

Avis de Soutenance

Madame Elisabeth DEROLLEZ

Aspects moléculaires

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Efficacité in situ des TAPs (Targeted-Antibacterial-plasmids) pour cibler des souches résistantes aux antimicrobiens (AMR).

dirigés par Monsieur Christian LESTERLIN et Madame Claire PRIGENT-COMBARET

Soutenance prévue le **mercredi 17 décembre 2025** à 14h00

Lieu : Université Lyon 1 - Bibliothèque Universitaire (salle de conférence) 20 avenue Gaston Berger
69100 Villeurbanne

Salle :

Composition du jury proposé

M. Christian LESTERLIN	INSERM Lyon	Directeur de thèse
Mme Claire PRIGENT-COMBARET	CNRS Lyon	Co-directrice de thèse
Mme Patricia DOUBLET	Université Lyon 1	Examinatrice
M. Thibault STALDER	INSERM Limoges	Examineur
Mme Zeynep BAHAROGLU	Institut Pasteur Paris	Rapporteuse
M. Julien BUYCK	Université de Poitiers	Rapporteur
M. Pierre BOGAERTS	Université catholique de Louvain Belgique	Invité

Mots-clés : résistance, antibiotiques, CRISPR-Cas9, conjugaison, rhizosphere, bactérie,

Résumé :

L'émergence croissante de bactéries résistantes aux antibiotiques, combinée au faible rythme de découverte de nouvelles molécules, rend urgente la mise au point de stratégies antibactériennes innovantes, non antibiotiques, permettant un ciblage spécifique des souches pathogènes et/ou résistantes. Dans ce contexte, les plasmides antibactériens, nommés TAPs (Targeted-Antibacterial-Plasmids), permettent un ciblage sélectif des bactéries multirésistantes tout en préservant le microbiote commensal. Durant ma thèse, mon premier objectif a été d'optimiser les TAPs pour délivrer des systèmes CRISPR/Cas9 permettant de tuer ou de resensibiliser des souches cliniques : les *Escherichia coli* productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) codées par le gène blaCTX-M-15. Les TAPs codant l'endonucléase Cas9 induisent des cassures double brin dans le gène blaCTX-M-15 chromosomique, entraînant la mort bactérienne. Lorsque le gène cible est plasmidique, la coupure par Cas9 provoque la perte du plasmide et la resensibilisation de la bactérie, laquelle est accompagnée d'une élimination partielle via des systèmes toxine-antitoxine. En revanche, les TAPs codant l'endonucléase mutée dCas9 inhibent l'expression de blaCTX-M-15 sans affecter la viabilité cellulaire, restaurant ainsi la sensibilité à la céfotaxime. Le ciblage par les TAPs est spécifique et permet, dans des cultures mixtes, d'affecter sélectivement les souches portant blaCTX-M-15, tout en épargnant les autres espèces bactériennes présentes. Des essais de conjugaison dans un milieu

fécal humain ont montré une forte suppression des *E. coli* résistants à la céfotaxime par les TAPs, démontrant leur efficacité dans des environnements microbiens complexes. Après avoir démontré un transfert efficace et une activité antimicrobienne *in vitro*, le second objectif a été d'évaluer les performances des TAPs dans un autre environnement complexe et pertinent, connu pour abriter des *E. coli* pathogènes : la rhizosphère. Plus précisément, nous avons déterminé si la conjugaison et l'activité antibactérienne des TAPs peuvent avoir lieu dans cet écosystème associé au sol. Nos objectifs ont inclus : la caractérisation des interactions entre les TAPs et les bactéries indigènes du sol, la détection et la quantification des TAPs dans des échantillons environnementaux, et l'évaluation de l'impact potentiel des TAPs sur la structure et la diversité de la communauté microbienne de la rhizosphère. Étudier le spectre d'interactions entre les bactéries de la rhizosphère est un prérequis important, permettant de mieux comprendre cet environnement complexe. Bien que l'efficacité des TAPs ait été précédemment démontrée *in vitro*, ces travaux de thèse ont permis d'explorer le potentiel de cette stratégie envers des souches cliniques, à des fins d'élimination ou de resensibilisation avec différentes machineries de transfert. De plus, les premiers résultats d'application de ce système *in situ*, dans le sol rhizosphérique, ont permis de mieux comprendre la distribution des TAPs et leur impact sur les communautés microbiennes endogènes.