

PROPOSITION DE SUJET DE THESE

Formulaire demande de financement : ARED - ISblue – Etablissement(s) - ...

pour dépôt sur le serveur [SML — TEBL \(doctorat-bretagne.ore.fr\)](http://SML — TEBL (doctorat-bretagne.ore.fr)) au format PDF

NB : ce dossier ne vous dispense pas de déposer en parallèle votre dossier sur l'extranet de la Région

Acronyme : EXCLAM

Présentation de l'établissement porteur (bénéficiaire de l'aide régionale)

Établissement porteur du projet : UBO UBS Institut Agro Rennes

IMTA ENSTA ENIB

Ecole Doctorale : EDSML

SPI BZH SPIN MATHSTIC Bretagne Océane pour les projets ISblue

Identification du projet

Intitulé du projet	Multiexpositions d'hémocytes de palourde <i>Ruditapes philippinarum in vitro</i> sur un nouveau modèle de culture cellulaire
Nom	MADEC
Prénom	Stéphanie

Demande d'ARED

Se reporter à la notice ARED Région Bretagne et préciser :

Priorité régionale	Atténuation et/ou adaptation au changement climatique
DIS	Economie maritime pour une croissance bleue
Levier thématique	Les bioressources et biotechnologies marines
DIS secondaire	Economie de la santé et du bien-être pour une meilleure qualité de vie
Levier thématique secondaire	Prévention – nutrition - environnement - travail
Axe transversal	Les transitions environnementales et citoyennes

Organisme de tutelle : encadrement et unité de recherche

Porteur du projet HDR

Date obtention de l'HDR 06 décembre 2022

Nom	MADEC
Prénom	Stéphanie
Adresse électronique	Stephanie.madec@univ-brest.fr
Tel	0290915565
Expérience d'encadrement	Co-encadrement de 4 thèses

Unité de recherche

Nom de l'unité	Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin
Acronyme de l'Unité (umr xx, ...)	UMR6539
Nom et prénom du responsable	Sarthou Géraldine
Le cas échéant, nom de l'équipe de recherche	Equipe PANORAMA
Le cas échéant, nom du responsable de l'équipe de recherche	C. Fabioux/H. Hegaret/D. Mazurais

Co-directeur de thèse – si nécessaire

Nom	MILAN
Prénom	Massimo
Unité de recherche	Department of Comparative Biomedicine and Food Science
Etablissement de tutelle	Université de Padoue (Italie)
Expérience d'encadrement	Co-encadrement de 2 thèses

Co-encadrant (s) de thèse – si nécessaire

Nom	EVEN
Prénom	Yasmine
Unité de recherche	Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin
Etablissement de tutelle	Université de Bretagne Occidentale
Expérience d'encadrement	Co-encadrement d'une thèse

Description du projet : complément

Lieu principal de déroulement du projet en Bretagne : Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin

Lieu principal de déroulement du projet si hors Bretagne : Laboratoire BCA (Comparative Biomedicine and Food Science), Université de Padoue, Italie

Libellé (attention veiller à respecter le nombre de caractères imposés par le serveur de la Région)

Résumé synthétique du projet
(2 000 caractères maximum)

L'environnement côtier est fortement impacté par les activités anthropiques. Certains estuaires sont dégradés en raison des rejets urbains, agricoles ou aquacoles et sont chargés de bactéries fécales, de biocides, et de métaux lourds connus pour induire des résistances croisées aux antibiotiques. Ces phénomènes sont susceptibles d'augmenter dans les années à venir en raison des fortes pluies associées au changement climatique, du réchauffement de l'eau de mer associé aux maladies infectieuses émergentes et de la croissance continue attendue de l'aquaculture et de l'utilisation concomitante d'antibiotiques. Des découvertes récentes indiquent que les bivalves possèdent une capacité de mémoire immunitaire qui pourrait être utilisée pour améliorer leur réponse immunitaire aux infections via l'amorçage immunitaire (priming), un outil récent et potentiellement puissant pour limiter l'utilisation des antibiotiques en aquaculture.

Les bivalves sont connus pour bio-accumuler les contaminants et parfois héberger des bactéries résistantes aux antibiotiques pathogènes. La littérature relate de nombreux travaux sur l'impact des polluants sur le système immunitaire des bivalves à l'échelle de l'organisme, mais en raison de l'absence de modèle de culture cellulaire, peu de données existent à l'échelle cellulaire pour évaluer l'effet de l'environnement sur les hémocytes des bivalves à moyen terme. Peu de données existent également sur les relations entre le système immunitaire des bivalves et leur microbiote.

Grâce aux récents développements technologiques effectués dans notre laboratoire sur la culture cellulaire de bivalves, nous projetons en première partie de thèse d'exposer les hémocytes de palourde à :

- des polluants, dans le but d'identifier leurs effets sur l'état de santé des cellules en considérant les polluants seuls ou en mélange, à différents temps de culture (aiguë/sub-chronique) et de déterminer les mécanismes cellulaires impactés.
- des agents de priming (bactéries, produits extracellulaires bactériens) pour identifier leurs effets sur l'immunité, leurs mécanismes d'action et étudier au niveau moléculaire les interactions hémocytes-microbiote.

La seconde partie de la thèse aura pour objectif de reproduire ces expériences dans des conditions de changement climatique pour savoir dans quelle mesure ces effets peuvent être modifiés.

Hypothèses, questions posées, points de blocage, approche méthodologique, technique
(4 000 caractères maximum)

Ce projet de thèse s'inscrit dans le projet Flagship ISblue Maresistome (2022-2026) étudiant l'émergence et la dissémination de la résistance aux antibiotiques dans les écosystèmes côtiers pollués. Ce projet nécessite une approche globale en santé humaine, animale et environnementale appelée "One Health", préconisée par l'OMS. L'un des objectifs du projet est de décrypter les mécanismes d'action impliqués dans une stratégie innovante (immune priming) en améliorant la réponse immunitaire des bivalves contre les pathogènes par l'interaction avec des bactéries, ceci afin de limiter l'usage des antibiotiques pour une aquaculture durable. L'effet de polluants (biocides, métaux lourds) sera également étudié *in vivo* et *in vitro*.

Objectif 1 : Quel est l'impact des polluants sur l'immunité des palourdes au niveau cellulaire?

Des expérimentations *in vivo* compareront l'immunité des palourdes entre un site pollué et un site protégé. Leur hémolymphe sera collectée pour évaluer la viabilité des hémocytes, leur prolifération et leurs activités enzymatiques (stress oxydatif, enzymes de dégradation et d'inflammation), et les associer aux paramètres immunitaires des palourdes (phagocytose). L'expression génique eucaryote (RNAseq) liée à l'immunité des palourdes sera analysée dans l'hémolymphe et les glandes digestives (coll. département de Biomédecine Comparée et sciences de l'Aliment (BCA), Univ Padoue, Italie).

La toxicité et les mécanismes d'action intracellulaires des polluants seront aussi étudiés *in vitro*. Ceux-ci seront sélectionnés sur la base de dosages environnementaux (projet Maresistome). L'hémolymphe sera collectée sur des palourdes saines, et les hémocytes seront exposés à ces polluants afin d'évaluer leur impact sur leur viabilité, leur prolifération, leur capacité phagocytaire, leurs activités enzymatiques et leur expression génétique (qPCR). Les effets dose-réponse de ces polluants seront également étudiés à différents temps de culture afin d'évaluer pour la première fois les effets cellulaires à court et moyen termes grâce à une technique récemment développée en collaboration avec le laboratoire d'écotoxicologie de Padoue. Les effets des polluants en mélange, plus proches des conditions environnementales, permettront d'identifier à des concentrations sub-léthales, de potentielles actions additives, antagonistes ou synergiques.

Objectif 2 : Quels sont les mécanismes d'action intracellulaires des agents de priming ?

Des expériences *in vivo* actuellement en cours (post-doc BIENVENUE) visent à stimuler la résistance des palourdes à l'infection en testant différents agents de priming en pré-exposant des palourdes avec des bactéries (*V. tapetis* non virulent et inactivé) ou leurs produits extracellulaires, puis en exposant les animaux à une bactérie pathogène (*V. tapetis* virulent). L'agent de priming le plus efficace sera testé sur des cultures cellulaires d'hémocytes pour étudier son mécanisme d'action (RNAseq).

Risque et solution : En cas d'absence d'effet des agents de priming appliqués par balnéation des palourdes, ces agents seront directement injectés dans les animaux. Les animaux seront poolés en cas d'insuffisance de matériel biologique. Le LEMAR a une forte expertise dans l'inactivation de *V. tapetis* et possède des souches non pathogènes.

Objectif 3 : Quel est le dialogue moléculaire entre les hémocytes et le microbiote des palourdes?

Afin d'identifier les mécanismes moléculaires qui sous-tendent la communication entre les hémocytes et les bactéries du microbiote, des expérimentations *in vitro* (co-cultures en microplaques) permettront l'analyse du sécrétome et du transcriptome des hémocytes (collaboration avec le laboratoire BCA, Padoue), et d'évaluer l'impact des contaminants sur le dialogue cellulaire entre hémocytes et microbiote.

Objectif 4 : Est-ce que le changement climatique impacte les effets des polluants, les effets du priming et les interactions entre les cellules de l'hôte et leur microbiote?

Les expositions *in vitro* des hémocytes aux polluants, aux agents de priming et aux bactéries du microbiote seront renouvelées dans des conditions de changement climatique (augmentation de température, baisse du pH).

Risque et solution : si la modification des paramètres température et pH affecte la viabilité cellulaire dans la condition témoin, il sera possible de prélever les hémocytes sur des palourdes préalablement acclimatées dans les conditions de changement climatique et d'effectuer les multiexpositions des hémocytes en condition aiguë.

Environnement scientifique, positionnement dans contexte régional/national/international (2 000 caractères maximum)

Au niveau régional et national : Ce projet permettra d'établir des liens avec le laboratoire LABOCEA mandaté pour les analyses de polluants sur les échantillons environnementaux du projet Maresistome dans lequel s'inscrit la demande de thèse.

Nous étudierons l'effet de la pollution sur l'immunité des palourdes et testerons leur capacité de résistance à l'infection via le priming immunitaire avec la collaboration de l'entreprise SATMAR qui nous fournira les animaux sains.

Le projet de thèse permettra d'intégrer le GDR en Ecotoxicologie Aquatique, lieu d'animation et de construction scientifique pour mieux diagnostiquer et prédire l'impact des polluants chez les animaux aquatiques. Il vise à favoriser l'interdisciplinarité et l'émergence d'approches intégratives pour aller vers une écotoxicologie prédictive.

Au niveau international : Ce projet renforcera l'axe de recherche du LEMAR sur les bactéries marines et les bivalves par de nouvelles études sur l'effet de la pollution marine sur l'immunité des bivalves au niveau cellulaire, et le lien avec la résistance aux antibiotiques, considérés comme des thèmes de recherche émergents au niveau international. Le projet permettra de maintenir la collaboration avec le laboratoire BCA de l'Univ de Padoue (Italie) et de créer une nouvelle collaboration avec le laboratoire d'Ecotoxicologie du département de Biologie de l'Univ de Padoue. Il renforcera le projet de recherche international (IRP) ClimClam du CNRS, coordonné par C. Paillard (LEMAR) et L. Bargelloni (BCA), qui vise à étudier le système complexe Environnement-Clam-Pathogènes-Microbiote dans un contexte de changement climatique. En outre, un réseau de recherche mondial sur la santé des palourdes sera lancé au cours du projet et plusieurs partenaires sont déjà envisagés : Italie (L Bargelloni), Corée (MC Chu), Japon (T Matsuyama), Etats-Unis (B Allam), Portugal (C Azevedo), Espagne (A Figueras). En outre, le projet fait partie de la ZABrI, incluse dans le réseau national Réseau des Zones Ateliers (RZA) et dans les réseaux européen et international Long Term Ecosystem Research (LTER), ce qui facilitera grandement la mise en réseau pour le développement de nouveaux projets et la diffusion des résultats qui se fera par le biais de publications et de présentations lors de conférences nationales et internationales.

Collaborations scientifiques (nature/partenariat/pays) et partenariat socio-économique envisagé

La thèse proposée sera en collaboration avec deux laboratoires de l'Université de Padoue (Italie) :

- le laboratoire BCA (Department of Comparative Biomedicine and Food Science) qui sera responsable des analyses transcriptomiques
- le laboratoire d'Ecotoxicologie du Département de Biologie qui participera au choix des doses des polluants et des tests cellulaires pour évaluer la toxicité.

Pour les demandes Région Bretagne

Adéquation du projet avec le DIS de Rattachement

Pour les demandes Région Bretagne (3 000 caractères maximum)

Le projet est principalement rattaché au domaine d'innovation stratégique de rattachement **D1 Economie maritime pour une croissance bleue**. Les leviers thématiques identifiés concernent :

- les bioressources et biotechnologies marines

En effet, le projet propose des solutions innovantes pour diminuer la résistance aux antibiotiques dans l'environnement en limitant l'utilisation des antibiotiques en aquaculture. L'une des stratégies exploitées dans le projet de thèse est de stimuler le système immunitaire des palourdes avec différentes bactéries (priming immunitaire) contre leur pathogène *Vibrio tapetis*.

Le projet s'appuie également sur des expérimentations *in vitro* pour évaluer l'effet des polluants ou des agents de priming sur un nouveau modèle de culture cellulaire afin d'identifier de nouveaux marqueurs de l'état de santé des palourdes. Ce nouveau modèle cellulaire pourra être utilisé à terme pour des analyses haut débit de l'effet de l'environnement tels que des polluants divers, le changement climatique, des molécules d'intérêt biotechnologique comme de nouveaux antifouling plus respectueux de l'environnement, sur les bivalves marins.

- l'environnement, santé des océans et gestion du littoral

Ce projet a pour vocation d'améliorer la connaissance du littoral, au niveau régional mais aussi plus global en comparant nos résultats avec un environnement contrasté comme la baie de Venise. Il vise à mieux comprendre les événements présents et aider la société à anticiper les défis sociaux et environnementaux à venir. Les résultats apporteront peut-être des outils d'aide à la décision pour la mise en place des politiques publiques de prévention des risques et de gestion des espaces côtiers et littoraux.

Le projet est également rattaché au domaine d'innovation stratégique **D4 Economie de la santé et du bien-être pour une meilleure qualité de vie**, et en particulier le levier thématique "**prévention – nutrition - environnement - travail**". Nous contribuerons en effet à répondre à différentes problématiques soutenues par la Région Bretagne. Sur le plan fondamental, il apportera une meilleure connaissance de l'effet de la pollution sur la santé et l'immunité des bivalves marins, source économique essentielle pour la région, et de l'identification de nouveaux marqueurs de santé de l'environnement. Le rôle entre l'immunité et le microbiote des palourdes sera particulièrement étudié. Le projet de thèse s'inscrit en effet dans un projet plus vaste portant sur l'effet de différents polluants émanant du bassin versant et présents sur le littoral dans l'émergence et la dissémination de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement côtier et en particulier au niveau du microbiote des bivalves. Ce projet apportera davantage de connaissances sur le continuum terre-mer, sur la dissémination possible de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement marin et au sein de la chaîne trophique et s'inscrit pleinement dans la thématique One Health. Les résultats attendus dans la thèse participeront à faire de la Bretagne un pôle d'excellence international dans la lutte contre les risques liés à l'environnement, en investiguant les nouveaux défis liés au changement climatique.

Si priorité régionale, préciser (200 caractères maximum)

-Adaptation au changement climatique : mesure de l'effet de la température et du pH sur l'exposition des palourdes aux polluants/agents de priming

-One Health : lien pollution-immunité-résistome des palourdes

Demande de (co)financement ISblue

Vous sollicitez un financement ISblue,

Précisez le lien du sujet avec les thèmes ISblue

Thème ISblue	Thème principal	Thème secondaire (si nécessaire)	Autre (si nécessaire)
la régulation du climat par l'océan			
les interactions entre la Terre et l'océan		X	
la durabilité des systèmes côtiers			
l'océan vivant et les services écosystémiques	X		
les systèmes d'observation à long terme			

Expliquez/précisez en quelques lignes dans quelle mesure votre demande correspond à l'un ou plusieurs des critères ISblue ci-dessous :

1- Originalité, impact potentiel du projet (4 lignes maxi)

Notre projet vise à étudier l'effet de polluants sur l'immunité des palourdes en lien avec leur résistome, impliquant une approche intégrative originale en écotoxicologie marine. Le nouveau modèle de culture cellulaire vise à identifier de nouveaux marqueurs de santé de l'écosystème marin, des agents de priming efficaces et mieux appréhender l'effet des mélanges de polluants.

2- Positionnement international du sujet, cotutelle ou co-encadrement international (4 lignes maxi)
La thèse proposée sera en co-direction internationale avec le Dr M. Milan, expert en génomique au laboratoire BCA de l'Univ. de Padoue, et qui encadrera les analyses transcriptomiques *in vivo* et *in vitro* de la thèse. Le laboratoire d'Ecotoxicologie de l'Univ. de Padoue dirigé par V. Matozzo participera au choix des activités enzymatiques sur les hémocytes.

3- Effet intégrateur entre unités de recherche et / ou interdisciplinarités (4 lignes maxi)
Hormis le développement de la collaboration internationale avec les deux laboratoires italiens, la thèse est intégrée dans le projet interdisciplinaire Maresistome qui regroupe un consortium de 4 unités ISblue, l'Ifremer, l'ANSES, et des acteurs locaux tels que EPAGA. Le doctorant pourra donc bénéficier de cet environnement scientifique diversifié, notamment lors des réunions bilan du projet.

4- Potentiel d'insertion à un haut niveau dans la communauté académique ou non académique du docteur (4 lignes maxi)
Le doctorant bénéficiera d'un réseau d'envergure nationale et internationale. Grâce à ces collaborations et à l'opportunité d'effectuer des vacances d'enseignements à l'UBO, et possiblement à l'Université de Padoue, le diplômé pourra répondre à une diversité d'offres d'emploi au sein des organismes de recherches et des Universités ou dans des laboratoires privés spécialisés en analyses écotoxicologiques.

Financement du projet de thèse

En cas de financement à 50 %, le cofinancement est-il déjà identifié (oui/non) : non

Si oui, préciser la nature du cofinancement (ANR, partenaire privé, Ademe, etc.) :

Si le cofinancement n'est pas encore confirmé, date prévue de réponse du cofinancier :

En cas de non-obtention du cofinancement demandé, une autre source de cofinancement est-elle identifiée (oui/non) :

Si oui, laquelle :

Sollicitez-vous un co-financement Is-Blue (oui/non) ? oui

Important : Veillez à bien compléter les différents co financements sollicités sur le serveur Thèses en Bretagne Loire lors du dépôt de votre dossier.

Projet de thèse en cotutelle internationale

S'agit-il d'un projet de thèse en cotutelle internationale dans le cadre d'une convention (oui/non) : non, il s'agit d'un projet de thèse en co-direction internationale

Si oui, préciser l'établissement pressenti (et le pays de rattachement) : Université de Padoue (Italie)

Ce projet de thèse fera-t-il l'objet d'un cofinancement international (oui/non) : non

(Rémunération du doctorant par l'établissement implanté sur le territoire régional (18 mois sur 36 mois), et l'établissement étranger, qui s'engage également à rémunérer le doctorant dans le cadre de son séjour à l'étranger, soit durant 18 mois -a minima-)

En cas de cofinancement international, préciser -si vous en avez connaissance- l'organisation du calendrier des périodes de séjour :

Préciser quel est le stade du projet international (joindre une lettre d'engagement du partenaire)

Vous sollicitez un financement UBO EDSML qui sera porté à la décision du Conseil de l'ED

Indiquez le ici, oui non **et sur le serveur TEBL (indispensable)**

Le candidat

Profil souhaité du candidat (spécialité/discipline principale, compétences scientifiques et techniques requises) :

La personne retenue aura un intérêt particulier pour les sciences de la mer, la biologie cellulaire, la toxicologie, la microbiologie, et l'analyse de données omiques. Elle saura faire preuve d'autonomie, de motivation, de curiosité et saura s'intégrer au sein d'une équipe de recherche. Des compétences en anglais sont requises. Des compétences en analyses biochimiques (fonctionnalité cellulaire), en cytométrie, en biologie moléculaire, en bioinformatique et biostatistiques (utilisation du logiciel R) seraient un plus.

ATTENTION : Tout dossier non déposé sur le serveur dans les délais indiqués, ne pourra être pris en compte notamment par les instances ISblue, conseil de l'EDSML.

Veillez à enregistrer votre document au format NOM du porteur /Acronyme labo.pdf