

**DOSSIER DE CANDIDATURE
A UNE ALLOCATION DE RECHERCHE
(Contrat doctoral)
POUR LA RENTREE 2024**

Dossier complété et revêtu des signatures à transmettre impérativement pour le :
11 décembre 2023 12h00 au plus tard,
A la Direction de la Recherche et Valorisation
secretariat.recherche@univ-littoral.fr

Titre de la thèse en français : Etude des mécanismes de virulence de *Vibrio harveyi* pour l'élaboration de thérapies d'antivirulence contre la vibriose du bar (*Dicentrarchus labrax*)

Titre de la thèse en anglais : Study of the virulence mechanisms of *Vibrio harveyi* for the development of antivirulence therapies against sea bass (*Dicentrarchus labrax*) vibriosis

Mots clés en français : *Vibrio harveyi* ; Virulence ; Biofilms ; Transcriptomique ; Environnement

Mots clés en anglais : *Vibrio harveyi* ; Virulence ; Biofilms ; Transcriptomic ; Environment

Le sujet a-t'il déjà été déposé les années précédentes (préciser la date) : non

Laboratoire(s) d'accueil du consortium IFSEA : UMRt BioEcoAgro

Equipe : Biochimie des Produits Aquatiques, Boulogne sur Mer

Spécialité : Flore pathogène

Priorité du laboratoire : thèse classée 4^{ème} sur 16 classées au niveau de l'UMRt BioEcoAgro (7 tutelles différentes et 18 sujets proposés)

Directeur de thèse ULCO : Thierry GRARD, UMRt BioEcoAgro, ULCO

N° de téléphone ULCO : 03 21 99 45 18

Adresse mail ULCO : thierry.grard@univ-littoral.fr

Y-a-t'il un co-directeur : Oui Non

Si oui, précisez : Cédric LE BRIS, cedric.le-bris@univ-littoral.fr, UMRt BioEcoAgro, ULCO, 50 %

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

Financement* :

Merci de renseigner l'ensemble des demandes de financements envisagées pour ce sujet (NB : Les demandes peuvent porter sur plus de deux cofinanceurs envisagés):

- Région 50 % (Dans ce cas, ne pas oublier de remplir également le dossier « Région ») (3)
- PMCO 50 % (1)
- ULCO 50 % (2) ULCO 100 %
- ADEME 50 % ADEME 100 %

Merci de nous indiquer si d'autres financements ont été demandés ou acquis pour ce sujet (EUR IFSEA, EUR MAIA, CPJ, ANR, entreprise...):

- Autre Financier 50 %, préciser le financier : cofinancement EUR IFSEA demandé
- Autre Financier 100 %, préciser le financier :

LABORATOIRE D'ACCUEIL

Nombre de HDR dans le laboratoire : 2 : Thierry GRARD et Irina SADOVSKAYA

Nombre de thèses encadrées dans le laboratoire (rentrée 2023) :

Concernant la partie ULCO du laboratoire, 2 thèses sont en cours cette année.

La thèse d'Alix DA FONSECA FERREIRA en 3^{ème} année

La thèse de Thimoté OUDIN en 2^{ème} année.

Deux thèses ont également été initié en 2023 sur la base d'un partenariat inter-tutelles au sein de l'UMRt BioEcoAgro.

La thèse de Samantha DRUELLE inscrite à ULille, financée et co-encadrée à 50 % à l'ULCO

La thèse d'Alexandre WEBER inscrit à UArtois, financée et co-encadrée à 50 % à l'ULCO

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

Avis détaillé du directeur de thèse :

Ce projet de thèse s'inscrit dans un contexte One Health et porte sur l'étude des risques associés à l'antibiorésistance de bactéries marines en aquaculture et plus particulièrement concernant l'élevage du bar (*Dicentrarchus labrax*). Il fait suite à un programme de longue haleine en partenariat avec Aquanord-Ictus auxquels se joindront Plateforme d'Innovation Nouvelles Vagues et un laboratoire spécialisé dans l'étude des biofilms de bactéries marines de l'université de Bretagne Sud. Après avoir mis au point et optimisé au laboratoire des outils permettant la détection, l'identification et la quantification de *Vibrio harveyi*, cette thèse a pour objet de développer des approches transcriptomiques afin d'identifier les gènes qui sont réellement exprimés chez *V. harveyi* lors du développement de la vibriose en bassin d'aquaculture. Les résultats obtenus permettront d'apporter des réponses face aux risques liés aux gènes de virulence de bactéries pathogènes marines dans une étude qui s'inscrit dans la problématique de l'antibiorésistance.

Signature du directeur de thèse



Thierry GRARD

Avis détaillé du directeur de laboratoire :

Je, soussigné, Jean-Louis HILBERT, Professeur à l'Université de Lille, certifie que la thèse proposée par Thierry GRARD a été classée 4^{ème} sur 18 lors du conseil de laboratoire de l'UMRt BioEcoAgro qui s'est tenu le 17 novembre dernier. Ce sujet s'inscrit dans le cadre d'un partenariat avec un industriel du secteur aquacole de premier plan confortant ainsi nos liens avec la profession et permettant une valorisation de la recherche appliquée menée au laboratoire. Ce sujet s'inscrivant dans la stratégie régionale « Recherche Innovation pour une Spécialisation Intelligente (SRI-SI) » et plus particulièrement dans le positionnement des produits aquatiques dans l'alimentation du futur, j'émet un avis très favorable quant au financement de ce sujet de thèse.

Signature du directeur de laboratoire
Jean-Louis HILBERT



- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

PROJET DE THESE

Intitulé du projet de thèse :

Domaine scientifique : sécurité et la qualité des produits de la mer

Résumé en français * (1500 caractères maxi.) :

Le développement d'une aquaculture durable doit permettre l'élevage de poissons de qualité, sans risques pour le consommateur ni pour l'environnement ou les aquaculteurs. Pour y parvenir, une bonne compréhension et une bonne maîtrise des maladies est nécessaire. Dans le cas de l'élevage de bars (*Dicentrarchus labrax*), la première cause d'épisodes de mortalités massives est la vibriose causée par *Vibrio harveyi*. De précédents travaux ont mis en avant la présence de *V. harveyi* dans l'eau des bassins d'élevage d'Aquanord Ichtus (Gravelines) mais aussi sa persistance sous forme de biofilms sur les parois des bassins. Les travaux actuellement menés ont mis en avant la présence de différents gènes de virulence potentiels chez des souches collectées au sein de la structure aquacole. Cela dit, la simple présence de *V. harveyi* ainsi que la présence de gènes de virulence potentiels chez les souches isolées ne suffisent pas à expliquer le développement de la vibriose. Ainsi, cette thèse propose le développement d'une approche transcriptomique pour étudier l'expression des gènes de virulence potentiels. Dans un premier temps, l'expression de ces gènes sera étudiée chez *V. harveyi* sous forme planctonique puis dans un second temps sous forme de biofilms afin d'identifier les mécanismes de virulence impliqués dans le développement de la vibriose. Une troisième partie étudiera l'influence des paramètres environnementaux (biotiques et abiotiques) sur l'expression de ces gènes de virulence. L'identification des mécanismes de virulence, ainsi que des paramètres environnementaux qui les modulent, permettra la mise au point de stratégies d'antivirulence, alternatives durables aux antibiotiques classiquement utilisés en aquaculture.

Résumé en anglais * (1500 caractères maxi.) :

The development of sustainable aquaculture will allow the breeding of good quality fish, without risks for neither the consumer nor the environment or the farmers. To achieve this goal, a good understanding and control of diseases is necessary. For sea bass (*Dicentrarchus labrax*) breeding, the first cause of mass mortality events is vibriosis caused by *Vibrio harveyi*. Previous work has highlighted the occurrence of *V. harveyi* in the water of the tanks of Aquanord Ichtus (Gravelines) but also its persistence in biofilms on the walls of the tanks. The current work has highlighted the presence of different potential virulence genes in strains collected within the aquaculture structure. However, the mere presence of *V. harveyi* as well as the presence of potential virulence genes in the isolated strains are not sufficient conditions to explain the development of vibriosis. This thesis suggests the development of a transcriptomic approach to study the expression of potential virulence genes. Firstly, the expression of these genes will be studied in planktonic *V. harveyi* and secondly in biofilms in order to identify the virulence mechanisms involved in the development of vibriosis. A third part will study the influence of environmental parameters (biotic and abiotic ones) on the expression of these virulence genes. The identification of virulence mechanisms, as well as the environmental parameters that modulate them, will allow the development of antivirulence strategies, which are sustainable alternatives to the antibiotics conventionally used in aquaculture.

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

Projet de thèse (5 pages maxi.) :

Développer sur cinq pages :

1. Le sujet de recherche choisi :

Thématique et contexte :

Le présent projet de thèse s'intègre dans la thématique de l'aquaculture durable et plus précisément dans la recherche de solutions alternatives aux antibiotiques pour la lutte contre les maladies bactériennes responsables de mortalités importantes en aquaculture. Cette thématique revêt une grande importance dans le contexte actuel d'une population mondiale croissante, d'une consommation mondiale de produits de la mer qui croît encore plus rapidement et d'une production halieutique stagnante depuis près de 30 ans [1, 2]. Aussi, l'aquaculture joue et va continuer à jouer un rôle primordial pour répondre à un double enjeu : préserver les stocks naturels de poissons tout en répondant à la demande croissante en produits aquatiques. Dans ce contexte, le développement économiquement et environnementalement viable de l'aquaculture doit faire face à différents freins parmi lesquels le plus important reste les maladies, et notamment les maladies bactériennes, qui entraînent des mortalités importantes et des pertes économiques associées considérables[3]. Parmi ces maladies, la vibriose, causée par les bactéries du genre *Vibrio*, est l'une des plus importantes [4]. En aquaculture particulièrement, la vibriose peut conduire à des taux de mortalité très importants, synonymes de pertes économiques considérables [5, 6]. Ce constat, déjà inquiétant, l'est d'autant plus que le risque associé à *Vibrio* est augmenté dans le contexte actuel de réchauffement climatique. [7-9]. Actuellement, les solutions classiquement utilisées en aquaculture sont de deux types : les antibiotiques et la vaccination [10]. Depuis les premières utilisations cliniques d'antibiotiques dans les années 1940, il a été démontré que l'usage d'antibiotiques entraîne l'émergence de phénomènes d'antibiorésistance qui d'ici 2050 pourraient entraîner 10 millions de morts par an si les pratiques n'évoluent pas [11, 12]. Le problème de l'antibiorésistance ne s'arrête pas aux organismes directement traités par les antibiotiques puisque les résidus antibiotiques mais aussi les bactéries résistantes terminent bien souvent leur course dans les eaux souterraines et dans les océans et impactent donc aussi les organismes sauvages [13]. Par ailleurs, l'efficacité des antibiotiques peut être amoindrie contre certaines formes de vie des bactéries et notamment contre les biofilms bactériens. Ainsi, lorsque des bactéries se développent en biofilms, elles peuvent tolérer des niveaux d'agents antimicrobiens 10 à 1000 fois supérieurs par rapport à des bactéries génétiquement similaires mais sous forme planctonique [14]. L'autre solution principale pour combattre les maladies en aquaculture est l'utilisation de vaccins. Pour les espèces élevées en aquaculture, un certain nombre de vaccins sont commercialisés pour lutter contre différentes espèces bactériennes. Cette technique suppose cependant de connaître spécifiquement l'espèce bactérienne contre laquelle il faut lutter mais aussi que cette dernière varie relativement peu au cours du temps. Cette solution s'avère donc plus coûteuse mais aussi plus chronophage que l'utilisation d'antibiotiques (majoritairement intégrés dans l'alimentation), en particulier lorsque la vaccination s'effectue par injection et qu'il faut traiter individuellement l'ensemble des poissons. D'autres solutions existent pour lutter contre le développement de maladies bactériennes comme l'utilisation de prébiotiques et de probiotiques, d'huiles essentielles, de bactériophages ou encore la mise en place de stratégies d'antivirulence mais ces solutions, bien que prometteuses, restent encore expérimentales en aquaculture, en raison de la complexité de leur mise en place, leur coût ou leur manque de spécificité d'action [15-17].

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

Parmi les espèces marines élevées en France et en Europe, le bar européen, *Dicentrarchus labrax*, occupe une place majeure et son élevage ne cesse de progresser à tel point qu'aujourd'hui le bar est devenu majoritairement une espèce aquacole [2]. Malgré une zootechnie optimisée au fil des années, l'élevage du bar doit faire face à différentes pathologies. Parmi celles-ci, la vibriose fait partie des maladies bactériennes les plus importantes car elle peut affecter le bar à toutes les étapes de l'élevage du poisson et entraîner des mortalités importantes et de fait des pertes économiques associées pour les aquaculteurs [18]. Plusieurs espèces de *Vibrio* peuvent causer la vibriose du bar et pendant longtemps, l'espèce majoritairement isolée de poissons malades dans les élevages a été *Vibrio anguillarum*. Actuellement, un vaccin commercial est disponible pour protéger les poissons contre cette espèce bactérienne et c'est dorénavant *Vibrio harveyi* qui est « problématique » et responsable d'épisodes de vibriose mortelle dans les élevages. A ce jour, aucun vaccin commercial n'a été conçu pour lutter contre *V. harveyi* [19-21] et un tel vaccin est d'autant plus complexe à élaborer que la diversité génétique entre les souches de *V. harveyi* est importante [22]. *Vibrio harveyi* peut être présent dans l'eau des bassins d'élevage mais aussi sur leurs parois sous forme de biofilms qui rendent la bactérie plus résistante aux antibiotiques et peuvent aussi jouer un rôle de réservoirs libérant des bactéries dans l'eau [23].

Depuis plusieurs années, une collaboration a été mise en place entre la station aquacole d'Aquanord-Ictus (Gravelines, 59) et l'UMRt INRAe (n°1158) BioEcoAgro de l'ULCO à Boulogne sur mer. La collaboration avec Aquanord-Ictus a permis, à travers un projet FEAMP (LUVIBAR ; 2017-2022) ainsi que les thèses de Julia MOUGIN (2017-2020) et d'Alix DA FONSECA FERREIRA (2021-2024) de dresser un état des lieux inédit de la menace associée à la présence de *V. harveyi*. L'occurrence de *V. harveyi* a été étudiée dans le temps et l'espace, dans les bassins d'élevage, sous forme planctonique et de biofilms mais aussi au niveau des arrivées d'eau qui alimentent les bassins. Ces travaux ont également permis la mise au point et l'optimisation de techniques et outils permettant la détection, l'identification et la quantification de *V. harveyi* dans les différents compartiments étudiés [24, 25]. Les résultats obtenus ont notamment mis en avant une présence constante de *V. harveyi* dans les bassins d'élevage ainsi qu'une corrélation positive entre les quantités bactériennes détectées et la température de l'eau des bassins. La persistance de *V. harveyi* sous forme de biofilms a également été mise en lumière soulignant le rôle de réservoir que peuvent jouer ces structures [26]. Enfin, différents gènes, potentiellement impliqués dans les mécanismes de virulence de *V. harveyi* ont été identifiés en s'appuyant sur la littérature mais aussi sur le génome de souches isolées d'Aquanord-Ictus. Plus globalement, les travaux précédemment menés ont souligné la complexité d'étudier *V. harveyi* et le développement de la vibriose et ont mis en lumière les verrous scientifiques et techniques qui persistent.

Objectifs :

Le contexte développé ci-dessus ainsi que les résultats précédemment obtenus mettent en lumière plusieurs verrous qui restent à lever pour lutter efficacement contre *V. harveyi* dans l'élevage du bar et plus largement en aquaculture. La simple présence de *V. harveyi* dans les bassins, sous forme planctonique ou de biofilms, ne suffit pas à déclencher des épisodes de vibriose. De la même manière, la simple présence de gènes de virulence potentiels chez les souches isolées sur le terrain, ne suffit pas à justifier leur expression et leur implication dans les mécanismes de virulence responsables du développement de la vibriose. Pour lutter efficacement et spécifiquement contre la vibriose du bar, il est donc essentiel d'identifier les gènes impliqués dans les mécanismes de virulence qui permettent à *V. harveyi* de prendre le dessus sur le système immunitaire du bar et donc le développement de la vibriose. Après avoir développé des approches cellulaires et génomiques, l'objectif de cette thèse est donc de **développer des approches transcriptomiques afin d'identifier les gènes qui sont réellement exprimés chez *V. harveyi* lors du développement de la vibriose mais aussi de comparer les**

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

« stratégies » bactériennes entre des bactéries planctoniques et des bactéries vivant en biofilms. Le développement de la vibriose étant une interaction tripartite entre l'hôte, la bactérie pathogène et leur environnement, l'objectif est également de **comprendre l'influence de l'environnement (biotique et abiotique) sur l'expression de ces gènes.**

Méthode et résultats attendus :

Pour atteindre ces objectifs, des expérimentations seront dans un premier temps menées avec PFI Nouvelles Vagues (Wimereux) pour la réalisation de challenges bactériens permettant de confronter des juvéniles de bars à différentes souches de *V. harveyi*. Celles-ci seront dans un premier temps, les souches isolées de poissons malades ayant servi à l'élaboration de l'autovaccin utilisé sur Aquanord-Ichtus. Des extractions d'ARN seront réalisées, à partir de *V. harveyi*, en présence ou non de *D. labrax*, afin de mettre en avant les gènes différentiellement exprimés (et en particulier ceux surexprimés) lorsque la vibriose se développe. A partir des ARN extraits, une analyse par RNAseq permettra d'identifier les gènes responsables de la virulence de *V. harveyi*, sous forme planctonique. Dans un deuxième temps, un travail similaire sera réalisé, en collaboration avec le Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines de l'Université de Bretagne Sud (UBS, Lorient), à partir de *V. harveyi* sous forme de biofilms. Cela permettra donc de comparer les gènes exprimés par *V. harveyi* sous forme planctonique et sous forme de biofilms et donc de savoir si les mécanismes de virulence impliqués sont similaires ou non entre ces deux formes. A partir des résultats obtenus au cours des deux précédentes parties, il sera ensuite possible de « cibler » précisément les gènes les plus « intéressants » afin de quantifier leur expression dans des environnements changeants par une approche de RT-qPCR. Les paramètres environnementaux testés pourront être abiotiques (température, salinité, concentration en dioxygène, ...) mais aussi biotiques en testant par exemple l'effet de cultures bactériennes mixtes. Le travail, dans un premier temps réalisé en conditions contrôlées (challenges bactériens pour les bactéries planctoniques et système « Drip flow » pour les bactéries en biofilms), sera renforcé par la réalisation de prélèvements au sein des bassins d'Aquanord-Ichtus. Cette « application terrain » permettra de rechercher les gènes de virulence identifiés en conditions contrôlées et plus précisément les ARN correspondants afin de confirmer leur implication dans les mécanismes de virulence et donc dans le développement de la vibriose.

L'identification de ces gènes de virulence et des mécanismes associés est la première étape indispensable à la mise en place de stratégies d'antivirulence qui sont une réelle alternative durable aux antibiotiques. En effet, contrairement aux traditionnelles molécules antibiotiques qui ne sont pas spécifiques d'une espèce bactérienne et qui ont pour fonction de tuer les bactéries ou de limiter leur croissance, les stratégies d'antivirulence sont des inhibiteurs de virulence mais pas de croissance ou de viabilité [27]. De fait la pression de sélection sur les bactéries est beaucoup plus faible et il n'y a donc pas d'apparition de phénomènes de résistance. Par ailleurs, cibler les mécanismes de virulence permet de ne pas impacter l'ensemble des bactéries présentes et donc de ne pas affecter les bactéries du microbiote commensal des poissons par exemple [28]. L'objectif de ce type de stratégie n'est pas de tuer les bactéries mais de « désarmer » les bactéries dangereuses.

2. Le programme et l'échéancier de travail

Le projet de thèse, détaillé ci-dessus, s'organisera en 3 grandes étapes.

La première étape portera sur l'étude de l'expression différentielle des gènes de virulence potentiels chez *V. harveyi* sous forme planctonique. En s'appuyant sur des challenges bactériens réalisés en collaboration avec PFI Nouvelles Vagues, une approche métatranscriptomique permettra de comparer les ARN bactériens de *V. harveyi* en présence ou non de juvéniles de bars. Différentes souches (notamment les souches de l'autovaccin utilisé par Aquanord-Ichtus) de *V. harveyi* pourront être

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

testées et comparées. Ce travail, complété en amont par une étude bibliographique approfondie du sujet, se déroulera lors de la première année de thèse pour une durée de 8 à 12 mois.

La deuxième étape de la thèse permettra au/à la doctorant-e de se rendre au LBCM de Lorient pour réaliser l'étude des biofilms de *V. harveyi* et de réaliser une étude métatranscriptomique. Il sera important d'identifier les gènes différentiellement exprimés par *V. harveyi* sous forme de biofilms par rapport à ceux exprimés sous forme planctonique mais il sera aussi possible de réaliser des prélèvements de biofilms lors des challenges bactériens pour comparer les gènes exprimés par les biofilms de *V. harveyi* en présence ou non de juvéniles de bars. Cette deuxième étape devrait durer entre 8 et 10 mois en tenant compte du temps de traitement des données et de leur interprétation.

La troisième étape sera consacrée à l'étude de l'influence des paramètres environnementaux sur l'expression des gènes d'intérêt identifiés lors des deux premières étapes. Cette approche *in vitro* sera aussi l'occasion de réaliser des prélèvements sur le terrain, dans les bassins d'Aquanord-Ichtus pour rechercher les gènes d'intérêt et leur expression (ARN) dans l'eau des bassins et les biofilms sur les parois des bassins. Cette 3^{ème} étape devrait durer entre 10 et 12 mois. Enfin, les derniers mois de la thèse seront consacrés à la rédaction du manuscrit de thèse et aux articles scientifiques valorisant les résultats obtenus.

3. Les retombées scientifiques et économiques attendues

Comme décrit précédemment, les retombées scientifiques attendues pour ce projet de thèse pourront bénéficier aux étudiants des formations de l'IFSEA et en particulier aux étudiants du Master SESAME et du Master EMAH notamment via par la réponse à l'appel à projet « Formation par la recherche ». Au niveau économique, les partenaires locaux de ce projet de thèse pourront bénéficier des résultats attendus. En particulier, les challenges bactériens réalisés en collaboration avec PFI Nouvelles Vagues seront une opportunité de conforter et d'enrichir les prestations proposées aux professionnels du secteur aquacole. Pour Aquanord-Ichtus, les expérimentations menées permettront de mieux comprendre et d'appréhender le risque de vibriose associé à *V. harveyi* mais surtout d'identifier les facteurs de virulence responsables du développement de la vibriose. Cette étape est une étape clé pour la mise au point de stratégies d'antivirulence, alternatives à l'utilisation d'antibiotiques. A terme cela permettrait donc à Aquanord-Ichtus de réduire les risques pour les poissons, pour les consommateurs et pour l'environnement, liés à l'usage d'antibiotiques. Cela permettrait aussi de réduire les coûts associés à l'achat de ces antibiotiques et surtout les coûts associés aux épisodes de mortalité massive imputables à la vibriose.

4. Les objectifs de valorisation des travaux de recherche du doctorant* : diffusion, publication et confidentialité, droit à la PI...

La valorisation académique des résultats du projet, se fera à travers des publications scientifiques dans des revues en Open Access, pour permettre la diffusion la plus large possible, mais pourra aussi faire l'objet de séminaires auprès de professionnels du monde de l'aquaculture. La diffusion sera aussi à destination d'étudiants désireux de poursuivre dans le domaine de l'aquaculture parmi lesquels les étudiants de l'IFSEA, de Licence Professionnelle Environnement Marin Ressources et Gestion ou encore de la Spécialité Agroalimentaire de l'Ecole d'Ingénieurs (EILCO). Cette diffusion, qui pourra être envisagée à travers des modules de cours, des conférences voire des sorties sur le terrain, sera ainsi l'opportunité de les sensibiliser aux problématiques liées à l'aquaculture dans le contexte du changement global, mais aussi à la recherche appliquée.

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

5. Les collaborations prévues et une liste de 10 publications* maximum portant directement sur le sujet

Grâce à ce projet de thèse, l'UMRt BioEcoAgro va renforcer son partenariat avec Aquanord-Ictus, initié en 2017 à travers le projet FEAMP (LUVIBAR ; 2017-2022) puis conforté à travers les thèses de Julia MOUGIN et d'Alix DA FONSECA FERREIRA. Les savoirs et savoir-faire d'Aquanord-Ictus sont indispensables à la réussite de ces travaux car ils permettent une connexion directe avec le terrain et la réalisation d'expérimentations en conditions réelles. Les résultats seront d'autant plus applicables sur le terrain que les expérimentations en conditions contrôlées seront complétées et confirmées par des prélèvements sur le terrain.

Le projet permettra également de renforcer le partenariat établi avec PFI Nouvelles Vagues depuis début 2021 pour la réalisation de challenges bactériens. La pathogénie de différentes souches de *V. harveyi* a ainsi pu être testée en optimisant les conditions expérimentales de ces challenges bactériens. Pour mener à bien une étude solide d'une interaction tripartite telle que celle de la vibriose du bar, il est important de pouvoir dans un premier temps « fixer » les conditions environnementales. Les savoirs et savoir-faire ainsi que les infrastructures de PFI Nouvelles Vagues permettent ainsi de réaliser des expérimentations en milieux contrôlés.

Ce projet de thèse sera aussi l'occasion de mettre en place un partenariat avec le Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines (LBCM, UBS, Lorient). Ce laboratoire est spécialisé dans l'étude des bactéries marines sous forme de biofilms, à l'aide de chambres à flux et de système « Drip Flow » permettant le travail en conditions dynamiques ainsi que de microscopie confocale à balayage laser. Grâce à ces techniques, le LBCM étudie notamment le lien entre le mode de vie en biofilms et la virulence bactérienne.

Un projet FEAMPA (InovAQtion) a été déposé en septembre 2023 avec différents partenaires parmi lesquels Aquanord-Ictus, PFI Nouvelles Vagues et le LBCM. Si un financement est accordé pour ce projet FEAMPA, les travaux de thèse s'intégreraient dans un des 3 Work Packages de ce projet FEAMPA. Cela permettrait notamment d'assurer le financement des consommables nécessaires à la bonne réalisation des expérimentations et leur valorisation. Plus généralement, ce projet de thèse et les résultats attendus seront un levier supplémentaire pour le dépôt de nouveaux projets régionaux, nationaux voire européens, notamment pour la mise en place de stratégies d'antivirulence en aquaculture dans un contexte « One Health ».

Publications portant directement sur le sujet :

Le Bris, C., Cudennec, B., Dhulster, P., Drider, D., Duflos, G. et Grard, T. (2016) Melanosis in *Penaeus monodon*: involvement of the laccase-like activity of hemocyanin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64, 3, p 663-670.

Bonnin-Jusserand, M., Copin, S., Le Bris, C., Brauge, T., Gay, M., Brisabois, A., Grard, T. et 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. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59.4, p 597-610.

Zeyer, E., Heuson, E., Himber, C., Phalip, V., Le Bris, C., Dhulster, P., Brisabois, A., Flahaut, C., Cudennec, B., Grard, T. et Duflos, G. (2018) Novel approach to identify phenoloxidase inhibitors: Optimization of spectrophotometric MBTH assay for high throughput use enzymatic assays and analysis. *Food Control* 93, p 89-91.

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

Mougin, J., Flahaut, C., Roquigny, R., Bonnin-Jusserand, M., Grard, T. et 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. *Frontiers in Microbiology* 11, p 2494.

Mougin, J., Roquigny, R., Travers, M.-A., Grard, T., Bonnin-Jusserand, M. et Le Bris, C. (2020) Development of a *mreB*-targeted real-time PCR method for the quantitative detection of *Vibrio harveyi* in seawater and biofilm from aquaculture systems. *Aquaculture*, p 735337.

Roquigny, R., Mougin, J., Le Bris, C., Bonnin-Jusserand, M., Doyen, P. et Grard, T. (2021) Characterization of the marine aquaculture microbiome: a seasonal survey in a seabass farm. *Aquaculture*, p 735987.

Mougin, J., Roquigny, R., Flahaut, C., Bonnin-Jusserand, M., Grard, T. et Le Bris, C. (2021) Abundance and spatial patterns over time of Vibrionaceae and *Vibrio harveyi* in water and biofilm from a seabass aquaculture facility. *Aquaculture*, p 736862.

Bourdonnais, E., Colcanap, D., Le Bris, C., Brauge, T. et Midelet, G. (2022) Occurrence of indicator genes of antimicrobial resistance contamination in the English Channel and North Sea sectors and interactions with environmental variables. *Frontiers in Microbiology* 13, p1750.

Bourdonnais, E., Brauge, T., DEBUICHE, S., Le Bris, C. et Midelet, G. (2022) Evaluation of bacterial DNA extraction methods on marine samples integrating a process control. *Molecular Biology* 11 :10.

Direction de la Thèse :

Directeur de thèse :	Thierry GRARD
Date d'obtention de l'HDR :	30 mai 2016
% d'encadrement pour cette thèse :30% , 50% ou 70%	50 %
Nombre de thèses encadrées : <i>Indiquer les % d'encadrement</i>	5 avec <u>50 %</u> de co-encadrement par thèse : 1. Alix DA FONSECA FERREIRA en 3 ^{ème} année. Soutenance en 2024 2. Thimoté OUDIN en 2 ^{ème} année. Soutenance en 2025 3. Saïd REKIBI affecté à l'Anses en 2 ^{ème} année. Soutenance en 2025 4. Alexandre WEBER inscrit à UArtois en première année. Soutenance en 2026. 5. Samantha DRUELLE inscrite à ULille en première année. Soutenance en 2026.

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

Rappel des règles d'encadrement :

STS : 400%

SHS : 600%

Codirection de Thèse :

Codirecteur de thèse :	Cédric LE BRIS
Etablissement de rattachement :	UMRt BioEcoAgro, ULCO, Boulogne sur mer
HDR : (oui ou non)	NON mais programmée en 2024 ou 2025
% d'encadrement pour cette thèse :	50 %
Nombre de thèses encadrées (soutenues et en cours) :	1 : Alix DA FONSECA FERREIRA (50%), soutenance prévue fin 2024
Date d'inscription en HDR	Inscription à l'HDR en novembre 2023

Rappel des règles d'encadrement pour les non HDR : 3 encadrements au total (4 maximum sur dérogation) si vous souhaitez codiriger davantage de thèses, vous devez demander votre inscription en HDR

Mesure dérogatoire valable pour les années universitaires 2022/2023 et 2023/2024 : 5 codirections (6 maximums sur dérogation. Nombre intégrant les thèses soutenues)

Fin de dérogation : le 1^{er} septembre 2024.

Bibliographie

1. United Nations Department of Economic and Social Affairs, P.D., *World Population Prospects 2022: Summary of Results*. 2022, United Nations Department of Economic and Social Affairs, Population Division.
2. FAO, *La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture (SOFIA)*, FAO, Editor. 2022: Rome, Italy. p. 294.
3. Mohd-Aris, A., et al., *Live vaccines against bacterial fish diseases: A review*. *Veterinary world*, 2019. **12**(11): p. 1806.
4. Austin, B., D.A. Austin, and C. Munn, *Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish*. Vol. 26. 2007: Springer.
5. Defoirdt, T., *Quorum-sensing systems as targets for antivirulence therapy*. *Trends in Microbiology*, 2018. **26**(4): p. 313-328.
6. Deng, Y., et al., *What drives changes in the virulence and antibiotic resistance of Vibrio harveyi in the South China Sea?* *Journal of fish diseases*, 2020. **43**(8): p. 853-862.
7. Trinanes, J. and J. Martinez-Urtaza, *Future scenarios of risk of Vibrio infections in a warming planet: a global mapping study*. *The Lancet Planetary Health*, 2021. **5**(7): p. e426-e435.
8. Vezzulli, L., *Global expansion of Vibrio spp. in hot water*. *Environmental Microbiology Reports*, 2022. **15**(2): p. 77-79.
9. Wang, D., et al., *Global expansion of Vibrio parahaemolyticus threatens the seafood industry: Perspective on controlling its biofilm formation*. *LWT*, 2022. **158**: p. 113182.
10. Pridgeon, J.W. and P.H. Klesius, *Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development*. *CABI Reviews*, 2012(2012): p. 1-16.

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM

11. Davies, J. and D. Davies, *Origins and evolution of antibiotic resistance*. Microbiology and molecular biology reviews, 2010. **74**(3): p. 417-433.
12. O'Neill, J., *Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations*. 2016.
13. Amarasiri, M., D. Sano, and S. Suzuki, *Understanding human health risks caused by antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARG) in water environments: Current knowledge and questions to be answered*. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2020. **50**(19): p. 2016-2059.
14. Jefferson, K.K., D.A. Goldmann, and G.B. Pier, *Use of confocal microscopy to analyze the rate of vancomycin penetration through Staphylococcus aureus biofilms*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2005. **49**(6): p. 2467-2473.
15. Defoirdt, T., P. Sorgeloos, and P. Bossier, *Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture*. Current opinion in microbiology, 2011. **14**(3): p. 251-258.
16. Romero, J., C.G. Feijóo, and P. Navarrete, *Antibiotics in aquaculture—use, abuse and alternatives*. Health and environment in aquaculture, 2012. **159**: p. 159-198.
17. Bondad-Reantaso, M.G., et al., *Review of alternatives to antibiotic use in aquaculture*. Reviews in Aquaculture, 2023.
18. Muniesa, A., et al., *Mapping the knowledge of the main diseases affecting sea bass and sea bream in Mediterranean*. Transboundary and Emerging Diseases, 2020. **67**(3): p. 1089-1100.
19. Vendramin, N., et al., *Fish health in Mediterranean Aquaculture, past mistakes and future challenges*. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 2016. **36**(1): p. 38-45.
20. Dadar, M., et al., *Advances in aquaculture vaccines against fish pathogens: global status and current trends*. Reviews in Fisheries Science & Aquaculture, 2017. **25**(3): p. 184-217.
21. Ji, Q., et al., *A review: progress in the development of fish Vibrio spp. vaccines*. Immunology Letters, 2020. **226**: p. 46-54.
22. Maiti, B., et al., *Evaluation of RAPD-PCR and protein profile analysis to differentiate Vibrio harveyi strains prevalent along the southwest coast of India*. Journal of Genetics, 2009. **88**: p. 273-279.
23. Bourne, D.G., et al., *Biofilm development within a larval rearing tank of the tropical rock lobster, Panulirus ornatus*. Aquaculture, 2006. **260**(1-4): p. 27-38.
24. Mougin, J., et al., *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*. Frontiers in microbiology, 2020. **11**: p. 586536.
25. Mougin, J., et al., *Development of a mreB-targeted real-time PCR method for the quantitative detection of Vibrio harveyi in seawater and biofilm from aquaculture systems*. Aquaculture, 2020. **525**: p. 735337.
26. Mougin, J., et al., *Abundance and spatial patterns over time of Vibrionaceae and Vibrio harveyi in water and biofilm from a seabass aquaculture facility*. Aquaculture, 2021. **542**: p. 736862.
27. Defoirdt, T., *Virulence mechanisms of bacterial aquaculture pathogens and antivirulence therapy for aquaculture*. Reviews in Aquaculture, 2014. **6**(2): p. 100-114.
28. Wright, A., et al., *Disease prevention and mitigation in US finfish aquaculture: A review of current approaches and new strategies*. Reviews in Aquaculture, 2023.

- *Champ obligatoire sur ADUM
- *Champ obligatoire en Français et Anglais sur ADUM