

TITRE DU PROJET (limité chacun à 255 caractères)

Evaluation des facteurs contribuant à la virulence et au succès du clone international IC1 de *Acinetobacter baumannii*

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

Directeur de thèse HDR :

Nom : JEANNOT

Prénom : Katy

Section CNU : 45.01

Grade : PU-PH

HDR : Date de soutenance : 4 décembre 2015 Discipline : Microbiologie - ED Environnement Santé

L'HDR devra être soutenue, ou sa soutenance autorisée, au moment du dépôt du présent projet.

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) :

UFR Santé, 19 rue Ambroise Paré, 25000 Besançon

katy.jeannot@umlp.fr

(+33) 3 70 63 21 68

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : UMR 6249 Chrono-environnement, Emilie Gauthier

Co-directeur de thèse éventuel :

Nom : POTRON

Prénom : Anaïs

Section CNU : 45.01

Grade : MCU-PH

HDR : non ☒ ; oui ☐ Date de soutenance..... Discipline :

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) :

UFR Santé, 19 rue Ambroise Paré, 25000 Besançon

anais.potron@umlp.fr

(+33) 3 70 63 21 68

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : UMR 6249 Chrono-environnement, Emilie Gauthier

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

- nom et label de l'unité de recherche (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu)

Laboratoire Chrono-Environnement UMR 6249 CNRS-UFC, Équipe de Bactériologie

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.

- localisation

UFR Santé, 19 rue Ambroise Paré, 25000 Besançon

- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu

Directrice de thèse : Pr. Katy Jeannot

Co-directrice de thèse : Dr. Anaïs Potron

- adresse courriel du contact scientifique

katy.jeannot@umlp.fr, anaïs.potron@umlp.fr

- titre du projet

Evaluation des facteurs contribuant à la virulence et au succès du clone international IC1 de *Acinetobacter baumannii*

- description du projet (2 pages maximum)

Contexte scientifique

Acinetobacter baumannii est un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales sévères (pneumonies associées à la ventilation, bactériémies, infections de plaies). Il est reconnu pour sa capacité exceptionnelle à persister dans l'environnement hospitalier, à survivre dans des conditions hostiles et à accumuler des mécanismes de résistance aux antibiotiques. Cette plasticité génétique favorise l'émergence de souches multirésistantes, voire pan-résistantes, associées à des taux de mortalité élevés (Wong et al. 2017). En 2017, l'Organisation Mondiale de la Santé a classé *A. baumannii* résistant aux carbapénèmes parmi les agents pathogènes prioritaires critiques pour la santé publique. Les souches résistantes aux carbapénèmes appartiennent majoritairement à 9 clones internationaux (IC1-IC9), parmi lesquels le clone IC1 présente une diffusion mondiale et un fort potentiel épidémique. Ce clone à haut risque combine multirésistance et forte capacité d'adaptation, probablement liée à l'acquisition d'éléments génétiques mobiles par transfert horizontal.

Des travaux préliminaires menés au laboratoire Chrono-Environnement ont identifié, au sein de souches épidémiques IC1 particulièrement virulentes (désignées ABRICO), l'acquisition d'un îlot génomique de 63 kb (données non publiées). Cet îlot confère une résistance aux carbapénèmes ainsi qu'à la colistine, antibiotique de dernier recours. Il porte notamment le régulateur transcriptionnel PmrA, retrouvé constitutivement actif chez ces souches en raison d'une mutation. PmrA est impliqué dans les modifications du lipopolysaccharide (LPS), altérant la composition membranaire et contribuant à la résistance à la colistine. Des données préliminaires suggèrent également un rôle dans la réplication intracellulaire au sein des cellules de l'hôte (collaboration avec le Pr Suzana Salcedo, University of Wisconsin–Madison). Toutefois, les déterminants génétiques responsables de ce phénotype restent à identifier.

Dans ce contexte, ce projet vise à comprendre dans quelle mesure cet îlot génomique contribue à la virulence et au succès épidémique du clone IC1.

Objectifs

Le projet doctoral poursuivra trois objectifs principaux

1. **Caractériser l'îlot génomique de 63 kb** et analyser sa distribution au sein du clone IC1.
2. **Identifier les déterminants génétiques impliqués dans la virulence et la réplication intracellulaire**, en particulier ceux régulés par PmrA.
3. **Étudier l'impact des modifications membranaires sur l'interaction avec l'hôte**, notamment sur la réponse immunitaire.

Programme de travail

Trois axes de travail seront développés :

i. Caractérisation de l'îlot génomique acquis et analyse de sa distribution (6 mois).

L'îlot génomique acquis par les souches ABRICO sera entièrement annoté et caractérisé. L'ensemble des gènes qu'il contient (environ 60) feront l'objet d'analyses bio-informatiques : comparaison des séquences nucléotidiques à celles des bases de données (NCBI), annotation fonctionnelle, prédiction des voies métaboliques (KEGG PATHWAY Database) et des déterminant de virulence/résistance (Resfinder, CARD, Virulencefinder,...).

Cet îlot génomique a déjà été identifié dans d'autres souches de *A. baumannii*. Le doctorant s'appuiera sur la collection de génomes de *A. baumannii* disponibles au Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques de Besançon (>500 génomes) afin de déterminer la prévalence de cet îlot chez des souches multi-résistantes aux antibiotiques.

Cette étude sera ensuite élargie aux génomes disponibles dans les bases de données. Des expériences de transformation permettront ensuite d'évaluer la transférabilité de l'îlot dans différents fonds génétiques et d'estimer sa fréquence de transfert.

ii. Analyse transcriptomique et caractérisation des gènes impliqués dans la virulence et la réplication intracellulaire chez l'hôte (18 mois)

Des analyse transcriptomiques par RNA-Seq (Microsynth, Balgach, Suisse) réalisées sur une souche représentative ABRICO délétée ou non du régulateur transcriptionnel PmrA sont prévues courant du 2ème trimestre 2026. Le doctorant aura donc la charge d'analyser les résultats de transcriptomiques, valider ces résultats par RTqPCR puis de réaliser des expériences de délétion-complémentation des gènes dont l'expression est modifiée dans ces deux constructions par la méthode de recombinaison homologue, en utilisant la technologie *Nebuilder* (New England Biolab) et le plasmide suicide pMHL-2 (Godeux *et al*, 2018), ou par la réalisation de clonages avec le plasmide pABEC (Vuilleminot *et al*, 2022). Les mutants obtenus seront ensuite caractérisés afin de déterminer le rôle des cibles précédemment identifiées dans le phénotype des souches en déterminant notamment la croissance bactérienne, la production de biofilm par méthode de cristal violet, la résistance à la dessiccation par méthode de dessiccation/ressuscitation et la survie dans des modèles *Galleria mellonella*. Une collaboration avec le Pr Suzana Salcedo (Université Wisconsin-Madison) est également prévue pour étudier les facteurs intervenant dans la réplication intracellulaire des souches et mutants obtenus par microscopie confocale et à épifluorescence.

iii. Etude de la composition membranaire et de l'impact de la réponse immunitaire de l'hôte (12 mois).

La détermination de la composition membranaire de la souche ABRICO délétée ou non du régulateur transcriptionnel PmrA par spectrométrie de masse est prévue lors d'une collaboration avec la plateforme DiviOmics (Université de Bourgogne Europe). La composition du lipide A 3-hydroxy myristyl sera étudiée après purification et hydrolyse du LOS des souches et mutants mentionnés précédemment. Les lipoformes du lipide A présentes sur le LOS des mutants seront ensuite caractérisées et comparées par LCHRMS². Enfin, l'impact de la réponse immunitaire de l'hôte sera quant à elle évaluée en collaboration avec l'équipe de l'UMR 1231 (Université de Bourgogne Europe) par des expériences de résistance à la phagocytose et l'évaluation de l'expression et de la production de cytokines inflammatoires (TNF, IL-6, et IL-8) par RTqPCR et la méthode ELISA, respectivement.

Perspectives

Ce projet se base sur l'expertise en biologie moléculaire et microbiologie fondamentale du laboratoire Chrono-Environnement et sur les capacités d'analyse bio-informatique de la plateforme 2B2S (CHU/UFR Santé, Besançon). Des collaborations internationales (Pr Suzana Salcedo-Université Wisconsin-Madison) et nationales (plateforme DiviOmics et de l'UMR 1231 -- Université de Bourgogne Europe) viendront le compléter. Il permettra de mieux comprendre les bases moléculaires du succès épidémique du clone IC1, d'identifier des déterminants génétiques clés de la virulence et d'apporter des connaissances nouvelles sur le lien entre résistance aux antibiotiques et pathogénicité. À terme, ces travaux pourraient contribuer à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques ou stratégies de contrôle des infections à *A. baumannii* multirésistant.

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

Type de financement	Montant	Acquis/Soumis/Prévu
HARMI	42.000 €	soumis (Novembre 2025 – réponse avril 2026)
Chrysalide UFC	9.000 €	prévu (septembre 2026)
CHU Besançon	5.000 € 5.000 €	acquis (AAP CELIA) prévu
Chrono-environnement	1.500 €	acquis (informatique, soutenance, budget thèmes)
Ecole doctorale ES	1.500 €	acquis sur 3 ans (congrès)
TOTAL	64.000 €	

- connaissances et compétences requises

Connaissances pratiques et théoriques en microbiologie et biologie moléculaire.
Bases solides en bio-informatique.
Pratique de l'anglais écrit et lu.
Capacité à communiquer à l'oral et à l'écrit.
Bonne intégration dans le groupe de recherche Agents Pathogènes.

Résumé en français et anglais (limité chacun à 1800 caractères)

Résumé en français

Acinetobacter baumannii est un pathogène nosocomial prioritaire, responsable d'infections graves et capable d'accumuler de multiples mécanismes de résistance aux antibiotiques. Classé par l'OMS comme prioritaire pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques parmi les bactéries critiques, il représente une menace majeure pour la santé publique. La diffusion mondiale de certains clones internationaux, notamment le clone IC1, suggère l'existence de déterminants génétiques contribuant à leur succès épidémique et à leur virulence accrue.

Des travaux préliminaires ont identifié, chez des souches IC1 particulièrement virulentes (ABRICO), un îlot génomique de 63 kb acquis par transfert horizontal. Cet élément porte des gènes de résistance aux carbapénèmes et à la colistine, ainsi qu'un régulateur transcriptionnel, PmrA, constitutivement actif en raison d'une mutation. PmrA est impliqué dans la modification du lipopolysaccharide et pourrait également influencer la réplication intracellulaire et la virulence.

Ce projet vise à déterminer la contribution de cet îlot génomique au succès du clone IC1. Il s'articule autour de trois axes : (i) la caractérisation complète de l'îlot et l'étude de sa prévalence dans des collections génomiques nationales et internationales ; (ii) l'identification, par transcriptomique des gènes régulés par PmrA impliqués dans la virulence et la réplication intracellulaire ; (iii) l'analyse des modifications membranaires par spectrométrie de masse et l'évaluation de leur impact sur la réponse immunitaire de l'hôte.

Ce travail permettra de mieux comprendre les liens entre résistance aux antibiotiques, adaptation intracellulaire et virulence, et d'identifier des déterminants moléculaires expliquant le succès épidémique du clone IC1.

Résumé en anglais

Acinetobacter baumannii is a priority nosocomial pathogen responsible for severe infections and capable of accumulating multiple antibiotic resistance mechanisms. Classified by the World Health Organization as a critical priority pathogen for the development of new therapeutic strategies, it represents a major threat to public health. The worldwide spread of certain international clones, particularly clone IC1, suggests the presence of genetic determinants contributing to their epidemic success and increased virulence.

Preliminary studies have identified, in highly virulent IC1 strains (ABRICO), a 63-kb genomic island acquired through horizontal gene transfer. This element carries genes conferring resistance to carbapenems and colistin, as well as a transcriptional regulator, PmrA, which is constitutively active due to a mutation. PmrA is involved in lipopolysaccharide modification and may also influence intracellular replication and virulence.

This project aims to determine the contribution of this genomic island to the success of clone IC1. It is structured around three main objectives: (i) full characterization of the genomic island and assessment of its prevalence in national and international genomic collections; (ii) identification, through transcriptomic analyses, of PmrA-regulated genes involved in virulence and intracellular replication; and (iii) analysis of membrane modifications by mass spectrometry and evaluation of their impact on the host immune response.

This work will improve our understanding of the links between antibiotic resistance, intracellular adaptation, and virulence, and will identify molecular determinants underlying the epidemic success of clone IC1.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous :

2 choix possibles maximum –les intitulés sont ceux d’ABG).

- Biologie
- Santé, médecine humaine, vétérinaire

Indiquez quelques mots clés concernant votre sujet) :

Acinetobacter baumannii, virulence, régulateur transcriptionnel, résistance aux antibiotiques