environmental Pollution*: 123434. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123434>.
- Brauge, T., Faille, C., Sadovskaya, I., Charbit, A., Benezech, T., Shen, Y. et al. (2018) The absence of N-acetylglucosamine in wall teichoic acids of *Listeria monocytogenes* modifies biofilm architecture and

tolerance to rinsing and cleaning procedures. *PLoS One* **13**: e0190879. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190879>.

Brauge, T., Trigueros, S., Briet, A., Debuiche, S., Leleu, G., Gassilloud, B. et al. (2021) MALDI-TOF Mass Spectrometry Fingerprinting Performance Versus 16S rDNA Sequencing to Identify Bacterial Microflora From Seafood Products and Sea Water Samples. *Front Mar Sci* **8**. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.650116>.

Brauge, T., Barre, L., Leleu, G., André, S., Denis, C., Hanin, A. et al. (2020b) European survey and evaluation of sampling methods recommended by the standard EN ISO 18593 for the detection of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on industrial surfaces. *FEMS microbiology letters* **367**: fnaa057. Doi: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa057>.

Bridier, A., Soumet, C., Attig, I., Brauge, T., Midelet, G., Frémaux, B. et al. (2021) Biocides désinfectants en agroalimentaire. Lavoisier.

Briet, A. (2018) Étude de la flore bactérienne et de sa résistance aux antibiotiques des produits de la pêche et de l'aquaculture. Thèse de doctorat, Université du Littoral-Côte-d'Opale

Cappelier, J.M., Besnard, V., Roche, S.M., Velge, P., and Federighi, M. (2007) Avirulent Viable but Non Culturable cells of *Listeria monocytogenes* need the presence of an embryo to be recovered in egg yolk and regain virulence after recovery. *Veterinary Research* **38**: 573-583. Doi: <https://doi.org/10.1051/vetres:2007017>.

Carpentier, B., and Cerf, O. (2011) Review - Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *Int J Food Microbiol* **145**: 1-8. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.005>.

CNRVC, Centre national de référence des Vibrions et du Choléra. (2021) Rapport annuel d'activité 2021.

Cocconcelli, P.S., Cattivelli, D., and Gazzola, S. (2003) Gene transfer of vancomycin and tetracycline resistances among *Enterococcus faecalis* during cheese and sausage fermentations. *Int J Food Microbiol* **88**: 315-323. Doi: [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(03\)00194-6](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00194-6).

Cornu, M., Beaufort, A., Rudelle, S., Laloux, L., Bergis, H., Miconnet, N., ... & Delignette-Muller, M. L. (2006) Effect of temperature, water-phase salt and phenolic contents on *Listeria monocytogenes* growth rates on cold-smoked salmon and evaluation of secondary models. *Int J Food Microbiol*, 106(2), 159–168. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.017>

EFSA (2019) Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* clonal complex 8 infections linked to consumption of cold-smoked fish products. *EFSA Supporting Publications* **16**: 1665E. Doi: <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1665>.

EFSA (2021) The European union one health 2019 zoonoses report. *Efsa Journal* **19**. Doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406>.

EFSA (2023) The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal* **21**: e8442. Doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8442>.

- EFSA, Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S. et al. (2024) Public health aspects of *Vibrio* spp. related to the consumption of seafood in the EU. *EFSA Journal* **22**: e8896. Doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.8896>.
- Faille, C., Brauge, T., Leleu, G., Hanin, A., Denis, C., and Midelet, G. (2020) Comparison of the performance of the biofilm sampling methods (swab, sponge, contact agar) in the recovery of *Listeria monocytogenes* populations considering the seafood environment conditions. *International journal of food microbiology* **325**: 108626. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108626>.
- FAO (2024) *The State of World Fisheries and Aquaculture 2024. Blue Transformation in action*. Rome. In.
- Felix, B., Feurer, C., Maillet, A., Guillier, L., Boscher, E., Kerouanton, A. et al. (2018) Population genetic structure of *Listeria monocytogenes* strains isolated from the pig and pork production chain in France. *Front Microbiol* **9**: 684. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00684>.
- Felix, B., Capitaine, K., Te, S., Felten, A., Gillot, G., Feurer, C. et al. (2023) Identification by high-throughput real-time PCR of 30 major circulating *Listeria monocytogenes* clonal complexes in Europe. *Microbiol Spectr*: e03954-03922. Doi: <https://doi.org/10.1128/spectrum.03954-22>.
- Fritsch, L., Guillier, L., and Augustin, J.-C. (2018) Next generation quantitative microbiological risk assessment: refinement of the cold smoked salmon-related listeriosis risk model by integrating genomic data. *Microb Risk Anal* **10**: 20-27. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.mran.2018.06.003>.
- Giri, S.U., Hadapad, N.G.K., Akhade, A., and Bhilare, P. (2023) Algae as Superfood. In *Biomass and Bioenergy Solutions for Climate Change Mitigation and Sustainability*: IGI Global, pp. 129-147.
- Granier, S.A., Moubareck, C., Colaneri, C., Lemire, A., Roussel, S., Dao, T.T. et al. (2011) Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolates from food and the environment in France over a 10-year period. *Appl Environ Microbiol* **77**: 2788-2790. Doi: <https://doi.org/10.1128/aem.01381-10>.
- Graves, L.M., and Swaminathan, B. (2001) PulseNet standardized protocol for subtyping *Listeria monocytogenes* by macrorestriction and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol* **65**: 55-62. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00501-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00501-8).
- Hocquet, D., Maris, P., Baron, S., Bibbal, D., Chesneau, O., Dagot, C. et al. (2020) Antibiorésistance et environnement-État et causes possibles de la contamination des milieux en France par les antibiotiques, les bactéries résistantes aux antibiotiques et les supports génétiques de la résistance aux antibiotiques. In: Anses.
- Hoffman, A.D., Gall, K.L., Norton, D.M., and Wiedmann, M. (2003) *Listeria monocytogenes* contamination patterns for the smoked fish processing environment and for raw fish. *J Food Prot* **66**: 52-60. Doi: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.1.52>.
- Holch, A., Webb, K., Lukjancenko, O., Ussery, D., Rosenthal, B.M., and Gram, L. (2013) Genome sequencing identifies two nearly unchanged strains of persistent *Listeria monocytogenes* isolated at two

different fish processing plants sampled 6 years apart. *Appl Environ Microbiol* **79**: 2944-2951. Doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.03715-12>.

ISO (2018) EN ISO 18593:2018, Microbiology of the Food Chain — Horizontal Methods for surface sampling. In.

Jami, M., Ghanbari, M., Zunabovic, M., Domig, K.J., and Kneifel, W. (2014) *Listeria monocytogenes* in aquatic food products—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **13**: 798-813.

Kubicová, Z., Roussel, S., Felix, B., and Cabanová, L. (2021) Genomic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from Slovakia (2010 to 2020). *Front Microbiol*: 3223. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.729050>.

Le Roux, F., Wegner, K.M., Baker-Austin, C., Vezzulli, L., Osorio, C.R., Amaro, C. et al. (2015) The emergence of *Vibrio* pathogens in Europe: ecology, evolution, and pathogenesis. *Front Microbiol* **6**: 830. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00830>.

Lee, B.-H., Cole, S., Badel-Berchoux, S., Guillier, L., Felix, B., Krezdorn, N. et al. (2019) Biofilm Formation of *Listeria monocytogenes* Strains Under Food Processing Environments and Pan-Genome-Wide Association Study. *Front Microbiol* **10**. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02698>.

Leroi, F., Joffraud, J.J., Chevalier, F., and Cardinal, M. (1998) Study of the microbial ecology of cold-smoked salmon during storage at 8 degrees C. *Int J Food Microbiol* **39**: 111-121. Doi: [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(97\)00126-8](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(97)00126-8).

Lyubomirsky, S. (2001) Why are some people happier than others? The role of cognitive and motivational processes in well-being. *American psychologist* **56**: 239. Doi: <https://psycnet.apa.org/doi/10.1037/0003-066X.56.3.239>.

Maury, M.M., Tsai, Y.-H., Charlier, C., Touchon, M., Chenal-Francisque, V., Leclercq, A. et al. (2016) Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nat Genet* **48**: 308. Doi: <https://doi.org/10.1038/ng.3501>.

Maury, M.M., Bracq-Dieye, H., Huang, L., Vales, G., Lavina, M., Thouvenot, P. et al. (2019) Hypervirulent *Listeria monocytogenes* clones' adaption to mammalian gut accounts for their association with dairy products. *Nat Commun* **10**: 2488. Doi: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-10380-0>.

Michaelis, C., and Grohmann, E. (2023) Horizontal Gene Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Biofilms. *Antibiotics (Basel)* **12**. Doi: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020328>.

Midelet, G., Barre, L., and Brauge, T. (2022) Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes*. *Maisons-Alfort, Anses Laboratory for Food Safety, EURL for Listeria monocytogenes* **Sous presse**: 11. Doi: <https://zenodo.org/doi/10.5281/zenodo.8042073>.

Mougin, J., Flahaut, C., Roquigny, R., Bonnin-Jusserand, M., Grard, T., and Le Bris, C. (2020) Rapid Identification of *Vibrio* Species of the Harveyi Clade Using MALDI-TOF MS Profiling With Main

Spectral Profile Database Implemented With an In-House Database: Luvibase. *Front Microbiol* **11**: 586536. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.586536>.

Mougin, J., Midelet, G., Leterme, S., Best, G., Ells, T., Joyce, A. et al. (2024) Benzalkonium chloride disinfectant residues stimulate biofilm formation and increase survival of *Vibrio* bacterial pathogens. *Front Microbiol* **14**. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1309032>.

Mougin, J., Copin, S., Bojolly, D., Raguenet, V., Robert-Pillot, A., Quilici, M.-L. et al. (2019) Adhesion to stainless steel surfaces and detection of Viable But Non Cultivable cells of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* isolated from shrimps in seafood processing environments: stayin' alive? *Food Control*. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.03.024>.

Murray, C.J., Ikuta, K.S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G.R., Gray, A. et al. (2022) Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet* **399**: 629-655. Doi: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02724-0).

Newton, A., Kendall, M., Vugia, D.J., Henao, O.L., and Mahon, B.E. (2012) Increasing rates of vibriosis in the United States, 1996–2010: review of surveillance data from 2 systems. *Clin Infect Dis* **54**: S391-S395. Doi: <https://doi.org/10.1093/cid/cis243>.

Nielsen, E.M., Björkman, J.T., Kiil, K., Grant, K., Dallman, T., Painset, A. et al. (2017) Closing gaps for performing a risk assessment on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat (RTE) foods: activity 3, the comparison of isolates from different compartments along the food chain, and from humans using whole genome sequencing (WGS) analysis. *EFSA Supporting Publications* **14**: 1151E. Doi: <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.EN-1151>.

Nyhan, L., Begley, M., Mutel, A., Qu, Y., Johnson, N., and Callanan, M. (2018) Predicting the combinatorial effects of water activity, pH and organic acids on *Listeria* growth in media and complex food matrices. *Food Microbiol* **74**: 75-85. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.03.002>.

Overney, A., Jacques-Andre-Coquin, J., Ng, P., Carpentier, B., Guillier, L., and Firmesse, O. (2017) Impact of environmental factors on the culturability and viability of *Listeria monocytogenes* under conditions encountered in food processing plants. *Int J Food Microbiol* **244**: 74-81. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.012>.

Poirel, L., Héritier, C., and Nordmann, P. (2004) Chromosome-encoded Ambler class D β -lactamase of *Shewanella oneidensis* as a progenitor of carbapenem-hydrolyzing oxacillinase. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **48**: 348-351. Doi: <https://doi.org/10.1128/aac.48.1.348-351.2004>.

Prithvisagar, K.S., Krishna Kumar, B., Kodama, T., Rai, P., Iida, T., Karunasagar, I., and Karunasagar, I. (2021) Whole genome analysis unveils genetic diversity and potential virulence determinants in *Vibrio parahaemolyticus* associated with disease outbreak among cultured *Litopenaeus vannamei* (Pacific white shrimp) in India. *Virulence* **12**: 1936-1949. Doi: <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1947448>.

Sacramento, A.G., Fernandes, M.R., Sellera, F.P., Dolabella, S.S., Zanella, R.C., Cerdeira, L., and Lincopan, N. (2019) VanA-type vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* ST1336 isolated from

mussels in an anthropogenically impacted ecosystem. *Marine pollution bulletin* **142**: 533-536.Doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.04.014>.

Shankland, R., and Martin-Krumm, C. (2012) Évaluer le fonctionnement optimal: échelles de psychologie positive validées en langue française. *Pratiques psychologiques* **18**: 171-187.Doi: <https://doi.org/10.1016/j.prps.2012.02.004>.

Stoller, A., Stevens, M.J., Stephan, R., and Guldemann, C. (2019) Characteristics of *Listeria monocytogenes* strains persisting in a meat processing facility over a 4-year period. *Pathogens* **8**: 32.Doi: <https://doi.org/10.3390/pathogens8010032>.

Su, S., Li, C., Yang, J., Xu, Q., Qiu, Z., Xue, B. et al. (2020) Distribution of Antibiotic Resistance Genes in Three Different Natural Water Bodies-A Lake, River and Sea. *Int J Environ Res Public Health* **17**.Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph17020552>.

Tan, L., Li, L., Ashbolt, N., Wang, X., Cui, Y., Zhu, X. et al. (2018) Arctic antibiotic resistance gene contamination, a result of anthropogenic activities and natural origin. *Sci Total Environ* **621**: 1176-1184.Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.110>.

Trigueros, S. (2022) Mesure du métabolisme par microspectroscopie Raman: Application à la détection des cellules viables non cultivables de *Listeria*. Thèse de doctorat, Université du Littoral-Côte-d'Opale.

Trigueros, S., Brauge, T., Dedole, T., Debuiche, S., Rebuffel, V., Morales, S. et al. (2023) Deuterium isotope probing (DIP) on *Listeria innocua*: Optimisation of labelling and impact on viability state. *PLoS One* **18**: e0280885.Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280885>.

Trinanes, J., and Martinez-Urtaza, J. (2021) Future scenarios of risk of *Vibrio* infections in a warming planet: a global mapping study. *Lancet Planet Health* **5**: e426-e435.Doi: [https://doi.org/10.1016/s2542-5196\(21\)00169-8](https://doi.org/10.1016/s2542-5196(21)00169-8).

Vezzulli, L., Pezzati, E., Brettar, I., Höfle, M., and Pruzzo, C. (2015) Effects of global warming on *Vibrio* ecology. *Microbiol Spectr* **3**: 3.3. 18.Doi: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ve-0004-2014>.

Whitworth, J. (2022). Recall for fish linked to deadly UK *Listeria* outbreak. URL <https://www.foodsafetynews.com/2022/12/recall-for-fish-linked-to-deadly-uk-listeria-outbreak/>

Yi, X., Song, Y., Xu, X., Peng, D., Wang, J., Qie, X. et al. (2021) Development of a fast Raman-assisted antibiotic susceptibility test (FRASST) for the antibiotic resistance analysis of clinical urine and blood samples. *Analytical Chemistry* **93**: 5098-5106.Doi: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c04709>.

Zhang, W., He, S., Hong, W., and Wang, P. (2022) A review of Raman-based technologies for bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. In *Photonics*: MDPI, p. 133.