

Ecole doctorale Environnements-Santé
Dossier de projet de thèse « Contrat doctoral Etablissements »
ANNEE 2024

TITRE DU PROJET : "Étude Approfondie de la Population de *P. aeruginosa* chez les Chiens : Caractérisation Génomique et Exploration d'une Sous-Population"(PUPPY-GENE)

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse¹ (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :
Nom : JEANNOT
Prénom : KATY

Co-directeur de thèse éventuel :
Nom : HAENNI
Prénom : Marisa

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

Il s'agit d'une demande **de bourse** de thèse qui s'inscrit parfaitement dans les orientations nationales et européennes notamment dans ***the European Partnership on One Health Antimicrobial Resistance (OHAMR) 2025-2032***

Thèse en **co-direction** dont les parties sont :

- **UMR Chrono-environnement 6249**, Thème Agents Pathogènes, Bactériologie, Ambroise Paré, UFR Santé, Université de Franche-Comté, Besançon (Directrice de thèse Katy Jeannot 50%, katy.jeannot@univ-fcomte.fr)

&

- **Unité Antibiorésistance et Virulence Bactériennes**, ANSES laboratoire de Lyon (Co-Directrice de thèse Marisa Haenni 50%, : marisa.haenni@anses.fr)

Pseudomonas aeruginosa est la bactérie la plus fréquemment responsable de pneumopathies associées aux soins en Europe (19,9%), en particulier chez les patients hospitalisés en soins intensifs et en onco-hématologie. En **médecine vétérinaire**, *P. aeruginosa* reste sous-étudié, malgré son importance croissante. En France, le nombre de données sur cette espèce bactérienne collectées via le réseau Resapath (https://resapath.anses.fr/Site_RESAPATH) a augmenté de manière constante au cours des 10 dernières années, passant d'environ 500 antibiogrammes collectés en 2013 à près de 900 en 2023 (<https://shiny-public.anses.fr/resapath2/>). *P. aeruginosa* est principalement impliqué dans **l'otite externe chez le chien**. Mais il est également identifié chez d'autres animaux tels que le vison, le chat ou encore le cheval. Compte tenu de la promiscuité des chiens avec l'homme dans notre pays, des isolats peuvent être partagés entre ces deux hôtes sans connaître la direction de la transmission. Ainsi, **connaître la structure de la**

¹ ATTENTION : selon l'article 16 de l'arrêté du 25 mai 2016, le total d'encadrants ne peut pas dépasser 2, sauf si l'un des encadrants appartient au monde socio-économique, qui peut venir en sus, ou en cas de co-tutelle; Le décompte des co-encadrements se fera au prorata du nombre d'encadrants : 1 pour 1 encadrant, ½ pour deux encadrants.

population d'origine animale est importante pour évaluer le risque de transmission d'isolats pathogènes et comprendre l'adaptation de ces souches aux différentes niches écologiques. Dans un premier temps le travail de thèse visera à réaliser une étude rétrospective de la structure de la population de *P. aeruginosa* chez les animaux. Les données génomiques sur la structure de la population de *P. aeruginosa* chez les animaux sont encore sous-déclarées à l'échelle mondiale. Les souches de *P. aeruginosa* provenant d'animaux malades ont été collectées pendant plus de 10 ans via le réseau Resapath. En utilisant le séquençage complet du génome (Illumina), nous viserons à identifier la structure de la population de plus de 500 souches collectées en France entre 2013 et 2023. Les souches proviendront principalement de chiens, bien que des souches provenant d'autres espèces animales seront également explorées pour capturer l'épidémiologie inter-espèces. Les données de génomique issues des souches animales seront comparées à celles issues de souches isolées chez l'homme pour lesquelles les données de génomique et de sensibilité aux antibiotiques sont déjà disponibles. En effet, dans le cadre de la mission du Centre National de Référence de la Résistance aux antibiotiques (CNR-RA, Site de Besançon), nous disposons d'une collection de plus de 3 000 souches isolées chez l'homme de diverses infections dont les génomes ont été entièrement séquencés. Chez l'homme la résistance aux antimicrobiens chez cette espèce bactérienne est un véritable problème de santé publique et est associée à quelques clones dits à haut risque. En effet, ceux-ci ont la capacité d'acquérir et d'accumuler des gènes de résistance aux antibiotiques mais aussi aux antiseptiques, ou encore aux métaux. Chez l'homme peu de souches appartenant à ces clones sont sensibles aux antibiotiques. Ainsi, il sera intéressant de connaître les fonds génétiques des souches qui circulent chez l'animal pour connaître le potentiel de transmission de celles-ci chez l'homme et si celles-ci peuvent constituer un réservoir de souches sensibles pouvant accumuler de la résistance aux antimicrobiens. En parallèle, le profil de sensibilité de toutes les souches séquencées sera étudié. Une caractérisation approfondie des mécanismes de résistance émergents sera menée, sur la base de données génomiques (résistances acquises). Si cela s'avère nécessaire, nous pourrions étudier l'expression de certains mécanismes de résistance tels que la surproduction des systèmes d'efflux actif. Cette première partie du travail de thèse sera réalisée à **l'ANSES de Lyon**, en collaboration avec les ingénieurs bio-informatiques présents sur les sites de Lyon et du CNR-RA.

La seconde partie du projet, correspondra à l'étude d'une sous-population de *P. aeruginosa* dont la fréquence d'isolement semble plus élevée chez les animaux colonisés ou infectés que chez l'homme. En effet, au cours d'un travail préliminaire sur les souches de *P. aeruginosa* dans la population animale ($n=150$), nous avons observé qu'une sous-population très peu fréquente chez l'homme (<2%) était surreprésentée chez l'animal (environ 9%). Bien que les populations appartenant aux fonds génétiques PAO1 et PA14 soient les plus fréquentes chez l'homme et chez l'animal, cette sous-population pourrait être mieux adaptée à l'animal. Ainsi, nous avons collectés à ce jour 49 souches appartenant à cette sous-population chez les animaux et 8 souches provenant de prélèvements cliniques et environnementales. Dans un premier temps, une caractérisation génomique de cette sous-population sera effectuée par comparaison avec les autres populations de *P. aeruginosa* telles que PAO1, PA14, PA7 ou encore PAK. Ainsi, les régions et gènes spécifiques du core génome de cette sous-population seront analysés et cartographiés. A partir de ces données, nous sélectionnerons une ou plusieurs régions génomiques et/ou les gènes spécifiques pour une étude approfondie de leurs fonctions afin de mieux caractériser cette population et de mieux comprendre l'avantage que pourrait conférer cette population chez l'animal. Ainsi, à l'aide d'outils de génétique moléculaire déjà disponibles dans le laboratoire de Besançon, nous effectuerons la délétion et complémentation des gènes candidats. Une analyse phénotypique sera effectuée pour déterminer le ou les avantages de ces régions génomiques. Parallèlement, les

caractéristiques phénotypiques de cette sous-population seront évaluées par comparaison aux autres populations telles que la compétition entre différentes populations de *P. aeruginosa* dans différentes conditions de culture, la survie à différentes températures, ou encore la capacité à croître dans un environnement riche en lipides correspondant à la composition du cérumen du chien. L'ensemble de ces travaux sur la caractérisation de cette sous-population seront effectués au **laboratoire Chrono-environnement** (Besançon). Au total, ce projet vise à mieux comprendre la population des souches de *P. aeruginosa* chez l'animal, et plus particulièrement le chien.

- Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat) :

Les travaux de thèse seront financés en partie par la subvention du CNR de la résistance aux antibiotiques (renouvelée en 2023 pour la période 2023-2027) dont les missions incluent l'étude des souches de *P. aeruginosa* d'origine animale (collaboration active depuis plusieurs années avec l'Unité Antibiorésistance et Virulence Bactériennes), par un projet porté par l'unité AVB et accepté pour financement dans le cadre du plan EcoAntibio2 (PseudoPhage (2023-2025), et sur fonds propres des unités impliquées.

- connaissances et compétences requises

L'étudiant(e) en thèse devra posséder un Master en Biologie/Bio-informatique, en bio-informatique ou en biologie. Des compétences en bio-informatique notamment sur les organismes procaryotes ou des compétences en biologie notamment sur la bactériologie (culture bactérienne, manipulation en laboratoire L2, clonage bactérien et génétique bactérienne) seront privilégiés. Un candidat issu du Master 2 de l'université de Lyon est pressenti.

Résumé en français (limité chacun à 1800 caractères)

La bactérie pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa* est fréquemment responsable de pneumopathies liées aux soins chez les patients hospitalisés en réanimation. Cependant, son impact en tant que pathogène vétérinaire, notamment chez le chien, reste sous-étudié malgré son importance croissante. Ce projet de thèse, mené en collaboration avec l'ANSES de Lyon et l'UMR Chrono-environnement, vise à étudier la structure de la population de *P. aeruginosa* chez les animaux ainsi que les mécanismes de résistance émergents, en particulier chez le chien, en analysant les données génomiques collectées sur plus de 500 souches entre 2013 et 2023. Une comparaison sera établie avec les souches isolées chez l'homme, mettant en lumière le potentiel de transmission de résistance aux antibiotiques entre les deux hôtes. La seconde partie du projet se concentrera sur une sous-population de *P. aeruginosa* plus fréquemment isolée chez les animaux que chez l'homme. Une caractérisation génomique approfondie sera effectuée pour identifier les gènes spécifiques de cette sous-population, suivie d'études de génétique moléculaire pour mieux comprendre son adaptation chez l'animal. Les caractéristiques phénotypiques de cette sous-population seront également évaluées, y compris sa compétition avec d'autres populations bactériennes et sa survie dans des conditions environnementales spécifiques, telles que le cérumen du chien. Ce projet global cherche à approfondir la compréhension de la population de *P. aeruginosa* chez les animaux, en mettant particulièrement l'accent sur les implications chez le chien.

Résumé en anglais (limité chacun à 1800 caractères)

The opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* is frequently responsible for healthcare-associated pneumonia in patients hospitalized in intensive care units. However, its impact as a veterinary pathogen, especially in dogs, remains under-studied despite its growing significance. This thesis project, conducted in collaboration with ANSES Lyon and the UMR Chrono-environment, aims to investigate the population structure and the emerging mechanisms of resistance of *P. aeruginosa* originating from animals, particularly from dogs. This involves analyzing genomic data collected from over 500 strains between 2013 and 2023. A comparison will be drawn with strains isolated from humans, highlighting the potential for antibiotic resistance transmission between the two hosts. The second part of the project will focus on a subpopulation of *P. aeruginosa* more frequently isolated in animals than in humans. In-depth genomic characterization will be carried out to identify specific genes of this subpopulation, followed by molecular genetics studies to better understand its adaptation in animals. Phenotypic characteristics of this subpopulation will also be evaluated, including its competition with other bacterial populations and survival in specific environmental conditions, such as the earwax of dogs. This comprehensive project aims to deepen the understanding of the *P. aeruginosa* population in animals, with a particular emphasis on implications in dogs.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous (2 choix possibles maximum – ne pas modifier les intitulés : ils sont imposés par certains sites web) :

Biologie

Santé, médecine humaine, vétérinaire

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa*, One health, génomique, animal, chien, résistance aux antibiotiques