
**LES ÉLÉMENTS GÉNÉTIQUES MOBILES
CHEZ *Staphylococcus aureus* ET LEUR IMPACT
SUR LA DISSÉMINATION DE L'ANTIBIORÉSISTANCE**

Thèse de Rachel **CONTARIN**¹

Analysée par Arlette **LAVAL**²

Directrices de thèse :

Emilie **DORDET FRISONI**, UMR 1436 INTHERES (Innovations Thérapeutiques et Résistances), INRAE

Marisa **HAENNI**, Unité AVB (Unité Antibiorésistance et virulence bactériennes), ANSES

Objectif :

Ce travail s'intéresse à l'antibiorésistance de *Staphylococcus aureus*, une bactérie aérobie à Gram positif très répandue qui colonise naturellement la peau et les muqueuses des mammifères, mais aussi celles des oiseaux et des reptiles.

La partie introductive de la thèse « état de l'art » constitue une synthèse très complète des propriétés de cette bactérie. Elle peut être un commensal asymptomatique, mais peut aussi pénétrer dans les tissus et provoquer de graves infections. C'est aussi un agent redoutable d'infections nosocomiales. Elle est présente dans l'environnement, la poussière, les eaux usées, la surface des habitations où elle peut survivre pendant des mois.

Staphylococcus aureus produit de nombreux facteurs de virulence, soit associés à la surface membranaire, importants pour la phase d'initiation de l'infection, soit constitués de toxines extracellulaires et d'enzymes dégradant les tissus. Il existe de nombreuses souches, identifiables grâce aux méthodes de typage modernes, et l'intérêt majeur de cette bactérie réside dans son aptitude à acquérir une résistance aux antibiotiques. Cette résistance n'a pas cessé de se diversifier et de s'amplifier au cours du temps et il s'agit souvent d'une multirésistance. Les souches résistantes à la méticilline (SARM pour *Staphylococcus Aureus* Résistantes à la Méticilline) sont particulièrement préoccupantes, faisant de *S. aureus* un problème de santé publique majeur.

Dans ces conditions, l'étude du transfert de la résistance fait l'objet de nombreux travaux. Ce travail porte sur les modalités de transfert des gènes de résistance et des éléments génétiques mobiles capables d'assurer la diffusion horizontale de la résistance.

Résultats expérimentaux :

¹ Thèse préparée au sein de l'Ecole Doctorale SEVAB (Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries), Spécialité Infectiologie, Physiopathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition de l'université de Toulouse III - Paul Sabatier et soutenue le 16 décembre 2024.

² Membre de l'Académie d'agriculture de France section 6 « Sciences de la vie ».

Le travail personnel de l'auteur est présenté dans les trois parties suivantes :

La première partie porte sur l'interaction entre le mobilome et le résistome de *Staphylococcus aureus*. Elle vise à cartographier les interactions entre l'ensemble des EGMs (Eléments Génétiques Mobiles ou mobilome) et l'ensemble des gènes de résistance (GRAs pour Gènes de Résistance aux Antibiotiques). Plus de 10 000 génomes issus de la base de données publiques NCBI ont été étudiés, mettant en évidence les EGMs et GRAs les plus répandus ainsi que ceux qui jouent un rôle clé dans la dissémination de la résistance. Ce travail considérable a permis d'identifier les principaux acteurs de la dissémination des GRAs, et d'améliorer la compréhension des mécanismes favorisant la propagation de l'antibiorésistance.

La deuxième partie consiste en une analyse génomique des plasmides porteurs de résistance aux antibiotiques chez les *S. aureus* d'origine animale. Les plasmides de 330 isolats français collectés dans diverses espèces animales par le réseau Resapath ont été analysés. Au total, 217 plasmides ont été identifiés à partir de 140 isolats. Les familles majeures de plasmides identifiées (*rep7a*, *rep20* et *rep10*) sont associées à des gènes de résistance spécifiques (*str*, *cat*, *erm(C)*, *blaZ*) qui font l'objet d'un large transfert dans différentes séquences de *S. aureus* et d'animaux hôtes. Ces plasmides sont plus ou moins gros et ce travail montre l'apparition de plasmides en mosaïque, combinant les éléments de différentes espèces bactériennes confirmant la capacité de la bactérie à acquérir des ARGs de sources diverses. Ce travail montre donc que les plasmides sont des véhicules de l'antibiorésistance, acquérant leurs ARGs de sources de plasmides et de chromosomes variés.

La troisième partie s'attache à l'étude de la persistance et de la diffusion des plasmides de *S. aureus*. Les gènes portés par les plasmides peuvent constituer un avantage adaptatif selon les conditions environnementales, mais leur maintien dans la cellule hôte constitue une charge métabolique liée à leur réplication, à la transcription et à la traduction de leurs gènes. Ce coût métabolique devrait entraîner leur disparition. Le mécanisme de cette persistance étant peu étudié chez *S. aureus*, ce travail s'est attaché à tenter de l'éclaircir en travaillant sur un nombre restreint de souches de SARM de différentes origines (associées à la communauté, aux hôpitaux ou aux élevages), ainsi que sur une souche exempte de plasmide (souche « naïve »). Des expériences de conjugaison ont permis d'évaluer leur capacité de conjugaison et des études de fitness ont été conduites pour déterminer le coût métabolique des plasmides. Les résultats montrent que seulement deux des plasmides de SARM testés peuvent être transmis par conjugaison et des suivis de croissance ont été réalisés pour évaluer leur impact sur le fitness de la souche naïve. Selon le plasmide introduit, la vitesse de croissance est plus ou moins altérée.

Conclusion :

Cette thèse s'intéresse à un sujet d'importance majeure en santé humaine et animale. La synthèse bibliographique est très complète et bien présentée, introduisant parfaitement le choix des travaux qui ont ensuite été conduits et leur finalité.

Le travail expérimental est considérable, présenté clairement, constituant une suite logique qui donne un éclairage original sur un sujet, par ailleurs déjà bien étudié. Il montre l'importance des EGMs dans la diffusion de la résistance, mais aussi leur rôle actif dans le processus. En abordant les points qui peuvent perturber la diffusion des plasmides, ce travail ouvre une voie

de réflexion qui pourrait déboucher sur des applications pratiques en vue de limiter la dissémination de la résistance.

Cette thèse a permis :

- la publication d'un article dans une revue de haut niveau scientifique : *The interplay between mobilome and resistome in Staphylococcus aureus*. Rachel Contarin, Antoine Drapeau, Pauline François, Jean Yves Madec, Marisa Haenni, Emilie Dordet-Frisoni. (revue mBio, septembre 2024),
- la soumission de deux articles :
 - *Comprehensive Genomic Analysis of Antibiotic Resistance plasmids in Animal-Associated Staphylococcus aureus*. Rachel Contarin, Jean Yves Madec, Emilie Dordet-Frisoni, Marisa Haenni.
 - *La persistance et la diffusion des plasmides de Staphylococcus aureus*. Tom Cayssials, Rachel Contarin, Marisa Haenni, Emilie Dordet-Frisoni.
- la présentation de deux communications orales nationales : Staphosium à Lyon en novembre 2023 et Journées du département de Santé animale de l'INRAE en octobre 2022, et de posters dans des congrès internationaux et nationaux (*International Plasmid Biology Meeting* en 2024, *Symposium on Antimicrobial Resistance in Animals and the Environment* en 2023, Congrès national de la Société française de Microbiologie).

Les résultats originaux de cette thèse, qui s'inscrit dans le contexte de la thématique « One Health », entrent pleinement dans le champ d'intérêt de l'Académie d'agriculture de France et justifie sa valorisation par sa présentation sur le site et dans le Mensuel de l'Académie.