



HAL
open science

Impact du stress de l'hôte sur la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques au sein du microbiote intestinal

Corentine Alauzet

► **To cite this version:**

Corentine Alauzet. Impact du stress de l'hôte sur la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques au sein du microbiote intestinal. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Lorraine, 2024. tel-04895121

HAL Id: tel-04895121

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-04895121v1>

Submitted on 17 Jan 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE

BioSE



MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement pour l'obtention du diplôme

HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Mention « Sciences de la Vie et de la Santé »

par

Corentine ALAUZET

Impact du stress de l'hôte sur la dissémination
des gènes de résistance aux antibiotiques
au sein du microbiote intestinal

le 9 avril 2024

Membres du jury:

Rapporteurs : Monsieur Olivier JOIN-LAMBERT, PU-PH section 45-01

Madame Marie-Cécile PLOY, PU-PH section 45.01

Madame Muriel THOMAS, DR INRAE

Examineurs : Madame Catherine CAILLIEZ-GRIMAL, MCF section 68

Madame Estelle JUMAS-BILAK, PU-PH section 82

Monsieur Alain LOZNIEWSKI, PU-PH section 45-01 (parrain scientifique)

Monsieur Christophe MERLIN, MCF section 87

Invité : Monsieur Jean-Pol FRIPPIAT, PU section 68

- UR 7300 Stress IMMUNITÉ PATHOGÈNES -

SOMMAIRE

<i>Préambule</i>	1
<i>Curriculum vitae</i>	
Etat civil	2
Situation professionnelle & unité de recherche	2
Liste des diplômes	3
Cursus hospitalo-universitaire	4
Fonctions administratives nationales & locales	4
Activités de ‘management’	6
Appartenance à des sociétés savantes, médicales ou scientifiques	6
Activités d’expertise	6
Organisation de congrès	7
Formations suivies	7
 <i>Activités hospitalières</i>	
Le département de Microbiologie du CHRU de Nancy	9
Activités personnelles au sein du laboratoire	11
Activités de gardes & astreintes	14
Projet hospitalier	15
 <i>Activités en pédagogie</i>	
Equipe enseignante	16
Enseignements réalisés	17
Chapitres de livres	20
Responsabilités pédagogiques	20
Exposés oraux & documents pédagogiques réalisés	20
Score SIAPS	21
Projet pédagogique	23
 <i>Activités de recherche</i>	
Appartenance à une structure de recherche labellisée	24
Liste des collaborations scientifiques	28
Liste des contrats de recherche	29
Liste des encadrements & co-encadrements	31

Participation à des jurys	33
Activités de recherche bio-clinique	35
Activités de recherche expérimentale	46
Listes des publications	67
Listes des présentations orales sur invitation	78
Listes des présentations orales sans invitation	78
Listes des communications affichées	80
Rayonnement scientifique	84
<i>Projet de recherche</i>	85

PREAMBULE

Mon attrait pour la biologie a débuté très jeune, probablement dès les « premières expériences » réalisées à l'école primaire d'un petit village aveyronnais. Cette attirance a été confortée au collège et surtout au lycée avec une curiosité accrue pour le monde de la recherche. Suivant les conseils d'amis de la famille, j'ai opté pour des études de pharmacie qui me permettaient d'intégrer une filière pouvant mener à de la recherche en biologie appliquée dans le domaine de la santé. J'ai effectué mes études à la Faculté de Pharmacie de Montpellier et, dès la fin de première année, j'ai réalisé mon premier stage chez un industriel local réalisant des travaux de recherche dans le cadre d'obtention d'autorisation de mise sur le marché de produits de cosmétologie. Ensuite, j'ai réalisé un stage d'initiation à la recherche au laboratoire de biologie cellulaire de ma faculté, stage qui m'a confortée dans mon envie d'en faire mon futur métier. J'ai donc poursuivi par une 5^{ème} année de pharmacie en option « recherche » puis un DEA en 6^{ème} année avec des stages réalisés au laboratoire de Parasitologie-Mycologie de ma faculté. Durant ce DEA, j'ai monté un projet de recherche en bactériologie, avec l'aide du Pr Estelle Jumas-Bilak, qui a confirmé ma passion pour la microbiologie, et plus particulièrement les bactéries. Dans l'optique d'entamer une thèse d'Université en bactériologie, j'ai postulé sur un poste d'Assistant Hospitalo-Universitaire (AHU) au CHRU de Nancy dans le laboratoire du Pr Alain Lozniewski. Ce dernier était à la recherche d'un candidat capable de mettre en place au CHRU un secteur de diagnostic bactériologique moléculaire, et intéressé par un doctorat sur les bactéries anaérobies.

Je travaille donc dans l'équipe du Pr Lozniewski depuis 2004, tout d'abord en tant qu'AHU, puis en tant que Praticien Hospitalo-Universitaire et, depuis 2012, en tant que MCU-PH. Je me suis, dans un premier temps, impliquée dans la thématique de recherche du laboratoire portant sur la résistance aux antibiotiques des bactéries anaérobies, en y apportant un versant phylogénie grâce au lien étroit que j'ai conservé avec le Pr Jumas-Bilak. Ceci m'a permis de réaliser ma thèse d'Université et d'afficher une expertise dans le domaine des anaérobies qui a mené à la publication de 16 articles de recherche, 2 revues et 4 chapitres de livres. Mérieux Université m'a également sollicitée pour être formatrice d'une session annuelle « Isolement et identification des bactéries anaérobies strictes ».

Cet intérêt pour les bactéries anaérobies m'a naturellement menée vers le microbiote intestinal qui est dominé par ces espèces bactériennes. Depuis plusieurs années, je suis persuadée du rôle crucial qu'exercent nos microbiotes sur notre santé et je me suis enthousiasmée de pouvoir travailler dessus dans le cadre d'une collaboration avec des immunologistes de la Faculté des Sciences de Nancy. Cette collaboration débutée en 2010 a d'une part été le point de départ de ma nouvelle thématique de recherche concernant l'impact d'un stress de l'hôte sur le microbiote intestinal, constituant mon projet de recherche pour ma candidature à un poste de MCU-PH au sein du laboratoire du Pr Lozniewski. D'autre part, ce projet a été un élément essentiel de la création par le Pr Jean-Pol Fripiat d'une nouvelle équipe de recherche en 2013, l'UR 7300 Stress Immunité Pathogènes, évaluant l'influence des stress chroniques sur l'immunité et les microorganismes. Mon projet actuel au sein de cette équipe porte sur l'évaluation de l'impact du stress sur la dissémination de la résistance aux antibiotiques au sein du microbiote intestinal.

Durant toutes ces années, j'ai encadré et co-encadré de nombreux étudiants sur mes divers projets, qu'ils soient fondamentaux ou cliniques, y prenant toujours beaucoup de plaisir. Accompagner et former les étudiants à la recherche me semble être un axe fondamental de mon activité professionnelle. C'est pourquoi je dépose ma demande d'Habilitation à Diriger des Recherches.

CURRICULUM VITAE

ETAT CIVIL

Corentine ALAUZET

Née le 02 mai 1979 à Metz

Nationalité française

Pacsée, deux enfants

SITUATION PROFESSIONNELLE & UNITE DE RECHERCHE

Situation professionnelle actuelle : Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier. Poste 451 MCPH 0373 – NANCY.

Unité de recherche contractualisée de rattachement : UR 7300 SIMPA "Stress Immunité Pathogènes", Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine

Adresses professionnelles : Laboratoire de Bactériologie – site de Brabois
Bâtiment de Biologie et Biopathologie – CHRU de Nancy
Rue du Morvan
54500 Vandoeuvre-les-Nancy
E-mail : c.alauzet@chru-nancy.fr
Tél. : 03.83.15.39.38
Fax : 03.83.15.43.76

Laboratoire de Bactériologie
UR 7300 "Stress Immunité Pathogènes"
Université de Lorraine
Faculté de Médecine
9, avenue de la Forêt de Haye
54500 Vandoeuvre-les-Nancy
E-mail : corentine.alauzet@univ-lorraine.fr
Tél. : 03.72.74.63.15

LISTE DES DIPLOMES

2009	<p>Diplôme d'Etat de Docteur de l'Université Henri Poincaré (mention Génomique) Laboratoire de Bactériologie, Faculté de Médecine (Pr A. Lozniewski) UMR CNRS 7565 (2005-2008) et EA 4369 (2009), Nancy Université Soutenance : le 06 novembre 2009 à Nancy</p> <p>"Taxonomie des bactéries anaérobies : de la reclassification à la découverte de nouveaux pathogènes"</p> <p><u>Jury</u> : Pr Jaulhac (rapporteur), Pr Pons (rapporteur), Pr Leblond (président), Pr Jumas-Bilak, Pr Lozniewski (co-directeur), Dr Mory (co-directeur)</p>
2003	<p>Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie Laboratoire de Mycologie, EA 2413, UFR de Pharmacie, Université Montpellier I Soutenance : 13 octobre 2003 à Montpellier</p> <p>"Diversité génétique et résistance aux antifongiques de <i>Candida albicans</i> lors du suivi de patients VIH-positifs"</p> <p><u>Jury</u> : Pr Mallié (président), Pr Reynes, Pr Bastide, Dr Le Moing, Dr Bertout (directeur)</p>
2008	<p>Inscription sur la liste d'aptitude des Praticiens Hospitaliers</p>
2003	<p>Diplôme d'Etudes Approfondies de Parasitologie Laboratoire de Mycologie, EA 2413, UFR de Pharmacie, Université Montpellier I Soutenance : juillet 2003 à Montpellier</p> <p>"Diversité génétique et résistance aux antifongiques de <i>Candida albicans</i> lors du suivi de patients VIH-positifs"</p>
2000 – 2003	<p>Maîtrise des Sciences Biologiques et Médicales Faculté de Pharmacie, Université Montpellier I</p> <ul style="list-style-type: none"> – Certificat de Pharmacologie Cellulaire, Pharmacogénétique et Pharmacocinétique – Certificat de Physiopathologie des Maladies Transmissibles – Certificat de Biologie Moléculaire de la Cellule – Stage d'Initiation à la Recherche (du 09/05 au 21/07/2000), Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, ERT 1038, UFR de Pharmacie, Université Montpellier I
2009	<p>Diplôme Universitaire de Microbiologie Cellulaire Institut Pasteur, Lille</p>
2008	<p>Diplôme Inter-Universitaire de Pédagogie Médicale de l'Est Faculté de Médecine, Nancy Université</p> <p>"Mise en place d'une stratégie d'information rapide des médecins généralistes lorrains dans le cadre d'une épidémie"</p>
2007	<p>Diplôme Universitaire de Bactériologie Médicale Institut Pasteur, Paris – Université Denis Diderot, Paris VII</p>
1997	<p>Baccalauréat série S (mention AB)</p>

CURSUS HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Depuis septembre 2012	<p>Maître de Conférence des Universités -Praticien Hospitalier Laboratoire de Bactériologie (Pr Lozniewski) CHRU de Nancy Laboratoire de Bactériologie – UR 7300 "SImPa" (Pr Frippiat puis Pr Lozniewski) Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine</p>
2008 – 2012	<p>Praticien Hospitalier Universitaire Laboratoire de Bactériologie (Pr Lozniewski) CHRU de Nancy Laboratoire de Bactériologie – EA 4369 "RHEM" (Pr Faure) Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine</p>
2004 – 2008	<p>Assistant Hospitalo-Universitaire Laboratoire de Bactériologie (Pr Lozniewski) CHRU de Nancy Laboratoire de Bactériologie – EA 4369 "RHEM" (Pr Faure) Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine</p>
1997 – 2003	<p>Etudes de Pharmacie Faculté de Pharmacie, Université Montpellier I Stage de 5^{ème} année hospitalo-universitaire (option recherche) "Etude par RFLP du polymorphisme du gène de résistance <i>erg11</i> au sein d'une population de souches cliniques de <i>Candida albicans</i> isolées de patients VIH-positifs " Stage d'initiation à la recherche (3 mois), ERT 1038 " Clonage d'ADNc de <i>Babesia canis</i> dans un vecteur d'expression après modification de ses extrémités par insertion de sites de restriction par PCR et expression de protéines recombinantes " Stage au Centre de Recherche, d'Innovation et de Développement, Parc Euromédecine, Montpellier (1 mois)</p>

FONCTIONS ADMINISTRATIVES NATIONALES ET LOCALES

Membre du Conseil National des Universités section 45.01 depuis 2019

Depuis mon élection en 2019 par mes pairs, je participe aux jurys de pré-sélection et sélection des candidats à un poste de MCU-PH au sein de la sous-section 45.01 « Bactériologie-Virologie-Hygiène Hospitalière ». Nous auditionnons également les candidats à un poste de PHU afin de donner un avis auprès des universités d'accueil. Je participe également au classement des dossiers pour l'attribution des promotions et des PEDR pour la section 45. Nous

évaluons à ce titre annuellement environ 70 dossiers de candidature et auditionnons une vingtaine de candidats MCU-PH ou PHU.

Membre du Conseil Scientifique de la Société Française de Microbiologie depuis 2019

Mon travail au sein du CS de la SFM consiste à participer à l'organisation du congrès annuel (cf paragraphe ultérieur).

Membre du Conseil Scientifique de la Faculté de Médecine de Nancy de 2018 à 2022

Durant ces années au sein du CS de la Faculté de Médecine, nous avons mis en place une UE libre de Formation à la Recherche Médicale qui accueille depuis 2019 entre 55 et 130 étudiants. J'étais, avec le Dr Alice Aarnink, responsable de l'organisation des TD de cette UE. Nous avons par ailleurs mis en place depuis 2019 une validation officielle des stages d'initiation à la recherche réalisés par les étudiants de la Faculté de Médecine en évaluant leur rapport ainsi que la présentation orale de leur travail. Pour motiver les étudiants à s'investir dans la recherche, nous avons mise en place l'attribution d'un prix au meilleur candidat sous la forme d'une prise en charge financière de la publication de son travail. Enfin, nous avons également relancé dès 2019 l'attribution du prix de recherche annuel « Lydie et Michel WITTNER » d'une valeur de 10 k€ pour les doctorants travaillant dans les domaines de la cancérologie, des maladies du coeur, de la rhumatologie, des maladies infectieuses ou contagieuses ou autres affections non encore guérissables.

Membre du Conseil d'Administration de la Société Française de Microbiologie de 2016 à 2019

Après avoir été élue en 2016 par les membres de la SFM, mon rôle au sein du CA a été de participer à la réflexion menée par le nouveau président sortant, le Pr Gérard Lina, sur le renouveau à insuffler à cette société savante. Durant ce mandat, un nouveau site internet a été mis en place, un nouveau modèle de congrès annuel a été proposé et a permis depuis d'en améliorer l'attractivité, de nouveaux groupes de travail ont été créés dont notamment le groupe ReJMIC constituant le réseau des jeunes microbiologistes cliniques que j'ai initialement parrainé avec le Pr Christophe Burucoa.

Membre du Conseil de Laboratoire de l'UR 7300 de 2013 à 2021 puis à partir de 2024

En tant que membre du conseil de laboratoire, j'ai participé aux discussions concernant la politique scientifique du laboratoire, l'organisation de la vie du laboratoire, le budget prévisionnel, la promotion du personnel, la recherche de financement ainsi que la planification de l'accueil des étudiants. Nous avons eu par ailleurs à gérer durant cette période plusieurs mois de travaux dans notre bâtiment qui nous ont amené à nous réorganiser temporairement sur deux sites : les immunologistes ont été hébergés sur le site de l'ENSAIA et les microbiologistes ont été hébergés sur le site du CHRU de Nancy Brabois. Je viens d'être à nouveau élue fin 2023.

Coordnatrice pour la région Lorraine des Observatoires Régionaux des Pneumocoques – ORP (2018-2020)

En prévision du départ à la retraite de mon collègue, le Dr Tahar Hadou, j'ai repris son activité de coordinateur des ORP pour l'ex-région Lorraine. A ce titre, j'ai organisé régionalement le recrutement, l'information et la formation des laboratoires participants. Il s'agissait en 2020 de coordonner la récupération des souches de *Streptococcus pneumoniae* et des informations cliniques concernant les patients infectés pour 8 Centres Hospitaliers et 2 LABM privés de

Lorraine, en plus des souches isolées au CHRU de Nancy. Afin de motiver et dynamiser le réseau, j'ai organisé en mars 2020 une journée régionale de l'ORP Lorraine avec l'ensemble des participants du réseau.

ACTIVITES DE MANAGEMENT

Ces activités seront détaillées dans des chapitres ultérieurs :

- Responsable de l'axe de recherche « Stress et microbiote » au sein de l'UR 7300
- Suppléante de la structure de Microbiologie (MB) au sein du département de Microbiologie depuis 2023
- Suppléante de la Plateforme de Génomique Microbienne depuis 2023
- Responsable de l'UF de bactériologie moléculaire depuis 2005
- Responsable de l'UF de mycobactériologie de 2010 à 2021 puis à partir de 2023

APPARTENANCE A DES SOCIETES SAVANTES, MEDICALES OU SCIENTIFIQUES

Membre de la collégiale AZAY (composantes du CNP de Biologie des Agents infectieux-Hygiène hospitalière)

Membre de la Société Française de Microbiologie (SFM)

Membre de l'Association pour l'Etude et la Prévention de l'Endocardite Infectieuse

Membre fondateur du groupe de travail MicMaC (Microbiome et Métagénomique Clinique) de la SFM

Membre du groupe MycoMed (Mycobactériologie Médicale) de la SFM

Membre du groupe AZAY-Mycobactéries

Membre de l'Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur

ACTIVITES D'EXPERTISE

Expertise des projets présentés dans le cadre des appels à projets nationaux

Expertise PHRC 2010

Expertise PHRC 2011

Participation à un comité indépendant pour un essai ANRS 2020-2023

Expertise AAP Emergence 2022_Cancéropôle CLARA

Analyses d'articles médicaux avant publication

Expertise pour Future Microbiology

Expertise pour Gut Microbes

Expertise pour Clinical Microbiology and Infection

Expertise pour Journal of Antimicrobial Chemotherapy

Expertise pour International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology

Expertise pour Infectious Disease

Expertise pour Life

Commissions locales

Comité de Suivi Individuel (CSI) de thèse 2019-2023 pour l'Université de Lorraine (Charlène Sagrillo, thèse réalisée au LCPME (Laboratoire de Chimie Physique & Microbiologie pour l'Environnement) sous la co-direction des Dr Christophe Merlin et Xavier Bellanger).

Commission de sélection d'un candidat MCU pour l'Université de Lorraine (2020) pour un poste de microbiologiste au sein de l'équipe de Microbiologie Environnementale (MIC) du LCPME.

ORGANISATION DE CONGRES

Depuis 2016, d'abord en tant que membre du CA puis en tant que membre du CS, je participe à l'organisation du congrès annuel de la SFM. Ce congrès, nommé MICROBES depuis 2019, se déroule sur 2,5 jours tous les ans et accueille, chaque année dans une ville différente, entre 600 et 800 participants.

En 2022, ce congrès qui avait lieu à Montpellier était constitué d'un forum carrières en microbiologie destinés aux étudiants, de 38 sessions parallèles, de 129 communications orales courtes sélectionnées, de 5 sessions plénières, de 2 Symposiums entreprises, de 185 posters présentés, de 7 bourses allouées aux jeunes chercheurs, de 3 prix de thèses et de 3 prix posters.

Mon rôle dans le comité d'organisation est à la fois de proposer des sessions et des orateurs invités sur des actualités innovantes en microbiologie, de sélectionner les communications orales et affichées parmi les résumés soumis, et de modérer les sessions dont j'ai la charge.

FORMATIONS SUIVIES

Formation à la cytométrie en flux → 2023

Webinars SFM de bactériologie clinique → 7 sessions en 2022, 8 sessions en 2023 (dont 4 en replay)

Autres webinaires de formation proposés par la SFM → Epidémiologie des *Pseudomonas* et nouvelles molécules (2023), Epidémiologies des BGN dans les pneumonies acquises à l'hôpital (2023), GT Microbiologie-Cytométrie - Viabilité des microorganismes (2023)

Webinaires de formations des CNR avec lesquels nous collaborons → CNR *H. pylori* (2022, 2023), CNR IST (2023)

Statistiques appliquées à la recherche clinique (2021) – GIRCI Est

Formation Innovation managériale → module Comportement managérial et Communication (TTI Success Insight) 2021

Webinar BioCodex Microbiotes → 6 sessions en 2020

Formation au management Process Communication → 3 sessions en 2019-2020

Autoformation à l'encadrement du Service Sanitaire des Etudes en Santé (2019) – Université de Lorraine

Initiation aux Bonnes Pratiques Cliniques en investigation clinique (2017) – DRICI

Formation à technique de TTGE pour l'étude de la diversité des écosystèmes bactériens (4j en 2014)
– UMR 5119, UFR Pharmacie, Université Montpellier I

Formation à la systématique bactérienne (8 jours en 2009 et 6 jours en 2010) – UMR 5119, UFR Pharmacie, Université Montpellier I

Formation à l'étude de la paroi bactérienne par HPLC en phase inverse et spectrométrie de masse MALDI-TOF (15 jours en 2006) – UMR INRA 1319, Groupe 'Dynamique de la Paroi Bactérienne', Jouy-en-Josas

Formation à la technique de digestion par l'endonucléase I-*CeuI* afin de déterminer la taille des génomes bactériens (10 jours en 2006) – UMR 5119, UFR Pharmacie, Université Montpellier I

ACTIVITES HOSPITALIERES

Les établissements composant le CHRU de Nancy sont constitués de deux ensembles hospitaliers, répartis sur deux sites géographiques : les Hôpitaux Urbains, qui regroupent l'Hôpital Central, la Maternité Régionale et Universitaire (MRU), l'Hôpital Saint Julien et le Centre Saint Stanislas ; et les Hôpitaux de Brabois, regroupant l'Hôpital d'Enfants, l'Hôpital Brabois-Adultes, l'Institut Lorrain du Cœur et des Vaisseaux et le bâtiment des spécialités médicales Philippe Canton. Au total, l'ensemble du CHRU comporte 1495 lits dont environ 800 sont localisés au niveau des Hôpitaux de Brabois. L'Institut de Cancérologie de Lorraine (ICL) est situé à proximité des Hôpitaux de Brabois et constitue, avec le CHRU de Nancy, le Pôle Régional de Cancérologie de Lorraine. A horizon 2030, le schéma directeur immobilier prévoit le regroupement des activités du CHRU de Nancy comme suit :

- accueil de toutes les activités aiguës de médecine, chirurgie et obstétrique sur le site de Brabois
- hôpital ambulatoire de proximité (consultations, soins dentaires, imagerie, prélèvement, prévention) intégré à un quartier santé sur le site de Nancy centre.

Le CHRU de Nancy fait partie, avec 10 autres établissements publics de santé et l'ICL, du GHT Sud Lorraine. Il a par ailleurs fusionné avec la Maternité Régionale et Universitaire (MRU) le 1^{er} janvier 2014.

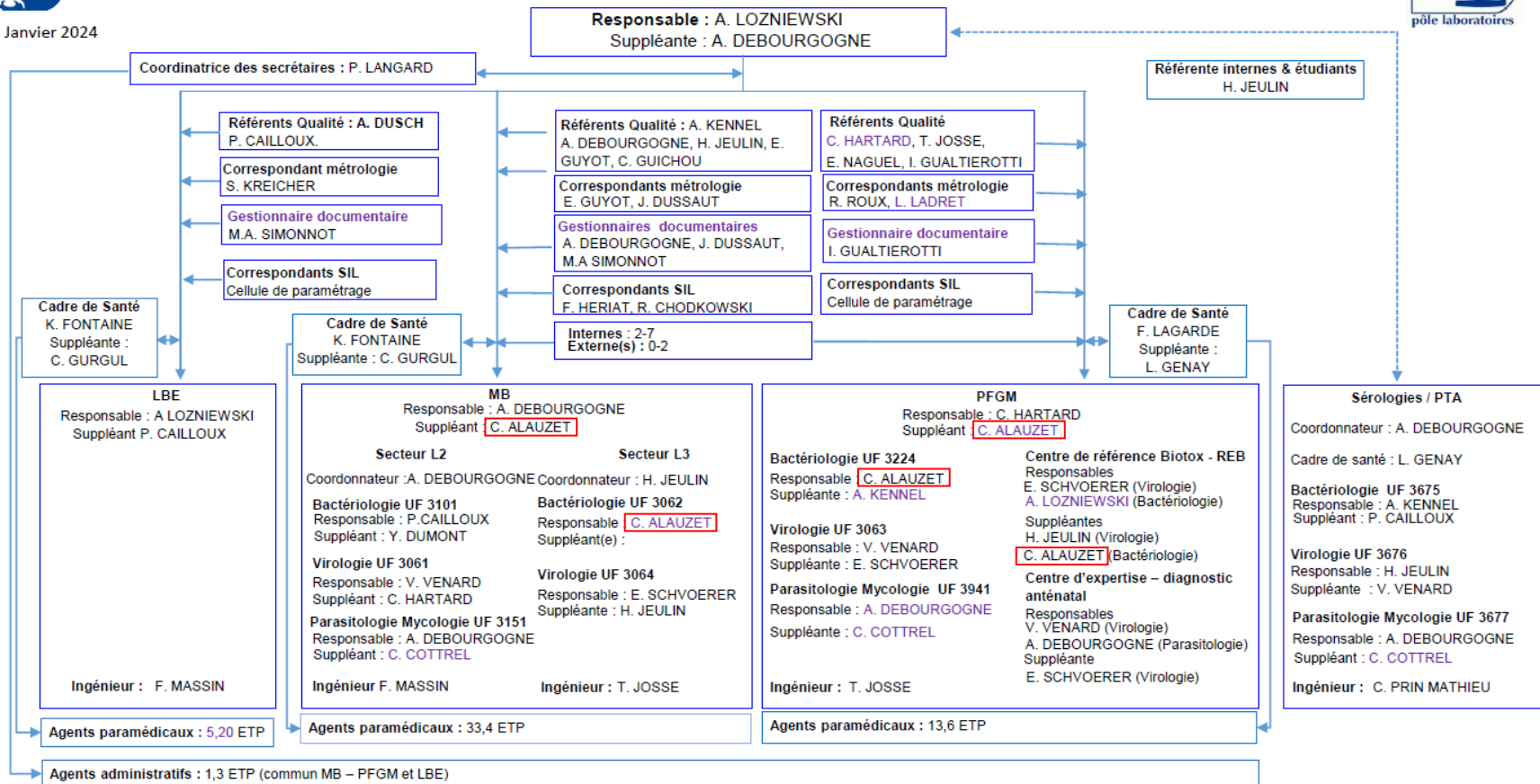
Depuis le 1^{er} janvier 2007, le CHRU de Nancy est organisé en 17 pôles : 10 pôles cliniques, quatre pôles médico-techniques, un pôle médico-administratif, un pôle opérationnel et un pôle ressources. Le département de Microbiologie fait partie du pôle Laboratoires regroupant 14 laboratoires sur un site unique de 8000 m² depuis 2019 : le Bâtiment de Biologie et Biopathologie.

Le département de Microbiologie, dirigé par le Pr Alain Lozniewski, regroupe les activités et les équipes des 3 disciplines microbiologiques que sont la Bactériologie, la Parasitologie-Mycologie, la Virologie, ainsi que la Microbiologie Environnementale, au sein de différents plateaux (cf organigramme).

L'activité de Bactériologie se partage en 5 plateaux techniques :

- **MB** (Microbiologie) qui se divise en 2 secteurs :
 - secteur **L2** : ouvert 7 jours sur 7 et H24, dédié aux analyses d'urgence et de premières lignes ainsi qu'aux analyses de bactériologie standard (de la culture à l'antibiogramme).
 - secteur **L3** (laboratoire NSB3) dédié aux analyses nécessitant un niveau de confinement 3 (diagnostic des infections à mycobactéries et autres pathogènes de classe 3, analyses réalisées dans le cadre du réseau des laboratoires Biotox et dans le cadre de la prise en charge des patients "Ebola" suspects/confirmés).
- **PFGM** (Plateforme de Génomique Microbienne) mutualisant l'ensemble des analyses moléculaires spécialisées pour la microbiologie et située géographiquement avec l'ensemble des activités moléculaires du CHRU et de l'ICL.
- **PTA** (Plateau Technique Automatisé) réalisant les analyses de sérologie bactérienne.

Organigramme Structure : DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



- **LBE** (Laboratoire de Biologie Environnementale) réalisant les analyses microbiologiques dans l'environnement hospitalier.

Au sein du département de Microbiologie (hors LBE), 5 bactériologistes (1 MCU-PH, 2,5 PH, 1 PHC) encadrent et valident toutes les analyses bactériologiques prescrites pour les patients pris en charge au CHRU de Nancy et à l'ICL. Depuis janvier 2016, le laboratoire a récupéré la prise en charge de l'ensemble des analyses bactériologiques de la MRU.

Le laboratoire participe également aux activités suivantes :

- laboratoire de recours pour les établissements du Sillon Lorrain
- laboratoire référent régional dans le cadre de la gestion des suspicions d'infections bactériennes transmises par transfusion (IBTT)
- siège de l'Observatoire Régional du Pneumocoque de Lorraine
- laboratoire du Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires Complexes (CRIOAC) du Grand Est
- membre du réseau national des laboratoires Biotox-Piratox (Zone Est)
- membre du réseau des laboratoires associés à la prise en charge des patients suspects d'avoir contracté le virus Ebola, le CHRU de Nancy ayant été désigné ESR en septembre 2014
- membre des réseaux RENACHLA, RENAGO et RENACOQ
- laboratoire expert *Clostridioides difficile* pour l'Inter-région Est jusqu'à mai 2015

En 2022, l'activité globale du laboratoire de Bactériologie médicale s'élevait à environ 21 739 810 de B/RIHN (222 724 actes).

ACTIVITES PERSONNELLES AU SEIN DU LABORATOIRE

Je participe à la validation biologique des analyses bactériologiques qui consiste en l'interprétation des résultats et le choix de la stratégie diagnostique la plus adaptée en fonction des données épidémioclinico-biologiques du patient. Les biologistes en charge de la validation sont les interlocuteurs privilégiés de nos collègues cliniciens qui sollicitent un avis diagnostique et/ou des conseils thérapeutiques. Nous interagissons par ailleurs quotidiennement avec l'infectiologie transversale pour la prise en charge thérapeutique des infections sévères et/ou à germes multirésistants. Chaque biologiste doit également être vigilant aux dossiers nécessitant des déclarations aux différents groupes de travail ou Centres Nationaux de Référence.

En plus de mon activité de validation biologique des analyses au sein du secteur L2 (3 à 4 demi-journées / semaine), j'exerce ou j'ai exercé les activités/responsabilités suivantes :

Encadrement de la plateforme de Microbiologie conventionnelle (MB)

Suppléante au Pr Anne Debourgogne depuis juin 2023 en remplacement du Pr Alain Lozniewski dans l'encadrement et le management de la structure MB.

Activités concernant les analyses relevant du laboratoire de Bactériologie au sein du secteur commun de biologie moléculaire Bactériologie-Hygiène puis de la plateforme de génomique microbienne

- Suppléante au Dr Cédric Hartard depuis décembre 2023 dans l'encadrement et le management de la PFGM
- Bactériologiste référente pour la PFGM et pour l'ensemble des analyses moléculaires réalisées au sein de MB
- Participation à la mise en place en 2006 et co-encadrement d'un secteur de biologie moléculaire commun Bactériologie-Hygiène puis en 2010 de la plateforme de génomique microbienne puis en 2019 à l'intégration de la PFGM au sein de la Plateforme de Biologie Moléculaire du nouveau Bâtiment de Biologie et Biopathologie
- Encadrement et formation du personnel technique
- Développement et mise en place de nouvelles techniques de diagnostic génomique
- Mise en place de nouvelles techniques de typage moléculaire
- Interprétation et validation des résultats ; interface avec les services cliniques
- Biologiste référente pour les réseaux RENACHLA, RENAGO et RENACQ
- Participation au processus d'accréditation en collaboration avec l'ingénieur et le bactériologiste référent qualité
- Gestion des appels d'offres en collaboration avec la cadre de santé et l'ingénieur, et en concertation avec les virologues et mycologues-parasitologues

La mise en place et le développement de méthodes génotypiques ont permis d'enrichir progressivement les outils de diagnostic et d'aide à l'antibiothérapie à notre disposition. Ceci nous permet à ce jour d'utiliser des techniques de séquençage après amplification de différents gènes d'intérêt afin d'identifier des bactéries de croissance lente et/ou impossible et/ou d'identification délicate, en culture ou directement dans des prélèvements. Divers outils moléculaires sont également utilisés afin de détecter les pathogènes suivants :

- *Neisseria meningitidis* (LCR, biopsies cutanées, sérum) et son génogroupage
- les principales bactéries impliquées dans les méningites et encéphalites (LCR) sous forme d'approche syndromique (FilmArray Meningitidis/Encephalitis Panel)
- les principales bactéries atypiques impliquées dans les pneumopathies communautaires (prélèvements respiratoires) sous forme d'approche ciblée (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Legionella pneumophila*) ou d'approche syndromique (FilmArray Respiratory Pneumonia Panel)
- les *Bordetella* responsables de syndromes coquelucheux (prélèvements respiratoires)
- *Helicobacter pylori* et les principales mutations impliquées dans la résistance de cette bactérie aux fluoroquinolones et/ou à la clarithromycine (biopsies gastriques)
- les mycobactéries du complexe tuberculeux (prélèvements respiratoires et autres) et les principales mutations impliquées dans la résistance à la rifampicine ainsi qu'aux autres molécules antituberculeuses de première ligne
- identification de certains complexes de mycobactéries non tuberculeuses et antibiogramme génotypique
- détection moléculaire de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* et *Mycoplasma genitalium*

- screening moléculaire des selles avec la détection des principales bactéries responsables de diarrhées communautaires
- certains gènes codant des facteurs de virulence bactérienne (leucocidine de Panton Valentine, toxines de *Clostridioides difficile*)
- détection moléculaire de *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis* et *Francisella tularensis* (prélèvements à visée diagnostique ou dans le cadre de suspicion d'acte de bioterrorisme)
- certains gènes impliqués dans la résistance aux antibiotiques : *mecA/mecC*, *vanA-B*, *nimA-I*, *cfiA*, *cfxA*, gènes codant certaines β -lactamases (BLSE, carbapénèmases, céphalosporinases plasmidiques).

Une activité de typage épidémiologique est également effectuée au sein de ce secteur par le biais de différentes techniques (PFGE, ERIC-PCR, AP-PCR, PCR-ribotypage) dans le cadre de la détection et le suivi de clones épidémiques, ou de l'identification de sources humaines ou environnementales d'infection.

Responsabilité de l'UF de Bactériologie du site de Brabois jusqu'à septembre 2019

- Encadrement du bon fonctionnement des différents secteurs présents sur le site de l'Hôpital Brabois-Adultes (UF 3062, plateformes de génomique et d'immuno-diagnostic)
- Participation à un groupe de travail sur l'organisation du regroupement des activités de bactériologie phénotypique sur le site de l'Hôpital Central
- Participation à un groupe de travail sur l'organisation d'un futur bâtiment regroupant l'ensemble des laboratoires du CHRU sur le site de Brabois.

Activités concernant l'UF 3062 de Bactériologie (Mycobactériologie)

- Bactériologiste référente pour le laboratoire NSB3 de 2008 à 2021 puis en 2023 (suppléante de septembre 2021 à novembre 2023)
- Co-encadrement et formation du personnel technique
- Supervision en collaboration avec le cadre des tâches transversales
- Mise en place de nouvelles stratégies diagnostiques concernant les analyses mycobactériologiques en collaboration avec le Dr C. Laurain puis avec le Dr Hamdad
- Interprétation et validation des résultats ; interface avec les services cliniques
- Interface avec le CLAT (Centre de Lutte Anti-Tuberculeuse), l'EOHH (Equipe Opérationnelle d'Hygiène Hospitalière) et la médecine du travail ainsi qu'avec l'ARS
- Participation au processus d'accréditation pour ce qui concerne les analyses effectuées dans le laboratoire L3.

Activités concernant la plateforme d'immunodiagnostic microbiologique jusqu'en 2019

- Interprétation et validation des résultats de sérologies bactériennes (*Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Legionella pneumophila*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*)
- Interface avec les services cliniques.

Activités concernant la participation du Laboratoire au réseau BIOTOX-PIRATOX

- Bactériologiste référente pour le réseau Biotox de 2008 à 2021, suppléante de septembre 2021 à novembre 2023 puis co-responsable à partir de novembre 2023

- Mise en place de méthodes permettant la détection des agents bactériens susceptibles d'être utilisés dans le cadre d'actes bioterroristes
- Gestion des exercices annuels
- Interface avec la cellule nationale de conseil du COGIC et le Conseil Scientifique du réseau national des laboratoires BIOTOX - PIRATOX.

Activités concernant la prise en charge des patients des patients "Ebola suspects/confirmés"

- Bactériologiste référente pour la prise en charge des patients "Ebola suspects/confirmés" de 2014 à 2021, suppléante de septembre 2021 à novembre 2023 puis co-responsable à partir de novembre 2023
- Participation à l'organisation au CHRU de Nancy de la biologie délocalisée effectuée dans un premier temps dans le P3 clinique puis, depuis avril 2015, dans le L3
- Membre du COPIL EBOLA
- Responsable des travaux dans le laboratoire L3 en vue de l'implantation d'un PSM de type 3 (avril 2015)
- Responsable de la mise en place des analyses bactériologiques dans le laboratoire L3
- Formation des biologistes et technicien[ne]s volontaires à l'habillage, au circuit dans le L3 ainsi qu'aux manipulations en PSM3, en lien avec les virologues, les hématologistes et l'Equipe Opérationnelle d'Hygiène Hospitalière (EOHH).

Participation à l'encadrement et la formation des internes et externes effectuant leur stage au laboratoire de Bactériologie

Je suis la bactériologiste référente pour la formation des internes. Je suis donc responsable de l'organisation de leur formation bactériologique à la garde multidisciplinaire (8 à 10 internes / an) ainsi que de leur formation aux différents secteurs d'analyse au cours de leur semestre en microbiologie (4 à 5 internes / semestre). Je participe avec mes collègues à leur encadrement à la paillasse de validation, ce qui équivaut à une centaine d'heures annuelle de formation. Je participe également à la formation de 5 à 8 externes / semestre.

Collaboration avec les services cliniques, l'EOHH (Equipe Opérationnelle d'Hygiène Hospitalière), le CPias (Centre de Prévention des Infections Associées aux Soins) et le CLAT (Centre de Lutte Anti-Tuberculeuse)

L'essor et l'apport des techniques de diagnostic moléculaire bactériologique m'ont permis au long de ces années de tisser des liens de confiance avec les services cliniques du CHRU de Nancy ainsi qu'avec les laboratoires d'autres établissements hospitaliers de la région. Je participe à diverses réunions des services cliniques, dont la RCP bi-mensuelle sur les endocardites infectieuses, ainsi qu'à celles de la Commission Spécialisée des Anti-Infectieux du CHRU de Nancy. Je suis également l'interlocutrice auprès de l'EOHH pour les demandes de typage épidémiologique dans le cadre de suivi d'épidémies à bactéries multirésistantes au sein du CHRU. Enfin, je suis aussi en lien avec le CLAT dans le cadre du diagnostic de la tuberculose.

ACTIVITES DE GARDES & ASTREINTES

Je participe aux permanences et astreintes du laboratoire de Bactériologie à raison de 13 à 16 permanences de week-end (samedi toute la journée et dimanche matin) par an et 13 à 16 semaines d'astreinte par an. A noter que durant la période mars 2023 à août 2023, en raison d'un

accident de travail de l'une de nos collègues, nous avons assuré une semaine de garde toutes les 3 semaines.

Pendant la phase transitoire en attente de l'acquisition d'un PSM3, j'ai également participé à l'astreinte multidisciplinaire de biologie délocalisée dans le P3 clinique dans le cadre de la prise en charge des patients suspects d'être infectés par le virus Ebola.

PROJET HOSPITALIER

Mon projet est principalement centré sur l'amélioration de la qualité et de la rapidité de la prise en charge des infections sévères, notamment *via* l'utilisation de méthodes de diagnostic rapide moléculaire.

Dans ce cadre, nous avons débuté plusieurs actions concertées avec mes collègues microbiologistes et les services de Maladies Infectieuses et Tropicales, de Réanimation, de Pneumologie et de Médecine Infantile visant à définir des stratégies clinico-microbiologiques de prise en charge des méningites infectieuses et des pneumopathies communautaires. Ceci a mené à la mise en place à la fois d'approches syndromiques et de techniques plus ciblées de PCR d'urgence pouvant être utilisées même en dehors des heures d'ouverture de la plateforme de génomique microbienne. Un projet de détection moléculaire du streptocoque du groupe B en biologie délocalisée dans les salles de naissance est en cours de mise en place.

Mon objectif actuel est de mettre en place sur la Plateforme de Génomique Microbienne une solution métagénomique par séquençage nouvelle génération (NGS) pour les infections bactériennes sévères non documentées. Cette approche NGS existe déjà au sein de la PFGM mais n'est à l'heure actuelle utilisée que par les virologues sur des automates MiSeq (Illumina).

J'envisage dans un premier temps de remplacer le séquençage Sanger ADN_r 16S dans les prélèvements précieux tels que les biopsies cérébrales ou cardiaques. Je souhaite également utiliser cette approche pour accélérer le diagnostic des infections à mycobactéries tuberculeuses car une approche métagénomique nous permettrait d'obtenir un antibiogramme moléculaire en quelques jours pour l'ensemble des molécules antituberculeuses (en comparaison à quelques semaines par l'approche culturelle classique). Enfin, nous sommes convaincus qu'une approche métagénomique par séquençage de génomes complets sera plus performante dans le cadre de nos enquêtes épidémiologiques de suivi des bactéries multirésistantes.

Pour répondre à ces objectifs, nous avons pour projet d'acquérir un séquenceur MinION (Oxford Nanopore Technologies) qui sera plus à même de nous fournir des données de métagénomique de façon rapide et au coup par coup. Cette approche semble plus adaptée à nos besoins dans le cadre du diagnostic des infections sévères non documentées ou des tuberculoses.

Par ailleurs, il existe un réel besoin des cliniciens de pouvoir collaborer avec des microbiologistes au niveau de l'analyse des microbiotes digestifs ou pulmonaires dans le cadre de projets translationnels. Ceci pourrait être réalisé sur les séquenceurs MiSeq disponibles actuellement sur la PFGM.

Afin de mener à bien ce projet, j'envisage de suivre une formation dédiée au NGS dans les prochains mois. Par ailleurs, une des internes du service, Safa Ben-Brahim, qui est prévue pour rester au laboratoire en tant qu'AHU en novembre 2024, va réaliser son dernier stage d'internat au sein du service du Dr Paul-Louis Woerther et du Pr Christophe Rodriguez qui sont les pionniers en France concernant l'approche NGS appliquée à la microbiologie clinique.

ACTIVITES EN PEDAGOGIE

EQUIPE ENSEIGNANTE

Le laboratoire de Bactériologie-Virologie de la Faculté de Médecine assure l'enseignement de bactériologie et de virologie médicales à la Faculté de Médecine, notamment en collaboration avec les infectiologues dans le cadre de l'UE de Maladies Infectieuses ainsi qu'auprès des étudiants de maïeutique principalement sous la forme de cours magistraux ou de travaux dirigés. J'utilise par ailleurs depuis 4 ans une approche de vérification de l'intégration des données du cours par des questionnaires Wooclap auprès des Sages-Femmes (UE5 - Agents infectieux).

Ces activités d'enseignement sont assurées par l'équipe suivante :

	Bactériologie	Virologie
PU-PH	A. Lozniewski	E. Schvoerer
MCU-PH	C. Alauzet	C. Hartard, H. Jeulin, V. Venard

Nous assurons également l'enseignement de bactériologie à la Faculté d'Odontologie ainsi qu'à l'Institut de Formation en Soins Infirmiers.

Nous intervenons dans 2 UE de la Faculté de Médecine : UE Stratégie des Examens de Laboratoire et UE Formation de base à la recherche médicale. Il est à noter qu'en tant que membre du Conseil Scientifique de la Faculté de Médecine, j'ai participé à la création de cette dernière UE et à la co-animation de travaux pratiques permettant de découvrir la recherche appliquée en bactériologie.

J'ai été conviée depuis 2014 à parler de l'impact des biofilms bactériens en milieu hospitalier auprès des étudiants de la Faculté de Pharmacie.

Nous enseignons également la bactériologie clinique dans le cadre du DU d'Antibiothérapie et du DU d'Hygiène Hospitalière et de Prévention des Infections Associées aux Soins de la Faculté de Médecine.

Notre équipe participe par ailleurs à l'enseignement magistral et dirigé du Master Microbiologie de l'Université de Lorraine au sein duquel nous avons mis en place des UE notamment l'UE 916 intitulée "Interactions microorganismes – hôtes : conséquences en pathologie humaine", qui constitue une formation de base permettant d'appréhender les conséquences pathologiques chez l'humain des modifications de l'équilibre hôte - microorganismes pour les étudiants de Master 2. Je participe également à l'enseignement de la bactériologie médicale dans plusieurs autres UE de M1 et de M2 sur des thématiques allant des principales bactéries pathogènes pour l'humain aux outils moléculaires de diagnostic bactériologique.

Enfin, je prends part aux commissions de docimologie, aux surveillances d'examen et aux ECOS.

Au niveau hospitalier, je suis la bactériologiste référente pour la formation des internes à la garde multidisciplinaire ainsi qu'au cours de leur semestre en microbiologie.

Je réalise en moyenne annuellement 70h d'enseignement magistral ou, plus rarement, dirigés (cf Tableau et Figure suivants) ainsi qu'une centaine d'heures de formation des internes.

ENSEIGNEMENTS REALISES

2015-2023	UE Maladies Infectieuses - La tuberculose - Les infections bactériennes sexuellement transmissibles - Les microbiotes humains - Interactions Hôte-Bactéries - Le diagnostic bactériologique	FGSM02 FGSM03		6h/an
2005-2012	Travaux pratiques de Bactériologie Médicale	DCEM-1		10-12h/an
2012-2014 puis 2023	Stratégie des examens de laboratoire - Diagnostic des diarrhées d'origine bactérienne - Diagnostic microbiologique des infections urinaires - Test de diagnostic bactériologique rapides	Enseignement optionnel	Faculté de Médecine, Nancy	3h/an
2009-2023	Cours magistraux (thématique variable selon les années): - Biologie moléculaire & diagnostic bactériologique - Typage épidémiologique en bactériologie - Les IST et les infections uro-génitales - Diagnostic des endocardites infectieuses - Microbiotes humains et pathologies - Les mycobactéries en pathologie humaine	DES de Biologie Médicale		6-9h/an
2006-2023	Cours magistraux : - Structure & physiologie bactérienne - Génétique bactérienne - Les microbiotes humains - Relations hôte-bactéries - Principales bactéries impliquées en pathologie humaine - Eléments du diagnostic en bactériologie clinique - Mécanismes d'action des antibiotiques - Mécanismes de résistance aux antibiotiques	DFGSO2	Faculté d'Odontologie, Nancy	4h à 12h/an

2013-2023	Cours magistraux : - Ecologie microbienne bucco-dentaire - Aspects bactériologiques des infections buccodentaires - Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques	DFGSO3	Faculté d'Odontologie, Nancy	6h à 10h/an
2014-2023	Cours magistraux : - Impact des biofilms dans le contexte hospitalier	3 ^{ème} année	Faculté de Pharmacie, Nancy	2h
2005-2008	Cours magistraux : - Mécanismes de défense des bactéries & immuno-modulation - Interactions Hôte-Bactéries-Antibiotiques	M1 Master Sciences de la Vie et de la Santé	Faculté de Pharmacie, Nancy	3.5h à 5.5h/an
2009-2023	Cours magistraux : - Principales bactéries pathogènes chez l'homme - Diagnostic bactériologique et méthodes moléculaires - Impact des biofilms dans le contexte hospitalier - Microbiote intestinal : un réservoir de gènes de résistance aux antibiotiques	M1 Master BIOMANE puis Microbiologie	Faculté des Sciences, Nancy	3h à 9h/an
2009-2023	Cours magistraux : - Biologie moléculaire & diagnostic bactériologique - Typage épidémiologique en bactériologie - Microbiotes & pathologies - Mycobactéries : interactions Hôtes/Pathogènes - Nouvelles approches thérapeutiques	M2 Master BIOMANE puis Microbiologie	Faculté des Sciences, Nancy	4h à 7h/an
2013-2023	Diplôme Universitaire d'Antibiothérapie : - Nouvelles techniques de diagnostic bactériologique - Apport des tests de diagnostic rapide en bactériologie	Post-universitaire	Faculté de Médecine, Nancy	1.5-2h/an
2008	Formation par visioconférence de médecins généralistes lorrains : Les entérocoques résistants aux glycopeptides			4h

2005-2012	Cours magistraux : - La cellule bactérienne - La relation hôte-bactérie - Mécanismes d'action & de résistance aux antibiotiques - Principaux pathogènes bactériens chez l'homme - Les principales bactéries impliquées en pathologie humaine - Diagnostic biologique des infections bactériennes	1 ^{ère} année	Institut de Formation en Soins Infirmiers, Nancy	10h/an
		2 ^{ème} année		4 à 6h/an
2023	Cours magistraux : - Apport du laboratoire de microbiologie en cas d'infection bactérienne	2 ^{ème} année	Institut de Formation en Soins Infirmiers, Nancy	2h/an
2005-2011	Cours magistraux : - La cellule bactérienne - Principaux pathogènes bactériens chez l'homme - Le conflit hôte-bactérie	1 ^{ère} année	Institut de Formation des Manipulateurs d'Electroradiologie Médicale, Nancy	4h/an
2014-2023	Cours magistraux : - La cellule bactérienne - Le monde bactérien (physiologie, écologie, flores commensales) - Diagnostic biologique des infections bactériennes - Les infections uro-génitales - Les infections materno-foetales	2 ^{ème} année	Ecole de Sages-Femmes, Nancy	5h à 11h
2014-2023	Enseignements dirigés - Diagnostic biologique des infections bactériennes			2h/an

CHAPITRES DE LIVRES

Alauzet C., Jean-Pierre H., Dubreuil L., Marchandin H. 2024. Bactéries anaérobies à Gram négatif. *Traité EMC Biologie médicale*. Ed Elsevier (en cours d'édition)

Alauzet C., Lozniewski A., Cailliez-Grimal C. 2023. *Flavonifractor*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Firmicutes/Clostridia/Oscillospirales/Oscillospiraceae. Eds : Whitman WB and coll. Published by John Wiley & Sons, Inc.

Alauzet C., Cailliez-Grimal C., Lozniewski A. 2023. *Pseudoflavonifractor*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Firmicutes/Clostridia/Oscillospirales/Oscillospiraceae. Eds : Whitman WB and coll. Published by John Wiley & Sons, Inc.

Alauzet C., Jumas-Bilak E. 2014. The phylum *Deferribacteres* and the genus *Caldithrix*. *The Prokaryotes 4th Edition, Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea*. Eds : Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., and F. Thompson. Springer, Berlin. pp 595-611.

RESPONSABILITES PEDAGOGIQUES

Responsable de la formation en bactériologie pour la garde multidisciplinaire des internes de biologie du CHRU de Nancy.

Responsable de la formation des internes suivant le stage de bactériologie au sein du laboratoire de Microbiologie du CHRU de Nancy.

Tutrice de groupes d'étudiants pour le SESA : 3 groupes en 2019 et 2021, 2 groupes en 2020.

Organisation et animation des travaux pratiques dans le cadre de l'UE « Formation de base à la recherche médicale ».

EXPOSES ORAUX & DOCUMENTS PEDAGOGIQUES REALISES

Formation initiale

Depuis 2006 : Cours mis sur le serveur internet pour les enseignements délivrés (cf chapitre précédent)

Formation continue

2020 : - Mise en place en urgence du Filmarray® Pneumonia au CHRU de Nancy et bonnes pratiques de prescription (Commission Spécialisée des Anti-Infectieux)

2019 : - Diagnostic des encéphalites et méningo-encéphalites infectieuses (Service de Neurologie du CHRU de Nancy)

2015: - Les nouveautés du diagnostic bactériologique (Service de Réanimation Médicale du CHRU de Nancy)

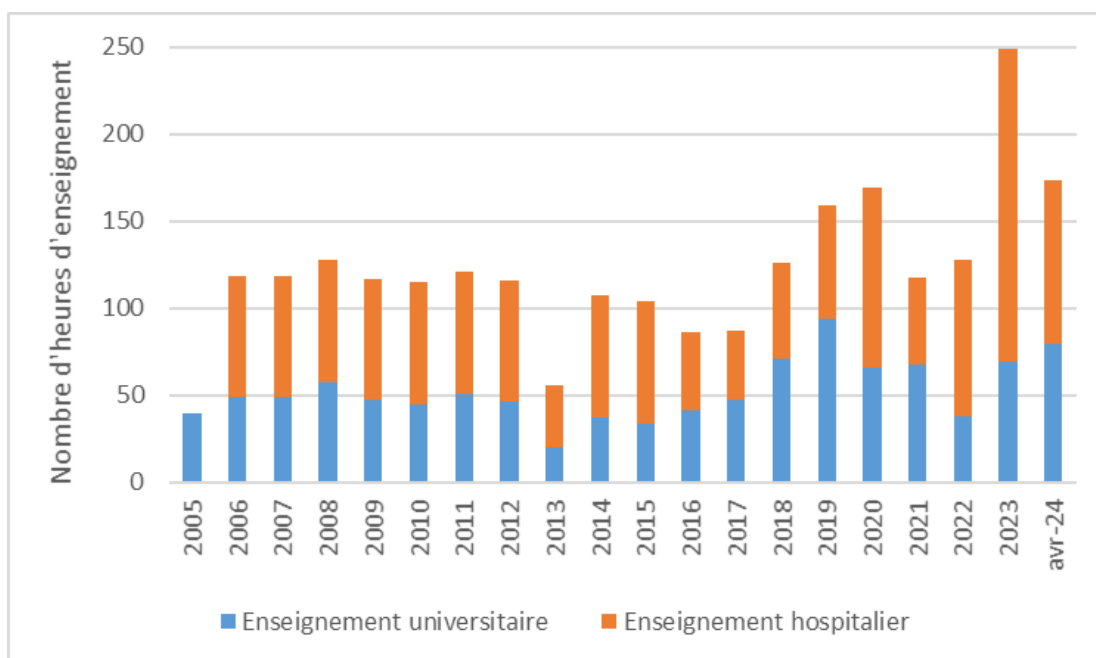
2013: - Prise en charge des infections neuro-méningées : nouveaux outils du diagnostic bactériologique (Commission Spécialisée des Anti-Infectieux)

- Prise en charge des infections digestives : nouveaux outils du diagnostic bactériologique (Commission Spécialisée des Anti-Infectieux)

2012: - Prise en charge des infections respiratoires : nouveaux outils du diagnostic bactériologique (Commission Spécialisée des Anti-Infectieux)

- 2011:** - Diaporama de formation sur les bactéries potentiellement utilisables en tant qu'agent de bioterrorisme (Département de Microbiologie, CHRU de Nancy)
- Diaporama de formation sur les applications de la cytométrie en flux en microbiologie (commission 'Recherche, Développement, Innovation & Formation')
- 2010:** - Diaporama de formation sur les bactéries potentiellement utilisables en tant qu'agent de bioterrorisme (Département de Microbiologie, CHRU de Nancy)
- 2008:** - Diaporama de formation des médecins généralistes concernant les entérocoques résistants aux glycopeptides dans le cadre des épidémies ayant touché les régions Alsace et Lorraine
- Diaporama de formation sur la place de la biologie moléculaire dans le dépistage des entérocoques résistants aux glycopeptides (XVI^{èmes} Journées Régionales d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales)
- Diaporama de formation sur la place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des endocardites infectieuses (Service des Maladies Infectieuses et Tropicales du CHRU de Nancy)
- Diaporama de formation sur la place de la biologie moléculaire dans le diagnostic bactériologique des infections ostéo-articulaires (Service de Chirurgie Orthopédique Infantile du CHRU de Nancy)
- 2007:** - Place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des infections bactériennes (Commission Spécialisée des Anti-Infectieux)

Bilan du nombre d'heures d'enseignement effectuées annuellement dans le cadre de mes fonctions d'AHU puis de PHU puis de MCU-PH au Laboratoire de Bactériologie :



SCORE SIAPS

Mon score SIAPS* pour les années 2013/2014 à 2022/2023 est de 674.

* calculé selon la grille v2016

S. I. A. P. S.

Score Individuel d' Aptitudes Pédagogiques en Santé



Nom : **ALAUZET** Faculté de Médecine de : **Nancy**
 Prénom : **Corentine** Candidature à : **(choisir...)**
 Date naissance : **02/05/1979**
 Sous-section : **4301 - Bactériologie - virologie ; hygiène hospitalière (2 options)**

Version V.1 - 05/2015
A. GUSSET

Année	2013-2014	2014-2015	2015-2016	2016-2017	2017-2018	2018-2019	2019-2020	2020-2021	2021-2022	2022-2023	Coefficient	TOTAL
-------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-------------	-------

[1] CHARGES D'ENSEIGNEMENT

[1a] PACES : nb d'heures de cours magistraux	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
[1b] MED2 à MED6 : nb d'heures de cours magistraux	20	21	17	22	23	29	15	17	0	24,5	1	164
[1c] PACES à MED6 : nb d'heures d'ED	0	0	0	0	0	8	4	4	0	0	1	16
[1d] PACES à MED6 : nb d'heures de TP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0
[1e] MED2 à MED6 : nb d'heures en centre de simulation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
[1f] Conférences d'internat au sein de la Faculté de médecine : nombre de conférences	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
[1g] 3 ^e cycle et autres formations médicales (DES, DESC, DU, DIU) : nb d'heures de cours	5	5	11	15	19	17	17	23	14	20	1	146
[1h] Masters, thèses d'université : nb d'heures de cours	8	5	10	7	19	24	18	18	5	16	1	130
[1i] Formations paramédicales facultaires : nb d'heures de cours	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
[1j] Maïeutique : nb d'heures de cours	3	3	3	3	10	13	13	13	5	13	0,5	39,5
[1k] Formations paramédicales extra-facultaires : nb d'heures de cours	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,5	1
Sous-total [1] CHARGES D'ENSEIGNEMENT												437

[2] FORMATION PEDAGOGIQUE

[2a] Possession d'un DU ou DIU de pédagogie, ou équivalent (1=oui)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
[2b] Nombre de journées de formation en pédagogie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
[2c] Titulaire de la certification SIDES (1=oui)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Sous-total [2] FORMATION PEDAGOGIQUE												1

[3] ACTIVITÉS PÉDAGOGIQUES et SERVICES RENDUS

[3a] Production pédagogique numérique, TICE : nb d'heures de cours (hors mise à jour)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3
[3b] Publications en pédagogie ou didactique (nombre)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
[3c] Participation à la rédaction d'un polycopié national ou livre (nombre, hors mise à jour)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	10	20
[3d] Participation à une commission pédagogique de la Faculté (nombre)	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	10	50
[3e] Rédaction de sujets d'examen de fin d'année (1 par dossier ou pour 15 QCM)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	2	82
[3f] Responsabilité d'UE 1er ou 2ème cycle études médicales (1 par UE)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0
[3g] Responsabilité d'autre UE (1 par UE)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
[3h] Contributions ECNi validées (Faculté, SIDES) (1 par dossier ou pour 15 QRM)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
[3i] Nombre de copies corrigées	183	200	185	176	186	300	33	25	23	92	0,02	15
Sous-total [3] ACTIVITÉS PÉDAGOGIQUES et SERVICES RENDUS												176

Score SIAPS total **674**

PROJET PEDAGOGIQUE

Pour ce qui est de l'enseignement universitaire, je m'implique de plus en plus dans des enseignements de la Faculté de Médecine (cours magistraux, DU d'Antibiothérapie, module optionnel "Stratégie des examens de laboratoire"). Dans le cadre des enseignements de 1^{er} et 2nd cycle, nous avons avec le Pr A. Lozniewski adapté le format de nos cours de bactériologie en nous focalisant sur les connaissances essentielles (rang A / rang B) et en privilégiant une approche par compétence. Suite à la réforme, la totalité de nos enseignements de médecine passent cette année en DFGSM2. Dans le cadre de cette réforme, nous venons de mettre en place avec mes collègues enseignants microbiologistes début 2024 des travaux dirigés. Pour la bactériologie, j'anime 3 séances de TD utilisant le jeu Bacteria Game pour l'apprentissage de la bactériologie clinique. Nous avons testé dans un premier temps ce jeu avec les internes passant dans le service.

Je continuerai par ailleurs à promouvoir la recherche et la biologie auprès des étudiants de la Faculté de Médecine par le biais de TP dans le cadre de l'UE « Formation de base à la recherche médicale », ou dans le cadre de l'UE « Stratégie des Examens de Laboratoire », ainsi qu'en participant à la formation des externes réalisant leur stage au laboratoire (10 à 16 / an).

Je suis également impliquée dans la formation des internes de biologie aux nouvelles approches de diagnostic bactériologique rapide qui sont en perpétuelle évolution et de plus en plus utilisées. Je souhaite, à moyen terme, pouvoir initier, auprès des internes de phase d'approfondissement et de consolidation réalisant leur stage dans le service de Microbiologie, un apprentissage des techniques de séquençage génomique ainsi qu'une initiation aux outils de bio-informatique.

Je participe enfin à deux projets de livre sous la tutelle de la Société Française de Microbiologie :

- Un référentiel de Bactériologie à l'attention des internes de biologie (co-responsabilité de 7 chapitres).
- Un référentiel de métagénomique clinique (groupe MicMac de la SFM) pour le chapitre sur les infections cardio-vasculaires.

ACTIVITES DE RECHERCHE

Dans ce chapitre concernant mes activités de recherche, je vais tout d'abord présenter les structures de recherche au sein desquelles j'ai exercé ou j'exerce actuellement, les collaborations scientifiques mises en place pour l'ensemble des travaux présentés ainsi que les contrats de recherches obtenus.

Je listerai ensuite les encadrements et co-encadrements que j'ai réalisé ainsi que les jurys auxquels j'ai participé.

Enfin, je présenterai les activités de recherche, tout d'abord bio-clinique en me focalisant plus particulièrement sur un projet transversal concernant le microbiote intestinal des patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques, puis les activités de recherche expérimentales.

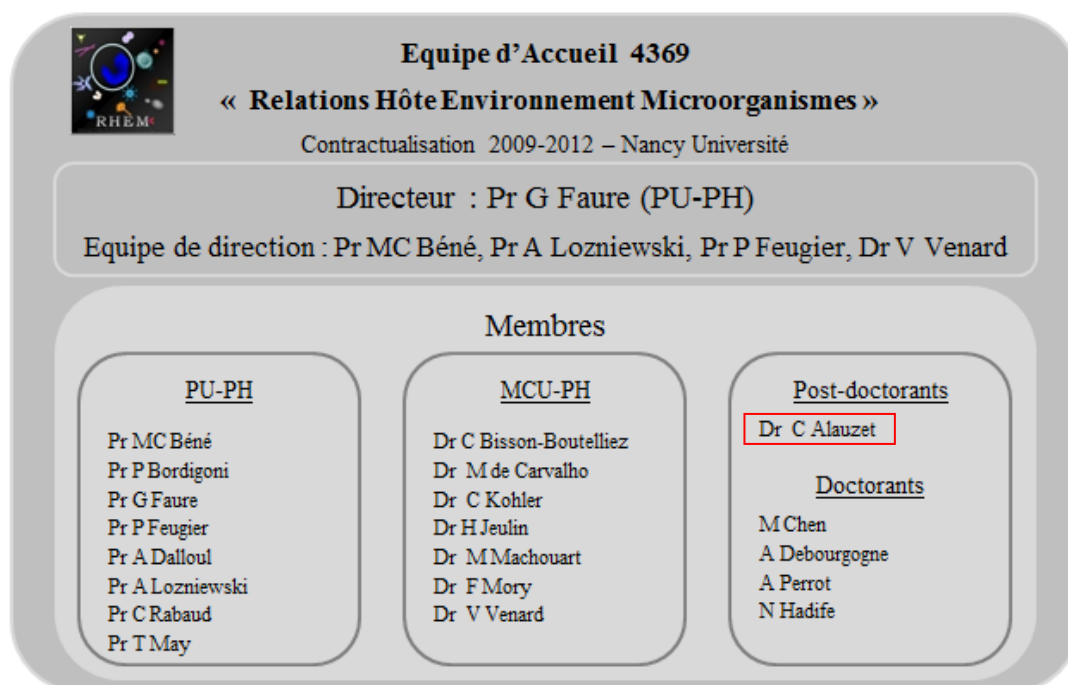
Mon projet de recherche sera développé dans le chapitre suivant.

APPARTENANCE A UNE STRUCTURE DE RECHERCHE LABELLISEE

Equipes de recherche de 2005 à 2012

A mon arrivée, l'équipe de Bactériologie-Virologie de la Faculté de Médecine faisait partie de l'UMR CNRS 7565 'Structure et Réactivité des Systèmes Moléculaires Complexes' de l'Université Henri Poincaré, dont un des axes de recherche portait sur le développement de nouveaux composés anti-infectieux (Groupe d'Etude sur les Vecteurs Supra-Moléculaires). J'ai donc débuté ma thèse en 2005 au sein de ce groupe sous la responsabilité du Pr A. Lozniewski.

De janvier 2009 à décembre 2012, notre équipe a fait partie de l'EA 4369 'Relations Hôte – Environnement – Microorganismes' qui regroupait les enseignants chercheurs issus des équipes de Microbiologie, d'Immunologie, d'Infectiologie et d'Hématologie du CHRU de Nancy et qui avait été reconnue sur la base de l'évaluation de l'AERES au cours de l'année 2008 (évaluation : B). Son organigramme était le suivant :



Au sein de cette équipe, l'activité de recherche dans le domaine de la bactériologie portait sur l'étude des relations entre l'évolution des bactéries et la résistance aux antibiotiques (C. Alauzet, A. Lozniewski, F. Mory), ainsi que sur celle de l'interaction entre certaines bactéries anaérobies parodontopathogènes et la muqueuse buccale (C. Bisson-Boutelliez, A. Lozniewski).

Les travaux que j'ai réalisés au sein de l'EA 4369 s'inscrivaient dans la continuité de ceux précédemment effectués au sein de l'UMR CNRS 7565 et m'ont permis, notamment, de finaliser ma thèse d'Université.

Puis, dès 2010, j'ai entamé une collaboration avec le laboratoire 'Développement et Immunogénétique' (Jeune Equipe 2537) de la Faculté de Médecine de Nancy. Cette équipe d'immunologistes étudie la réponse immunitaire, en particulier humorale, dans des modèles murins présentant un stress chronique en condition d'hypergravité ou de microgravité dans le cadre de projets avec le Centre National d'Etudes Spatiales (CNES) et l'European Space Agency (ESA). L'idée de départ de cette collaboration était d'étudier l'impact de différents modèles terrestres de stress spatiaux sur le microbiote intestinal murin et cette thématique a abouti d'une part à la création d'une nouvelle équipe de recherche, et d'autre part, au montage de mon nouveau projet de recherche dans le cadre de ma candidature à venir pour un poste de MCU-PH.

Equipe de recherche actuelle : UR 7300 « Stress IMMUNITÉ PATHogènes » (vague C, contractualisations 2013-2017, 2018-2023 et 2024-2028)

Nous avons dès 2012 commencé à élaborer un projet de création d'une nouvelle Equipe d'Accueil appelée 'Stress-IMMUNITÉ-PATHogènes' ou SIMPA regroupant les microbiologistes de l'EA 4369, les immunologistes de la JE 2537 et des neurobiologistes issus des unités INSERM U954 et CNRS 7563. L'objectif général de cette équipe, dirigée par le Pr Jean-Pol Frippiat jusqu'en décembre 2023 puis par le Pr Alain Lozniewski, porte sur l'étude de l'impact des facteurs environnementaux de stress chronique sur la diversité des microbiotes en lien avec la réponse immunitaire et la résistance aux antibiotiques. Cette unité de recherche (UR) a été évaluée une première fois par l'AERES en 2012 puis par l'HCERES en 2017 et en 2022. Les résultats de la dernière évaluation sont les suivants :

EVALUATION AREA 1: PROFILE, RESOURCES AND ORGANISATION OF THE UNIT

Assessment on the unit's resources

The overall resources of the unit are excellent. Due to their original themes of research, they have applied and have been awarded by several grants of the European Space Agency.

Assessment on the scientific objectives of the unit

The scientific objectives of the unit are focused on stress and immunity associated with spaceflight. This is a very peculiar and original topic in the landscape of French research and was qualified as excellent.

Assessment on the functioning of the unit

The functioning of the unit complies with all safety rules, involves the participation of the staff and was considered as excellent by the committee.

EVALUATION AREA 2: ATTRACTIVENESS

Assessment on the attractiveness of the unit

Members of the unit have been invited to international meetings, they have contributed to the organization of several international congresses and are members of editorial boards.
The overall attractiveness of the unit is excellent with respect to its international and national recognition.

EVALUATION AREA 3: SCIENTIFIC PRODUCTION

Assessment on the scientific production of the unit

With a mix of clinical and fundamental research publications on its core topic, the scientific production of the unit is excellent in terms of quantity and quality.

EVALUATION AREA 4: CONTRIBUTION OF RESEARCH ACTIVITIES TO SOCIETY

Assessment on the inclusion of the unit's research in society

The overall contribution of research activities of the unit to society is very good.

L'organigramme 2024 de l'UR SIMPA est présenté dans la page suivante. Les travaux de cette UR pluridisciplinaire portent sur l'étude des effets de différents types de stress chroniques sur le système immunitaire, sur les microorganismes, notamment ceux constituant le microbiote intestinal, ainsi que sur les interactions entre les microorganismes et le système immunitaire.

Les modèles de stress utilisés sont notamment des amphibiens ou des souris. Nous testons l'influence d'un stress socio-environnemental, CUMS (*Chronic Unpredictable Mild Stress*), mimant une répétition de contrariétés de la vie quotidienne et correspondant à un état de stress chronique d'intensité faible à modérée chez l'humain. Ce modèle implique l'exposition chronique de souris à des stress sociaux et environnementaux imprévisibles de différentes natures (confinement, inclinaison de la cage, litière mouillée, éclairage nocturne). Par ailleurs, dans le cadre d'une collaboration avec le CNES ainsi qu'avec l'ESA, nous testons des stress liés à une modification de la gravité (hyper- ou microgravité) qui correspondent à des stress mécaniques purs ou associés à un stress socio-environnemental. Le niveau de stress ainsi que l'implication du cervelet dans les mécanismes de régulation immuno-neuroendocriniens liés au stress sont évalués et étudiés par les neurobiologistes. Les immunologistes étudient l'impact de ces stress sur la création des répertoires primaires et secondaires d'anticorps, l'activité des lymphocytes au sein des organes lymphoïdes (rate et intestin) et l'immunité intestinale. Les mycologues quant à eux étudient l'adaptation de certains champignons aux stress gravitaires.

UR 7300 – SIMPA - Stress, IMMunité, PAthogènes

Directeur : Alain LOZNIIEWSKI

Directeur Adjoint : Jean-Pol FRIPPIAT

Thème : Effets de stress gravitaires et socio-environnementaux chroniques sur le système immunitaire, les microorganismes et le système nerveux

Responsable Administrative : Patricia GEORGES

Ingénieurs et Techniciens

Anne-Lyse BABIN, ADT
Julie BONNEFOY, TECH
Florence COSTE, IE
Lisiane CUNAT, TECH
+ 1 IE (en cours de recrutement)

Enseignants-Chercheurs

Catherine BISSON, PU-PH
Anne DEBOURGOGNE, PU-PH
Jean-Pol FRIPPIAT, PU
Robert LALONDE, PU associé
Alain LOZNIIEWSKI, PU-PH
Catherine STRAZIELLE, PU-PH
Anne VANET, PU associé
Corentine ALAUZET, MCU-PH
Catherine CAILLIEZ-GRIMAL, MCU
Xavier CASTELL, PRAG
Magali HERNANDEZ, MCU-PH
Armelle ROPARS, MCU
Kazutoyo YASUKAWA, MCU-PH

Doctorants

Claire COTTREL
Pauline JACOB
Emmanuel NOVY
Fatima ZAHRA KDAH (co-tutelle LRGP)

En tant que bactériologistes au sein de cette unité, nous nous intéressons plus particulièrement à l'influence d'un stress chronique sur la diversité bactérienne du microbiote intestinal et sur la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques, en relation avec la réponse immunitaire intestinale de l'hôte, dans différents modèles murins de stress. La thématique de recherche que je porte depuis 2013 ainsi que mon projet actuel de recherche sont détaillés dans un chapitre ultérieur. Ils s'inscrivent parfaitement dans la thématique générale du laboratoire (**Figure 1**). Le but de ces recherches est d'améliorer nos connaissances concernant l'impact des stress sur la santé de l'hôte afin de trouver des moyens de limiter leurs effets, qu'il s'agisse de problèmes dysimmunitaires, de dysbiose ou de dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques.

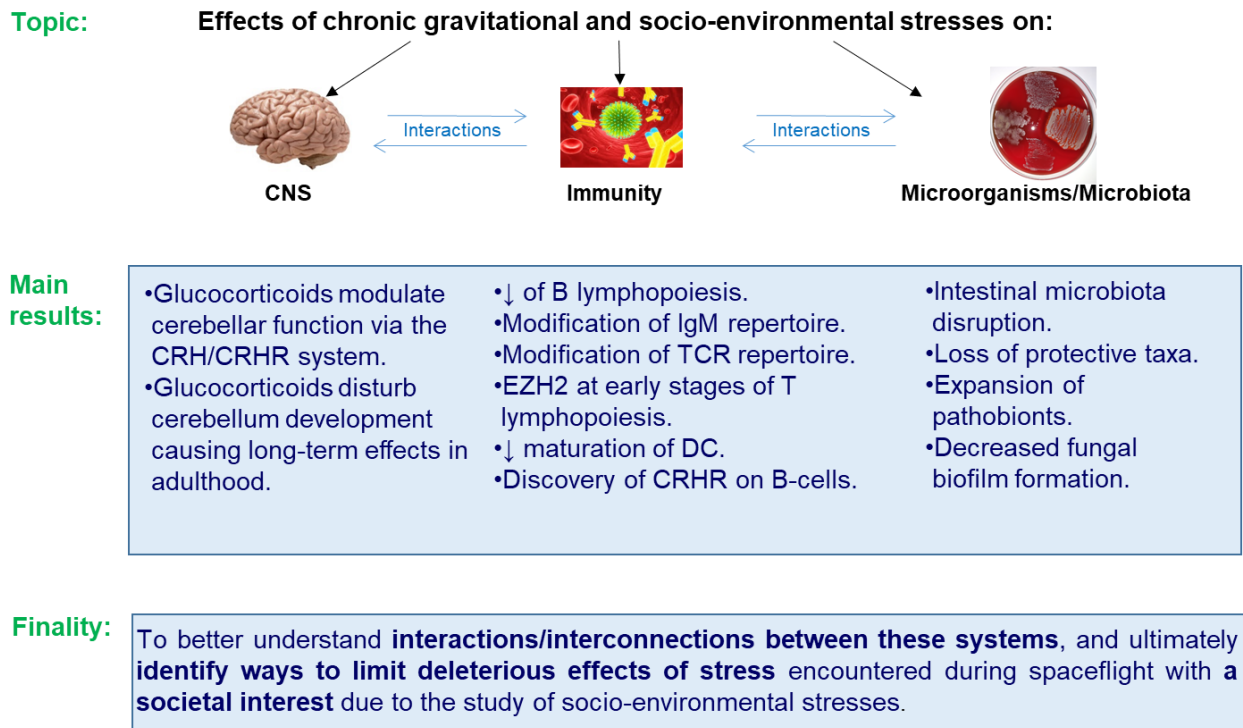


Figure 1 : Schéma représentant l'interdisciplinarité de l'UR 7300 avec les principaux résultats obtenus sur les versants immunologiques, neurologiques et microbiologiques.

LISTE DES COLLABORATIONS SCIENTIFIQUES

Collaborations au sein de l'Université de Lorraine (UL)

- Laboratoire de Chimie Physique & Microbiologie pour l'Environnement (LCPME), équipe 'Microbiologie Environnementale', UMR CNRS 7564, Nancy
- Unité INSERM UMR_S 1116 (équipe Chocs, insuffisance cardiaque: mécanismes cardiovasculaires et traitements), Nancy
- Laboratoire Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaire (IMoPA), équipe Ingénierie Cellulaire, Immunothérapie Cellulaire et Approches Translationnelles (CECITA), UMR CNRS 7365, Nancy
- Laboratoire Dynamique des Génomes et Adaptation Microbienne (DynAMic), UMR INRAE 1128, Nancy

- Ecole de Santé Publique de Nancy, UR 4360 APEMAC, Nancy

Collaborations nationales

- UMR 5569 HydroSciences Montpellier, Equipe PHySE : Pathogènes Hydriques Santé Environnement, UFR Pharmacie, Université Montpellier I
- Unité INSERM UMR_S 1250 Pathologies Pulmonaires et Plasticité Cellulaire (P3Cell), Université de Reims Champagne-Ardenne
- CNR des Bactéries Anaérobies et du Botulisme, Institut Pasteur, Paris
- UPRES EA 2656, 'Groupe de Recherche sur les Antimicrobiens & les Microorganismes', Université de Rouen
- Institut MICALIS, groupe 'Dynamique de la Paroi Bactérienne', UMR INRA 1319, Jouy-en-Josas
- Centre Psychiatrie et Neurosciences, équipe 'Physiopathologie des troubles de l'humeur et de l'addiction', INSERM U894, Site Pitié Salpêtrière, Université Paris Descartes

Collaboration internationale

- Institute of Medical Microbiology & Hygiene, University of Saarland Hospital, Homburg, Germany

LISTE DES CONTRATS DE RECHERCHE

Dans le cadre de mes projets de recherche bioclinique et fondamentale, j'ai réalisé ou participé à de multiples demandes de financement à la fois locale, régionale ou nationale. Les demandes ci-dessous sont celles qui ont abouti à un financement.

Financement par l'Université de Lorraine

Projet IMPACT LUE AntiBioRésistance

Obtention de crédits de maturation pour le financement d'un M2 sur le 1^{er} semestre 2024

En cours : projet interdisciplinaire de financement sur la thématique de l'antibiorésistance et sa dissémination en cours d'expertise locale par le conseil scientifique de l'UL avant envoi au printemps pour expertise internationale.

Projet mISSILE-ATB « Impact d'un StresS de l'hôte sur la diversité du microbiote IntestinaL Et la résistance aux AnTiBiotiques » (150 k€)

Bourse de thèse (2019-2023)

APP Lorraine Université d'Excellence, référence ANR-15-IDEX-04-LUE

Rôle : co-encadrante de thèse.

Sujet : cf partie « Activités de recherche expérimentale »

Projet MI-Stress « Stress chronique et dysbiose intestinale : évaluation des propriétés bactériologiques et immunomodulatrices de taxons bactériens d'intérêt » (7538 €)

AAP PROJETS INCITATIFS 2018 de l'Université de Lorraine.

Rôle : porteur de projet.

Sujet : cf partie « Activités de recherche expérimentale »

Financement par le GIRCI Est

Projet PARI-DYS (2018-2023) : « Dysbiose intestinale et reconstitution immunitaire chez le patient recevant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques » (50 k€)

Rôle : porteur de projet.

Sujet : cf partie « Activités de recherche bioclinique »

Participation en tant qu'équipe associée à des Programmes Hospitaliers de Recherche Clinique ou autres programmes de recherche bioclinique

Dans le cadre de mon activité hospitalière au laboratoire de bactériologie, j'ai participé à plusieurs études cliniques, majoritairement portées par des cliniciens, en tant que laboratoire référent pour les tests bactériologiques. La liste de ces études est la suivante :

- A multi-centre study to define novel individualised dosing regimens to maximise antibiotic effectiveness for treatment of pneumonia in ICU.
Etude multicentrique internationale SPARSE-PNEUDOS – 2023-2025.
- The β -Lactam Infusion Group (BLING) III study.
Etude multicentrique internationale ancillaire à l'étude BLING III – 2022-2023.
- Diffusion péritonéale et efficacité de l'antibiothérapie dans les péritonites de l'enfant.
CPRC 2020 – Etude monocentrique DIFFUPERPED – 2022-2024.
- Impact of a strategy combining the rapid polymerase chain reaction platform FilmArray® and the intervention of an antimicrobial Stewardship team in Hospital-Acquired pneumonia in non-mechanically ventilated patients: a randomized controlled trial.
Etude multicentrique SHARP – 2019-2022.
- A multicenter non-inferiority randomized trial comparing cloxacillin versus cefazolin efficacy for the treatment of bacteremia caused by methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA).
Etude multicentrique CLOCEBA – 2018-2023.
- Evaluation de l'efficacité et l'innocuité de MEDI3902 chez les patients sous ventilation mécanique dans la prévention des pneumonies nosocomiales causées par *Pseudomonas aeruginosa*.
Etude multicentrique EVADE – 2016-2019.
- Etude de phase IV, de non infériorité, multicentrique, randomisée, en double aveugle, comparant la pristinamycine (2gx2 par jours puis 1gx3 par jour) pendant 7 à 9 jours chez des adultes présentant une pneumonie aigüe communautaire avec un score PORT II ou III
Etude internationale multicentrique PRISTL06562– Protocole SANOFI 2015.
- Traitement antituberculeux guidée par la biologie moléculaire : un essai clinique randomisé, multicentrique, national.
Etude nationale multicentrique FAST-TB – PHRC 2014-2020.
- Etude prospective des complications pulmonaires tardives survenant chez les enfants traités par allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Etude nationale multicentrique RESPPEDHEM – PHRC 2014-2020.

– Prévalence des entérobactéries de sensibilité diminuée aux carbapénèmes.

Etude inter-régionale multicentrique – PHRC 2011.

– Caractérisation de nouveaux biomarqueurs dans la perspective d’une amélioration de la prise en charge diagnostique et thérapeutique des infections intraoculaires.

Etude nationale multicentrique – PHRC 2008.

– Détection des entérocoques résistants aux glycopeptides et des *Staphylococcus aureus* producteurs de leuocidine par technique d’amplification génique et d’hybridation.

Etude nationale multicentrique – STIC 2006.

LISTE DES ENCADREMENTS & CO-ENCADREMENTS

Diplôme	Année(s)	Etudiant	Quotité d’encadrement	Numéro des publications en rang utile (rang d’auteur)*
Thèse d’Université**	2020-2023	Jordan Chamarande	50%	JC (1 ^{ère}) / CA (AD) = 61, 65, 66
	2023	Safa Ben Brahim	100%	En cours de rédaction
Thèse d’exercice	2021	Marine Frayssinoux	100%	
	2020	Hélène Watry	100%	
	2013	Janina Ferrand	50%	JF (1 ^{ère}) / CA (D) = 26
	2009	Alice Duroch	100%	
	2008	Céline Matuszewki	100%	CM (3 ^{ème}) / CA (2 ^{ème}) = 6
	2006	Houria Hallage	50%	
Mémoire de DES	2024	Alizée Foury	50%	
		Safa Ben Brahim	50%	En cours de rédaction
	2022	Marine Frayssinoux	100%	En cours d’analyse
		Chloé Werner	100%	
Master 2	2024	Gaëtan Cueto	50%	
	2023	Safa Ben Brahim	50%	En cours de rédaction
	2022	Paul Chevallier	50%	
	2020	Bernadette Grondin	50%	
	2019	Thibault Carlier	50%	
		Emma Vaerstraete	50%	
	2018	Vanessa Pottier	50%	
	2016	Laura Gretten	100%	
	2014	Amandine Siméon	100%	
	2013	Yasmine Chetouane	100%	
	2012	Janina Ferrand	50%	JF (1 ^{ère}) / CA (D) = 26
		Kevin Patron	100%	KP (2 ^{ème}) / CA (D) = 26
Sandrine Henard		100%		

Diplôme	Année(s)	Etudiant	Quotité d'encadrement	Numéro des publications en rang utile (rang d'auteur)*
Master 1	2023	Agathe Charpentier	50%	
	2021	Alice d'Orfani	50%	
	2018	Baboucar Tamba	50%	
	2017	Yasmina El Habsaoui	50%	
	2015	Laura Gretten	100%	
	2013	Amandine Siméon	100%	
	2012	Clémence Jeannot	50%	
	2011	Kevin Patron David Gerthoffert	100% 50%	
Stage d'Initiation à la Recherche	2023	Alice Zheng	100%	
	2022	Marie Sterckeman	50%	
	2021	Aymeric Kesler	50%	
		Dayan Rigobert	50%	
	2020	Jean Jellimann	50%	
	2019	Laura Aubry	50%	
	2018	Emma Vaerstraete	50%	
		Emmanuelle Hologne	100%	
2017	Louise Loridon	50%		
2016	Elisabeth Scholler	100%		
Licence Professionnelle	2009	Aurélie Puissochet	100%	
	2007	Christelle Nicolas	100%	
BUT	2023	Marylou Martinot	50%	
	2018	Noémie Perquin	50%	
	2017	Marion Harispe	50%	
	2014	Julie Desroches	100%	
	2013	Florent Girardier	50%	
	2011	Agathe Inigo	100%	
	2006	Christelle Nicolas	100%	
Priscilla Manette		50%		
BTS	2021	Léa Philippot	100%	
		Vincent Pik	50%	
	2018	Guillaume Roblot	50%	
	2013	Annabelle Vincenot	100%	
	2011	Alexandre Picogna	100%	
2010	Pauline Goncalves	100%		

* AD, avant-dernière position ; D, dernière position

** dans le cadre de la co-direction de la thèse d'Université de J. Chamarande, j'ai fait une demande d'Autorisation à Codiriger un Thèse pour laquelle j'ai reçu un avis favorable du Conseil Scientifique de l'UL le 28/04/20. J'envisage à court terme de suivre la formation dédiée aux encadrants de thèse (formation prévue les 20 et 21 juin 2024).

PARTICIPATION A DES JURYS

Jury de thèse d'Université

Jordan Chamarande – 2023 – Université – de Lorraine Caractérisation des propriétés de surface, d'adhésion et de formation de biofilm de *Parabacteroides distasonis* et étude de son interaction avec son hôte : du potentiel probiotique au pathogène opportuniste.

Charles Antoine Guilloux – 2021 – Université de Brest – Etude de *Porphyromonas* dans le micro-environnement bronchopulmonaire des patients atteints de mucoviscidose.

Jury de thèse d'Exercice

Etudiant	Année	Titre de la thèse
Claire Audouard	2023	Impact of Standardized Blood Culture Collection Protocol: A Comprehensive Analysis of Contamination Rate Risk Factors
Safa Ben Brahim	2023	Mise en place d'un modèle murin de stress chronique et évaluation de son impact sur le microbiote intestinal
Paul Chevallier	2022	Etude de l'interaction entre <i>Candida albicans</i> et <i>Bacteroides fragilis</i> en contexte de péritonites fongiques de réanimation
Paolo Ladaique	2022	Intérêt du panel moléculaire respiratoire FilmArray® Pneumonia dans la prise en charge des patients atteints de pneumonie sévère durant la pandémie COVID-19 après un programme de formation
Marine Frayssinoux	2021	Dysbiose intestinale et reconstitution immunitaire chez le patient recevant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques
Aleyya Radjabaly Mandjee	2021	Endocardite infectieuse chez les patients sans terrain cardiologique prédisposant : caractéristiques clinico-biologiques, imagerie et devenir
Léa Jager	2021	Etude des caractéristiques cliniques et des paramètres biologiques associés à 501 hémocultures pédiatriques contaminées au CHRU de Nancy
Laurie Mougín	2021	Etat des connaissances chez les jeunes de 18 à 25 ans sur le <i>Chlamydia trachomatis</i>
Asma Titah et Isabelle Guillaume	2021	Impact d'une fiche informative de l'assurance maladie sur les connaissances de la population générale vis-à-vis de la prescription des antibiotiques en médecine de ville
Guillaume Baronnet	2020	Perceptions et rôles des professionnels de santé dans l'utilisation des antibiotiques en EHPAD : une étude qualitative
Hélène Watry	2020	Epidémiologie de la tuberculose au CHRU de Nancy et mise en place d'un test moléculaire de détection des principales mutations de résistance à la rifampicine et à l'isoniazide
Elsa Piroué	2019	Critères anamnestiques cliniques et biologiques des infections génitales féminines basses en médecine générale : comparaison des recommandations nationales et internationales

Etudiant	Année	Titre de la thèse
Maxime Lenclen	2018	Effet des antibiotiques en doses subinhibitrices
Janina Ferrand	2013	Mise en place d'un protocole de détection de transfert d'un plasmide au sein du microbiote intestinal murin
Alice Duroch	2009	Place de la PCR-hybridation dans le diagnostic de deux bactéries multirésistantes : les entérocoques résistants aux glycopeptides et les SARM producteurs de la leucocidine de Panton Valentine
Céline Matuszewki	2008	Evaluation de la carte ANC du système Vitek 2 pour le diagnostic des infections à bactéries anaérobies ou à corynébactéries
Houria Hallage	2006	Etude de la sensibilité au métronidazole et à d'autres antibiotiques de <i>Prevotella</i> spp.

Jury du Conseil Scientifique de la Faculté de Médecine pour la validation des SIR

Etudiant	Année	Titre du mémoire
Camille Faliszek	2020	Impact of TREM-1 inhibition in a mouse model of acute alcoholic steatohepatitis
Lisa Nagel	2020	Impact de la mise en place d'un protocole d'administration de colostrum cru sur la morbidité des nouveau-nés grands prématurés
Arthur Streit	2020	Intérêt de l'albumine dans la prise en charge du syndrome post-ressuscitation, apport du modèle animal
Karen Busch	2020	Study of the clot stability modulation in the hypocoagulability of arhgef1 ^{-/-} mice
Thibault Le Port	2019	Impact on environmental microbiology of an innovative incubator cover device
Louisiane Mangeot-Peter	2019	Effect of immersive virtual reality on anxiety of pediatric survivors of burns during a simple clinical examination
Marie Moreau	2019	Sécurisation de la supplémentation en phosphore chez les nouveau-nés prématurés
Alexandre Richer	2019	Conception d'une plateforme pédagogique à propos de la vascularisation encéphalique : mise en oeuvre pour l'artère cérébrale moyenne
Jeremy Sornette		

Jury du Conseil Scientifique de la Faculté de Médecine pour l'attribution du Prix Wittner

Novembre 2019 → expertise de 9 dossiers

Novembre 2020 → expertise de 6 dossiers

Novembre 2021 → expertise de 4 dossiers

ACTIVITES DE RECHERCHE BIO-CLINIQUE

Dans le cadre de mon activité hospitalière au laboratoire de bactériologie, j'ai porté ou j'ai participé à plusieurs projets de recherche clinique. Ces projets touchent à la fois le microbiote intestinal (en lien avec ma thématique de recherche fondamentale) dans le cadre d'une collaboration avec le service d'Hématologie clinique, ou les endocardites infectieuses dans le cadre de ma participation à l'équipe transdisciplinaire EI-Team du CHRU de Nancy. Je vais plus particulièrement vous présenter le projet PARI-DYS concernant l'évaluation du lien entre le microbiote intestinal et la reconstitution immunitaire chez le patient recevant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Je participe également à divers autres projets portant soit sur l'évaluation et la mise en place de nouvelles méthodes de diagnostic en bactériologie, sur l'étude de la résistance aux antibiotiques ou sur l'épidémiologie des infections bactériennes que je présenterai brièvement dans un second temps.

Evaluation de l'impact de la dysbiose intestinale sur la reconstitution immunitaire chez le patient recevant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

PROJET PARI-DYS

DYSBIOSE INTESTINALE ET RECONSTITUTION IMMUNITAIRE CHEZ LE PATIENT RECEVANT UNE ALLOGREFFE DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏÉTIQUES

Le microbiote intestinal (MI) humain constitue un écosystème complexe qui, de par son impact sur la santé et le bien-être de l'homme, est considéré actuellement comme un organe métabolique à part entière. Son équilibre et sa composition vont être impactés tout au long de notre vie par divers facteurs intrinsèques (âge, infection, hormones ...) ou environnementaux (alimentation, antibiotiques (ATB) ...) [1-3]. Cet équilibre est indispensable aux nombreuses fonctions exercées par les bactéries intestinales, et sa perturbation, également appelée dysbiose, est de plus en plus décrite comme étant associée au développement ou à l'aggravation de certaines pathologies. Le MI est donc en train de devenir une nouvelle cible thérapeutique dans la prise en charge de ces différents troubles via des stratégies variées visant à restaurer son équilibre [4]. Les études se sont dernièrement multipliées suite à l'avènement du séquençage à haut débit qui permet de séquencer simultanément l'ensemble des ADN ribosomiques (ADNr) 16S représentant l'ensemble des taxons bactériens (espèces, genres, familles ...) présents dans le tube digestif [1]. Les données les plus évidentes concernent les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, l'obésité ou le cancer colorectal mais des études commencent à émerger sur son implication potentielle dans l'évolution post-greffe chez les patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques (CSH) [4-10].

La greffe de CSH (allo-HSCT) demeure actuellement le seul traitement potentiellement curateur de la plupart des hémopathies malignes. Son effet anti-tumoral, appelé effet du greffon contre la leucémie, est véhiculé par le système immunitaire du donneur, notamment les lymphocytes T (L_T) injectés au receveur. Ces L_T , dans le contexte pro-inflammatoire induit par la chimiothérapie/radiothérapie du conditionnement de greffe, vont bénéficier d'une présentation accrue d'allo-antigènes par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) du receveur, notamment d'antigènes tumoraux permettant le développement d'une réponse T cytotoxique anti-tumorale. Cependant, dans ce contexte de forte activation de l'immunité adaptative, les L_T du donneur vont aussi reconnaître les allo-antigènes exprimés par les cellules épithéliales et endothéliales des

organes sains et être responsables de la maladie du greffon contre l'hôte aigüe (GVHa) [11,12]. La GVH survient chez 30 à 50% des patients allogreffés. Elle est responsable d'une morbidité élevée et d'un taux de mortalité de 10 à 30% selon le type de greffe.

La physiopathologie de la GVH est complexe et imparfaitement connue chez l'homme [11]. Elle est décrite comme faisant intervenir de multiples acteurs de l'immunité (**Figure 2**) [12]. Il est admis que les L_T issus de la greffe sont rapidement activés par les CPA du receveur, elles-mêmes activées dans le contexte inflammatoire qui suit le conditionnement de la greffe, notamment dans le tube digestif. Les L_T activés s'orientent alors vers une réponse cytokinique T de type Th1 et Th17. Cette réponse immunitaire peut être régulée par certaines cellules immunorégulatrices telles que les L_T régulateurs (Tregs), les cellules myéloïdes suppressives (MDSC) et les L_T Natural Killer invariants (iNKT) [12]. L'équipe nancéienne du Pr Marie-Thérèse Rubio a en particulier montré que le risque de GVHa était moindre en cas de bonne reconstitution iNKT à partir de J15 post-greffe, ainsi que chez les patients ayant reçu un greffon riche en iNKT $CD4^-$ et ayant une bonne capacité d'expansion *ex vivo* à partir des cellules du greffon [13,14]. Ces travaux ont analysé de multiples sous types cellulaires contenus dans le greffon incluant les Tregs et les L_T invariants associés aux muqueuses (MAIT pour *mucosal-associated invariant T*). En analyse multivariée, les lymphocytes iNKT étaient le seul sous type cellulaire du greffon à présenter des corrélations avec le risque de GVHa [14]. Ils ont ensuite montré dans un modèle de xéno-GVH que les iNKT $CD4^-$ humains pouvaient contrôler la GVH en inhibant l'activation, la maturation et la survie des cellules dendritiques permettant de réduire l'activation et l'orientation Th1 et Th17 des L_T alloréactifs [15].

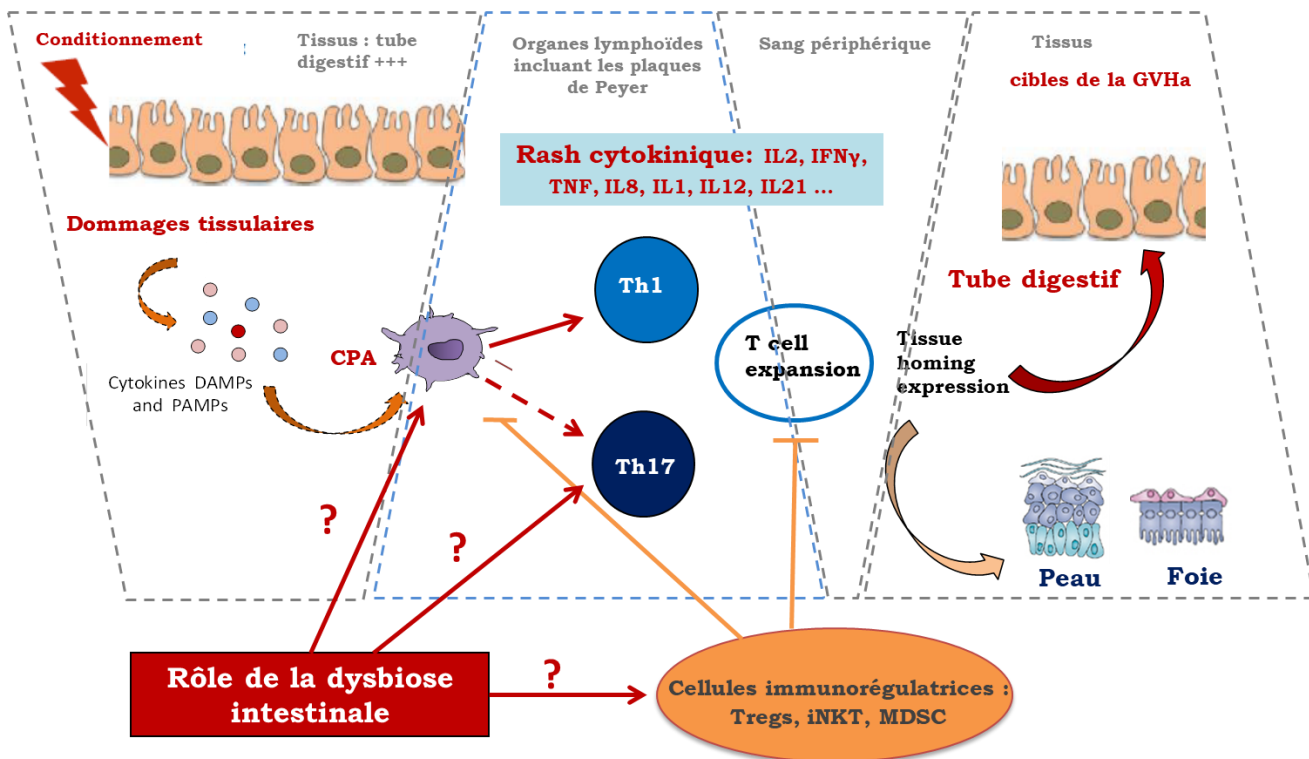


Figure 2 : Schéma de la physiopathologie de la GVH aigüe.

Les lymphocytes iNKT sont caractérisés par l'expression d'un TCR invariant ($V\alpha 24-J\alpha 18$) reconnaissant des glycolipides présentés par les CPA via la molécule CD1d. Ils peuvent également

être activés par certaines cytokines [16]. Ils représentent une faible proportion des L_T périphériques chez les sujets sains (médiane de 0,1%-variations de $< 1 \times 10^{-4}$ à 1%) [17]. Le microbiote intestinal semble avoir un impact sur les lymphocytes iNKT puisque les souris dénuées de flore digestive (germ-free) ont une accumulation des iNKT, dans la muqueuse digestive et dans les poumons, associée à un déficit quantitatif et fonctionnel en iNKT en périphérie [18-20]. Des travaux ont montré que des modulations de l'activation des iNKT étaient corrélées à la présence dans le MI de certains taxons bactériens possédant des sphingolipides dans leur paroi tels que les *Sphingomonas* spp. et apparentés ou certains *Bacteroidetes*, membres majeurs du MI [19-21]. Chez les patients HIV+, il a été montré que la richesse des selles en diverses espèces de *Bacteroides* était corrélée à une augmentation des iNKT de la muqueuse digestive [22]. Ceci suggère que les variations importantes du nombre d'iNKT observées entre individus pourraient s'expliquer entre autres par des variations du MI [19]. Par ailleurs, outre la modulation des Tregs, le MI a un rôle dans l'activation d'autres L_T invariants associés aux muqueuses, les MAIT [23]. Enfin, le MI semble pouvoir moduler l'activation des L_T conventionnels et leur orientation cytokinique Th1, Th17 ou Th2 [24].

Plusieurs études ont montré l'existence d'une dysbiose intestinale chez les patients allogreffés [6,7,9,10,25-27]. Cette dysbiose peut s'expliquer comme étant la conséquence de la chimiothérapie du conditionnement, de l'utilisation d'ATB à large spectre pendant la période de neutropénie fébrile qui suit la greffe ou des perturbations de l'alimentation durant cette période [9,27]. Par ailleurs, ces patients sont soumis à diverses situations stressantes au cours de la prise en charge de leur pathologie. Or il a été montré que le stress impactait la composition du MI [1,28]. La dysbiose associée à l'allo-HSCT est principalement caractérisée par une diversité bactérienne diminuée, la perte de certaines bactéries protectrices ou l'émergence d'espèces pro-inflammatoires [7,9,26], avec en particulier une prédominance d'entérocoques et de lactobacilles ainsi qu'une réduction des *Clostridiales* [29-31]. Cette dysbiose est encore plus prononcée chez les patients développant une GVHa digestive [31], sans que l'on sache si elle est la cause ou la conséquence de la GVH [27]. L'importance de la dysbiose semble avoir un impact négatif sur la mortalité toxique de la greffe [32]. Une réduction d'anaérobies de type *Blautia* (*Clostridiales*) a été corrélée à la survenue de GVHa digestive et à une moindre survie post-allogreffe [7]. Une étude plus récente a également rapporté des corrélations entre la modification du microbiote et le risque de rechute post-greffe [33].

La dysbiose post-greffe a été associée à i) une modulation de l'immunité des muqueuses avec modulation d'expression de molécules produites par les cellules épithéliales et les lymphocytes des muqueuses (REG-3 α , IL-22, TNF- α), ii) une diminution de métabolites protecteurs et/ou anti-inflammatoires (tels que le butyrate) et iii) une diminution en L_T régulateurs circulants [34]. Cependant, si ces mécanismes de régulation au niveau de l'immunité de la muqueuse digestive ont été décrits dans les modèles expérimentaux, leurs interactions avec l'activation et la régulation de la réponse T adaptative conduisant à l'activation des L_T allo-réactifs au niveau des organes lymphoïdes secondaires puis dans les tissus cibles de la GVH chez l'homme ne sont pas connues.

Par ailleurs, les deux équipes pionnières dans l'étude du microbiote chez le patient allogreffé (Holler à Resenbourg en Allemagne et Van den Brink au Mémorial Sloan Catherine à New York) ont rapporté un impact négatif de l'introduction précoce d'ATB à large spectre au décours de l'allogreffe de CSH [10]. L'introduction précoce d'ATB à large spectre (tels que les carbapénèmes ou l'association pipéracilline-tazobactam) est associée à un risque accru de mortalité toxique du fait d'un risque accru de GVH. Chez la souris et chez l'homme, il a été observé que certains ATB à spectre moins large (aztréonam et céfépime) avaient un impact moindre sur le microbiote et

limitaient la dysbiose par rapport aux ATB à spectre plus large ou aux ATB ciblant les clostridies (métronidazole, vancomycine) [10]. Cependant, certaines pratiques de greffe diffèrent entre les USA et la France. En France, contrairement aux pratiques américaines, l'administration de sérum anti-lymphocytaire au moment du conditionnement est fréquente et l'antibioprophylaxie n'est pas recommandée pendant la phase de neutropénie fébrile. Ceci explique l'utilisation plus fréquente et plus prolongée des β -lactamines à large spectre pendant la phase d'aplasie fébrile chez les patients allogreffés en France. La dysbiose observée chez ces patients pourrait de ce fait être différente de celle décrite dans les études publiées. Il est donc nécessaire d'analyser la composition du microbiote intestinal dans nos pratiques de greffe et d'explorer plus en détails les conséquences de la dysbiose sur la reconstitution immunitaire afin de mieux comprendre les interactions entre microbiote et immunité dans ce contexte particulier.

Ce projet a pour objectif **d'analyser les corrélations entre les modifications du microbiote intestinal, la reconstitution en cellules régulatrices incluant les lymphocytes iNKT, et l'activation des L_T après greffe de CSH chez l'homme.**

Nous avons émis l'hypothèse générale que la modification significative des proportions de certains taxons bactériens est prédictive de la qualité de la reconstitution immunitaire à J30. Cette modification serait corrélée au niveau d'activation et/ou au type d'orientation de la réponse lymphocytaire T précoce après la greffe ainsi qu'aux proportions en cellules pouvant réguler l'activation lymphocytaire T chez les patients recevant une allogreffe de CSH.

Compte tenu de la forte corrélation observée entre la reconstitution en cellules iNKT et l'apparition d'une GVHa d'une part, et du rôle possible du microbiote sur la survie et l'activation des iNKT d'autre part, nous avons émis comme hypothèse principale qu'il puisse exister une corrélation entre la dysbiose observée entre J0 et J15 post-greffe et la reconstitution en iNKT à J30 *in vivo* chez les patients allogreffés.

Par ailleurs, il est également possible que la dysbiose observée dans nos conditions de greffe puisse être corrélée à la cinétique et au niveau d'activation des L_T conventionnels (T naïfs ou mémoires, activés ou épuisés) de manière précoce après la greffe (J15 à J90), mais également à l'activation et l'expansion en périphérie d'autres cellules régulatrices (MAIT, Tregs et MDSC). Cette dysbiose pouvant être accentuée par l'antibiothérapie et le niveau de stress du patient, nous analyserons également l'influence de ces deux facteurs.

Dans ce cadre, nous avons mis en place au CHRU de Nancy une **étude interventionnelle, préliminaire (« proof of concept »), monocentrique, prospective, non randomisée, à visée analytique** dont je suis la porteuse de projet et dont l'investigatrice principale est le Pr Marie-Thérèse Rubio. Pour mener à bien cette étude, j'ai obtenu un financement de 50 k€ auprès du GIRCI-Est et Pr Rubio a amené un co-financement de 35 k€ (contrat avec un industriel). Cette étude clinique a démarré en décembre 2018 pour une durée initiale de 2 ans et une prolongation a été demandée en 2020. Les inclusions ont pris fin en mai 2023 (**Figure 3**) et nous avons pu inclure 87 patients.

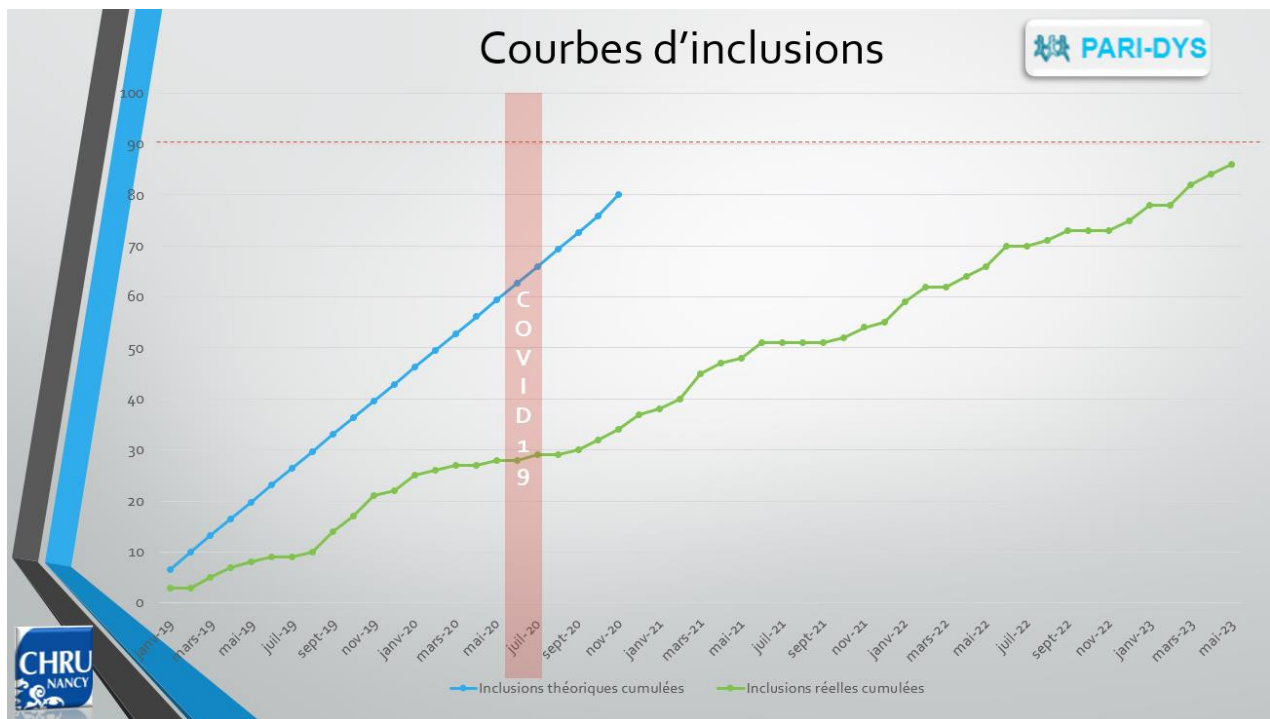


Figure 3 : Courbes décrivant les inclusions théoriques et réelles tout au long de l'étude clinique PARI-DYS.

Ces patients ont été suivis de l'inclusion jusqu'à 3 mois après la greffe avec des prélèvements de selles et de sang à différents temps (**Figure 4**). Des tests d'évaluation du niveau de stress (questionnaire d'anxiété générale de SPIELBERGER et du questionnaire d'auto-évaluation de stress perçue de COHEN) ont également été réalisés à différents temps du suivi. Par ailleurs, une étude ancillaire a été proposée à l'ensemble des patients inclus afin de suivre l'évolution clinique ainsi qu'immunitaire durant les 2 années suivant la greffe de CSH.

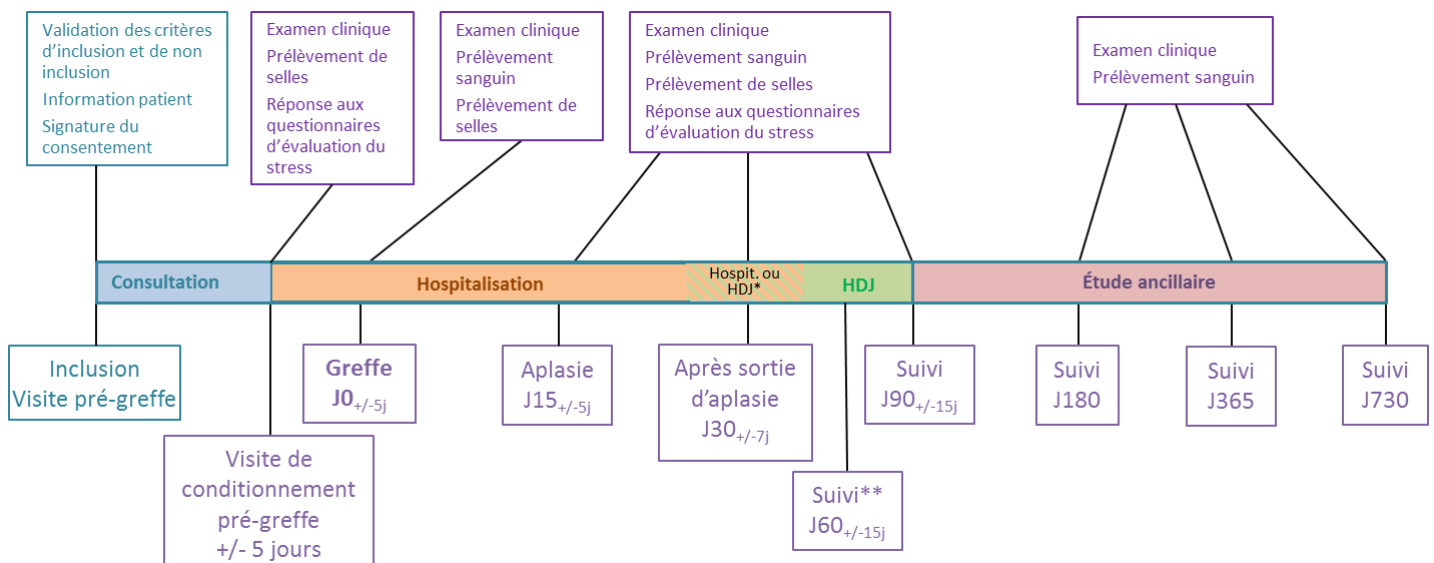


Figure 4 : Schéma récapitulatif du déroulement de la recherche et des différents prélèvements réalisés.

Une fois prélevé, les échantillons sanguins ont été récupérés puis les cellules ont été analysées à l'état frais au laboratoire, Equipe 6 d'IMoPa (CNRS UMR 7563), par une technicienne de laboratoire dédiée aux travaux de recherche sur la reconstitution immunitaire par cytométrie de flux.

Les étapes permettant la caractérisation de la dysbiose intestinale sont illustrées dans la **Figure 5**. Les selles recueillies aux différents temps dans des tubes spécifiques contenant un milieu de transport ont été acheminées au Centre de Ressources Biologiques (CRB) du CHRU de Nancy. Pour les selles recueillies par le patient après son retour à domicile, nous avons organisé un système de recueil et d'envoi par la poste. Les selles ont été stockées immédiatement à -80°C selon un protocole défini avec le CRB. Les ADN génomiques seront extraits à partir de ces selles au laboratoire UR 7300. L'ADN sera extrait selon les recommandations de l'International Human Microbiome Standards avec un protocole qui a démontré ses performances dans l'extraction de selles humaines et a été utilisé dans de nombreuses études sur le MI [35,36]. Les ADN extraits seront dosés afin d'évaluer leur pureté et leur concentration, puis stockés à -80°C au laboratoire UR 7300. Lors de ces séries d'extraction d'ADN, un témoin négatif sera extrait en parallèle lors de la première et la dernière série d'extraction et sera traité selon le même protocole que les échantillons de selles afin d'évaluer le bruit de fond.

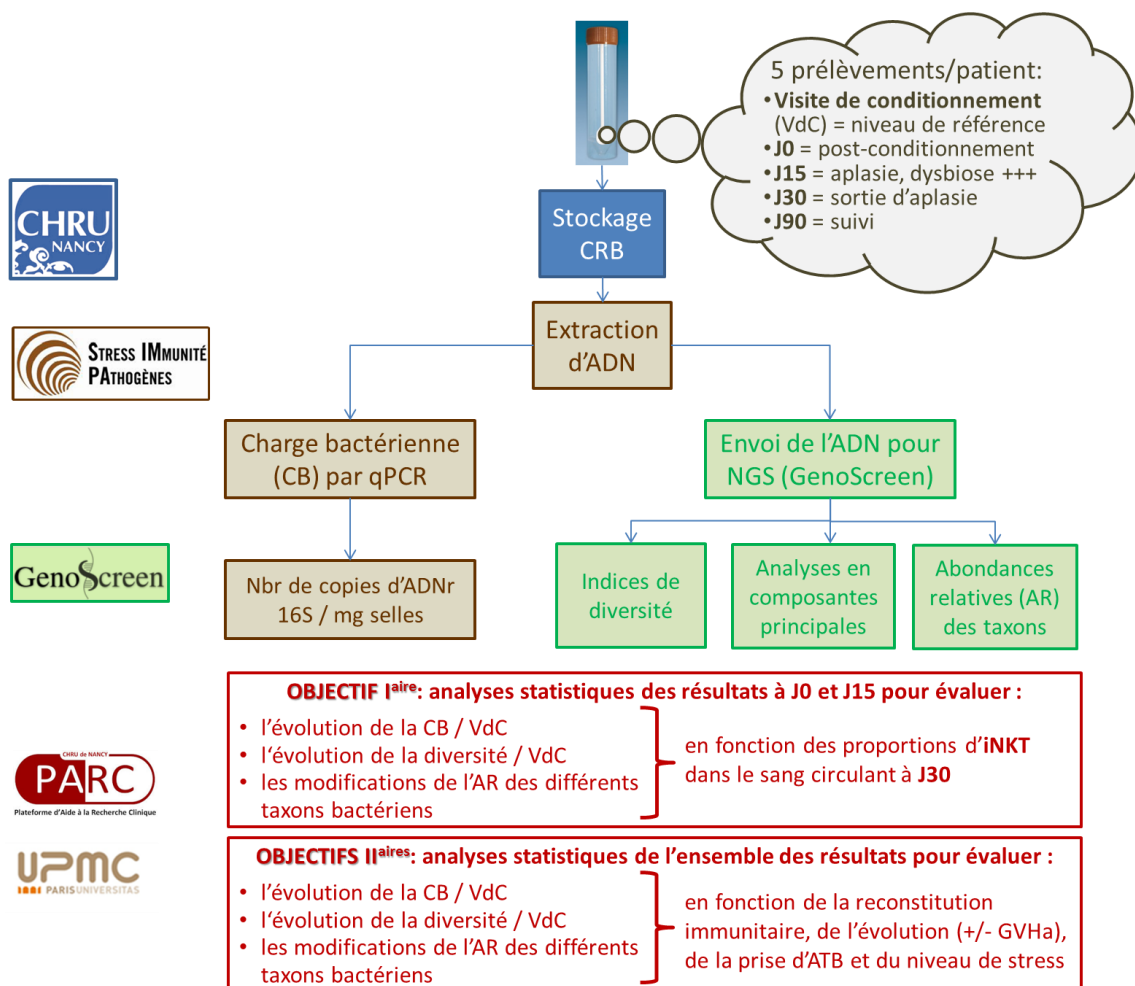


Figure 5 : Représentation schématique des étapes de l'analyse du microbiote intestinal et de la caractérisation de la dysbiose ainsi que des différentes structures participant aux analyses.

La charge bactérienne (CB), représentant le nombre de copies d'ADN ribosomique (ADNr) 16S par milligramme de selles, sera quantifiée au laboratoire UR 7300 par qPCR selon un protocole défini précédemment [37]. Cette détermination permettra de définir les variations relatives de biomasse bactérienne pour chaque point expérimental en relation avec le point à la visite de conditionnement.

La composition du MI sera déterminée par séquençage à haut débit en utilisant la méthode Illumina. Cette analyse sera réalisée par un prestataire externe (GenoScreen, Lille) choisi sur la base de son expertise dans l'analyse des écosystèmes microbiens intestinaux, de sa capacité à fournir les résultats sous format attendu avec une pré-analyse à l'aide de logiciels spécifiques et de la flexibilité de son approche nous permettant de réaliser nous-même l'extraction et la quantification de la CB. Le protocole qui sera utilisé par le prestataire consistera en l'amplification de la région V3-V4 de l'ADNr 16S et la préparation de bibliothèques d'amplicons selon le protocole Metabiote développé par GenoScreen. Ces bibliothèques seront séquencées sur 2 « run » MiSeq en 2x250 pb (20 000 séquences / échantillon). Une étape de pré-processing des séquences obtenues (assemblages, filtres qualité ...) suivie d'une analyse métagénomique avec affiliation taxonomique seront également réalisées.

Les analyses statistiques des données métagénomiques et les études de corrélation entre ces données et les données concernant la reconstitution immunitaire seront réalisées en lien avec le Pr Harry Sokol (ERL U1157 INSERM Microorganismes et physiopathologie intestinale, UPMC Paris).

A l'heure actuelle, nous sommes en cours d'extraction des derniers prélèvements de selles. Nous avons dû inclure plus de patients que prévu car nous avons plus de données manquantes qu'initialement envisagées. La moitié des échantillons a déjà été extrait et envoyé à GenoScreen. L'analyse ne se fera que de façon globale sur la totalité des 70 patients analysables (350 échantillons).

Les résultats de ce programme de recherche mettront en lumière les interrelations entre dysbiose, cellules iNKT, reconstitution immunitaire post-greffe, GVH, antibiothérapie et stress. En comparant au microbiote pré-greffe, nous détecterons quelles espèces bactériennes sont modulées et analyserons si leur perte ou leur acquisition pourraient être statistiquement liées à la qualité de la reconstitution en cellules iNKT d'une part et à la reconstitution immunitaire globale d'autre part. Cette étude préliminaire permettra donc de mettre en lumière une ou plusieurs pistes de recherche qui devront être explorées dans des études multicentriques de plus grande envergure.

Les taxons bactériens dont la modulation semble liée à la reconstitution immunitaire pourront alors devenir des marqueurs prédictifs de l'évolution de la greffe. Un suivi de leur abondance relative dans le microbiote des patients au cours de la greffe pourrait ainsi être utilisé pour prédire la reconstitution immunitaire et le risque de GVH. La caractérisation de taxons d'intérêt permettra également d'envisager des moyens de lutte contre la dysbiose afin d'améliorer la reconstitution immunitaire. Les principales stratégies de modulation du microbiote envisageables et actuellement discutées sont de type pré- ou pro-biotiques, modulation de l'alimentation, modification des schémas d'antibiothérapie ou transplantation fécale. Si le stress montre un effet aggravant sur la dysbiose, il est aussi envisageable d'envisager des stratégies visant à diminuer ce stress chez les patients allogreffés. Limiter la dysbiose pourrait permettre de prédire et de prévenir la réaction du greffon contre l'hôte afin d'améliorer la qualité de vie et la survie des patients allogreffés.

Notre objectif est que l'analyse des résultats de cette étude nous permette de valoriser ce travail courant 2024.

Bibliographie du projet PARI-DYS

1. Alauzet C. *Intestinal microbiota in health and disease. Correspondances en Onco-Hématologie* 2017 ; Vol. XII - n° 3;119-24.
2. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. *Diversity of the human intestinal microbial flora. Science* 2005;308(5728):1635-8.
3. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, et al. *Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. Microbiology* 2010;156:3216–23.
4. Doré J, Multon MC, Béhier JM, et al. *Microbiote intestinale : qu'en attendre au plan physiologique et thérapeutique ? Therapie* 2017;72(1):1-19.
5. Dahiya DK, Renuka, Puniya M, et al. *Gut microbiota modulation and its relationship with obesity using prebiotic fibers and probiotics: a review. Front Microbiol* 2017;8:563.
6. Docampo MD, Auletta JJ, Jenq RR. *Emerging influence of the intestinal microbiota during allogeneic hematopoietic cell transplantation: control the gut and the body will follow. Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:1360-6.
7. Jenq RR, Taur Y, Devlin SM, et al. *Intestinal Blautia is associated with reduced death from graft-versus-host disease. Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21(8):1373-83.
8. Quévrain E, Maubert MA, Michon C, et al. *Identification of an anti-inflammatory protein from Faecalibacterium prausnitzii, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. Gut* 2016;65(3):415-25.
9. Raghunathan VM, Sheng I, Lim SH. *Intestinal dysbiosis and allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation. J Transl Med* 2016;14:335.
10. Weber D, Jenq RR, Peled JU, et al. *Microbiota disruption induced by early use of broad-spectrum antibiotics is an independent risk factor of outcome after allogeneic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant* 2017;23:845-52.
11. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, et al. *Graft-versus-host disease. Lancet* 2009;373:1550-6.
12. Rubio MT, Coman T, Rossignol J, et al. *Immunology of hematopoietic stem cell transplantation. Reference Module in Biomedical Sciences* 2014.
13. Rubio M., Moreira-Teixeira, L., Bachy, E., et al. *Early post-transplantation donor-derived invariant natural killer T-cell recovery predicts the occurrence of acute graft-versus-host disease and overall survival. Blood* 2012;120(10), 2144-54.
14. Rubio MT, Bouillie M, Bouazza N, et al. *Pre-transplant donor CD4- invariant NKT cell expansion capacity predicts the occurrence of acute graft-versus-host disease. Leukemia* 2017; 31(4):903–12.
15. Coman T, D'Aveni M, Fabiani B, et al. *Human CD4-invariant NKT lymphocytes regulate graft versus host disease. [Submitted]*.
16. Bendelac A, Savage PB, Teyton L. *The biology of NKT cells. Annu Rev Immunol* 2007;25:297-336.
17. Montoya CJ, Pollard D, Martinson J, et al. *Characterization of human invariant natural killer T subsets in health and disease using a novel invariant natural killer T cell-clonotypic monoclonal antibody, 6B11. Immunology* 2007;122:1-14.
18. Olszak T, An D, Zeissig S, et al. *Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. Science* 2012;336:489-93.
19. Wei B, Wingender G, Fujiwara D, et al. *Commensal microbiota and CD8+ T cells shape the formation of invariant NKT cells. J Immunol* 2010;184:1218-26.
20. Wingender G, Stepniak D, Krebs P, et al. *Intestinal microbes affect phenotypes and functions of invariant natural killer T cells in mice. Gastroenterology* 2012;143:418-28.
21. An D, Oh SF, Olszak T, et al. *Sphingolipids from a symbiotic microbe regulate homeostasis of host intestinal natural killer T cells. Cell* 2014;156:123-33.
22. Paquin-Proulx D, Ching C, Vujkovic-Cvijin I, et al. *Bacteroides are associated with GALT iNKT cell function and reduction of microbial translocation in HIV-1 infection. Mucosal Immunol* 2017;10:69-78.
23. Soudais C, Samassa F, Sarkis M, et al. *In vitro and in vivo analysis of the gram-negative bacteria-derived riboflavin precursor derivatives activating mouse MAIT cells. J Immunol* 2015;194:4641-9.
24. McCoy KD, Ronchi F, Geuking MB. *Host-microbiota interactions and adaptive immunity. Immunol Rev* 2017;279:63-9.
25. Kaysen A, Heintz-Buschart A, Muller EEL, et al. *Integrated meta-omic analyses of the gastrointestinal tract microbiome in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Transl Res* 2017;186:79-94.
26. Shallis RM, Terry CM, Lim SH. *Changes in intestinal microbiota and their effects on allogeneic stem cell transplantation. Am J Hematol.* 2017; [Epub ahead of print].
27. Simms-Waldrip TR, Sunkersett G, Coughlin LA, et al. *Antibiotic-induced depletion of anti-inflammatory clostridia is associated with the development of graft-versus-host disease in pediatric stem cell transplantation patients. Biol Blood Marrow Transplant* 2017;23(5):820-9.
28. Kelly JR, Kennedy PJ, Cryan JF, et al. *Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. Front Cell Neurosci* 2015;9:392.
29. Taur Y, Xavier JB, Lipuma L, et al. *Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Clin Infect Dis* 2012;55:905-14.
30. Jenq RR, Ubeda C, Taur Y, et al. *Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation. J Exp Med* 2012;209:903-11.
31. Holler E, Butzhammer P, Schmid K, et al. *Metagenomic analysis of the stool microbiome in patients receiving allogeneic stem cell transplantation: loss of diversity is associated with use of systemic antibiotics and more*

- pronounced in gastrointestinal graft-versus-host disease. Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20:640-5.
32. Taur Y, Jenq RR, Perales MA, et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2014;124:1174-82.
33. Peled JU, Devlin SM, Staffas A, et al. Intestinal microbiota and relapse after hematopoietic-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2017;35:1650-9.
34. Mathewson ND, Jenq R, Mathew AV, et al. Gut microbiome derived metabolites modulate intestinal epithelial cell damage and mitigate Graft-versus-Host Disease. *Nat. Immunol.* 2016;17(5):505-13.
35. Santiago A, Panda S, Mengels G, et al. Processing faecal samples: a step forward for standards in microbial community analysis. *BMC Microbiology* 2014;14:112.
36. Sokol H, Leducq V, Aschard H, et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut*. 2017;66(6):1039-48.
37. Ferrand J, Patron K, Legrand-Frossi C, et al. Comparison of seven methods for extraction of bacterial DNA from fecal and cecal samples of mice. *J Microbiol Methods* 2014;105:180-5.

Réseau de lutte contre les endocardites infectieuses

Depuis 2005, je collabore de façon étroite avec les cardiologues et les infectiologues dans le cadre du diagnostic des endocardites infectieuses (EI), notamment des endocardites à culture négative. Je suis la bactériologiste référente pour les EI au CHRU de Nancy et je prends part aux réunions de concertation pluridisciplinaire bi-mensuelles. A ce titre, j'ai également mis en place au CHRU de Nancy le séquençage systématique de l'ADN ribosomique 16S par méthode Sanger dans les prélèvements valvulaires et j'ai pour projet de mettre en place le séquençage haut débit pour améliorer encore la sensibilité de la détection des microorganismes dans les prélèvements cardiaques.

Durant toutes ces années, j'ai participé aux différentes études menées par le réseau de lutte contre les endocardites infectieuses, à la fois au niveau local (EI Team du CHRU de Nancy), au niveau national (Etude Endocardite 2008) et international (International Collaboration on Endocarditis = ICE). Ces études ont été valorisées par diverses publications (cf *Listes des publications internationales et nationales*) :

- Travaux de l'EI-Team du CHRU de Nancy = publications 20, 36, 40, 41, 45, N1 et N4
- Travaux concernant l'Etude Endocardite 2008 et l'ICE = publications 14, 16, 21-24, 27, 28, 32, 34, 35, 38, 50, 55, 59, 72

Cela m'a également mené à participer à la thèse d'exercice du Dr Aleyya Radjabaly Mandjee.

Enfin, je vais co-encadrer avec le Pr Christophe Rodriguez et le Dr Paul-Louis Woerther de l'Hôpital Henri Mondor le mémoire du Dr Junior Safa Ben Brahim qui porte sur la comparaison des approches de séquençage Sanger et séquençage à haut débit (NGS) dans le diagnostic des endocardites infectieuses dans le cadre d'un projet de recherche clinique bi-centrique.

Projets portant sur l'évaluation et la mise en place de nouvelles méthodes de diagnostic en bactériologie

Performance de la PCR Xpert dans la détection du complexe tuberculeux lors d'infections paucibactériennes.

Réseau MycoMed de la SFM

Valorisation : publication 73

Comparaison des performances des spectromètres de masse VITEK®MS et MALDI Biotyper pour l'identification des bactéries anaérobies et anaérobies facultatives.

Partenariat avec la société Biomérieux.

Valorisation : publication 39

Evaluation de l'impact du test GenoType®MTBDR (Hain Lifesciences) sur l'efficacité de la stratégie de prise en charge de la tuberculose pulmonaire.

Etude nationale multicentrique FAST-TB – PHRC 2014.

Comparaison des performances des spectromètres de masse VITEK®MS et MALDI Biotyper pour l'identification des actinomycètes.

Partenariat avec la société Biomérieux.

Valorisation : publication 33

Evaluation du VITEK®MS pour l'identification des mycobactéries non tuberculeuses.

Partenariat avec la société Biomérieux.

Comparaison des performances de six coffrets de PCR pour la détection d'agents impliqués dans les pneumopathies atypiques communautaires.

Partenariat avec les sociétés Biomérieux, Diagénode, Elitech, Eurobio et Launch Diagnostics.

Comparaison des performances de quatre coffrets de PCR pour la détection du complexe tuberculeux associée ou non à la recherche de gènes de résistance aux antituberculeux

Partenariat avec les sociétés Biocentric, Cepheid et Eurobio.

Optimisation des méthodes moléculaires de détection des agents bactériens de bioterrorisme

Partenariat avec le réseau des laboratoires Biotox-Piratox.

Evaluation d'un système automatisé d'extraction d'ADN.

Partenariat avec la société Biocentric, Bandol, France.

Evaluation de la carte ANC du système Vitek 2 pour le diagnostic des infections à bactéries anaérobies ou à corynébactéries négative.

Partenariat avec la société biomérieux et le CHRU de Strasbourg.

Valorisation : publication n° 6

Caractérisation de nouveaux biomarqueurs dans la perspective d'une amélioration de la prise en charge diagnostique et thérapeutique des infections intraoculaires.

Etude nationale multicentrique (équipe associée) – PHRC 2008.

Détection des entérocoques résistants aux glycopeptides et des *Staphylococcus aureus* producteurs de leucocidine par technique d'amplification génique et d'hybridation.

Etude nationale multicentrique (équipe associée) – STIC 2006.

Projets portant sur l'étude de la résistance aux antibiotiques

Suivi de la résistance aux antituberculeux en France (membre du réseau AZAY-Mycobactéries et du groupe MycoMed de la SFM)

Valorisation : publications 31, 64, 71

Sensibilité des bacilles à Gram-négatif non fermentants à l'association méropénème-vaborbactame et à la délafloxacine

Valorisation : publication 70

Antibiotic Resistance Testing & Evaluation of Materials for *In vitro* Susceptibility.
Etude multicentrique ARTEMIS – 2021.

Prévalence des entérobactéries de sensibilité diminuée aux carbapénèmes.
Etude inter-régionale multicentrique (équipe associée) – PHRC 2011.

Etude de la prévalence des entérobactéries résistantes aux antibiotiques et responsables
d'infections urinaires en Lorraine.
Etude régionale ANTIBIOLOR.

Projets portant sur l'épidémiologie des infections bactériennes

Epidémiologie des infections à mycobactériess tuberculeuses et non tuberculeuses (membre du
réseau AZAY-Mycobactéries et du groupe MycoMed de la SFM)
Valorisation : publication 56

Coordinatrice pour la région Lorraine des Observatoires Régionaux des Pneumocoques
Valorisation : publication 67

Participation au Réseau national des méningites bactériennes de l'adulte.
Etude nationale mise en place en 2012 (collaboration avec le Service des Maladies Infectieuses &
Tropicales du CHRU de Nancy).

Participation aux Réseaux nationaux RENACHLA et RENAGO pour le suivi des infections
sexuellement transmissibles.
Valorisation : publication 68

Interaction avec le CNR des *Bordetella* de l'Institut Pasteur de Paris.
Valorisation : publication 62

Interaction avec le CNR des *Campylobacter* et *Helicobacter* de l'Institut Pasteur de Paris.
Valorisation : publication 63

ACTIVITES DE RECHERCHE EXPERIMENTALE

Depuis mon arrivée à Nancy, mon activité de recherche expérimentale s'intéresse plus particulièrement aux bactéries anaérobies. Tout d'abord, dans le cadre de ma thèse d'Université, je me suis intéressée aux liens pouvant exister entre la taxonomie de certains groupes bactériens anaérobies et leur résistance aux antibiotiques. Puis en 2010, j'ai débuté la mise en place d'une nouvelle thématique de recherche pour mon projet de candidature à un poste de MCU-PH. Cette thématique porte sur l'évaluation de l'impact d'un stress chronique de l'hôte sur son microbiote intestinal, microbiote majoritairement constitué de bactéries anaérobies. Dans le cadre de ce nouveau projet, nous avons, avec le Pr Alain Lozniewski, participé à la création d'une nouvelle unité de recherche en nous associant à des immunologistes et des neurobiologistes, l'UR 7300 Stress IMMunité Pathogènes dans laquelle j'émerge depuis 2013. En parallèle, j'ai aussi collaboré avec l'équipe du Pr Sébastien Gibot dans le cadre de la caractérisation du rôle d'un récepteur spécifique exprimé principalement par les cellules myéloïdes, TREM-1, dans le choc septique et l'infarctus du myocarde. La bibliographie de cette partie est présentée à la fin du chapitre en dehors des articles auxquels j'ai contribué qui sont présentés dans le chapitre **Liste des publications** (indiquées dans le texte entre crochets).

Taxonomie mixte et consensuelle et résistance aux antibiotiques: application aux genres *Prevotella* et *Clostridium*

- ➔ Thèse d'Université (UMR CNRS 7565 et EA 4369) : 'Taxonomie des bactéries anaérobies : de la reclassification à la découverte de nouveaux pathogènes'
- ➔ Publications 1, 4, 9, 10, 13, 19 ainsi que 2 chapitres de livre dans le *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*
- ➔ Présentations orales : Journées Anaérobies SFM 2006, Université du Saarland Allemagne 2006, Journées de la Recherche BioMédicale 2009
- ➔ Communications affichées : ClostPath International 2006, RICAI 2007, BioMicroWorld 2009

Une classification et une nomenclature fiables et actualisées sont indispensables pour identifier et différencier les microorganismes pathogènes chez l'homme. Ces dernières années ont vu la création de nombreux nouveaux taxons bactériens ainsi que la reclassification d'espèces ou de genres déjà connus, notamment au sein des bactéries anaérobies. Afin de clarifier la position taxonomique de certains groupes de bactéries anaérobies pour lesquelles des phénotypes de résistance aux antibiotiques inhabituels étaient observés, une approche taxonomique mixte et consensuelle associant l'analyse de marqueurs phénotypiques, génotypiques, génomiques et phylogénétiques a été utilisée. Cette approche, initiée en collaboration avec le Pr Estelle Jumas-Bilak de l'Université de Montpellier, a été appliquée à des bactéries présentant un bas niveau de résistance à la vancomycine et appartenant aux *Clostridiaceae*, famille en plein remaniement taxonomique. Les résultats obtenus ont abouti à la description d'une nouvelle espèce de *Tissierella* et d'un nouveau genre, *Flavonifractor*, qui résulte du regroupement de deux espèces préexistantes. L'étude du mécanisme de résistance chez *Tissierella praeacuta* et *Tissierella carlieri* a permis de démontrer que celui-ci n'était pas lié à la présence d'un gène *van* ni à l'épaississement de la paroi bactérienne. L'absence de pentapeptides détectables dans le mucopeptide de ces souches pourrait expliquer cette sensibilité diminuée à la vancomycine bien que cette hypothèse reste à confirmer. Appliquée dans le cadre d'une étude sur la résistance au métronidazole chez *Prevotella* spp., cette approche taxonomique mixte et consensuelle a également conduit à la découverte d'une nouvelle espèce, *Prevotella nanceiensis*, dont la résistance au métronidazole a été impliquée dans un échec

thérapeutique. Deux nouveaux gènes *nim* codant une nitroimidazole réductase ont également été décrits en collaboration avec le Pr Hélène Marchandin de l'Université de Montpellier : *nimH* associé à une transposase IS614B (**Figure 6**) dans le chromosome d'une souche de *Bacteroides fragilis*, et *nimI* *a priori* intrinsèque à l'espèce *Prevotella baroniae*. Ce travail souligne l'importance d'une taxonomie claire et fiable en bactériologie médicale et l'intérêt d'une approche mixte et consensuelle en taxonomie bactérienne.

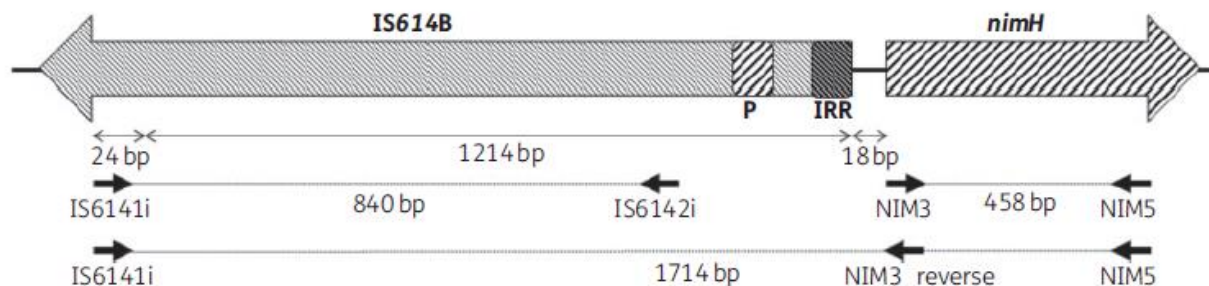


Figure 6 : Représentation schématique de l'organisation génétique de *nimH* et IS614B ainsi que de la stratégie PCR utilisée pour la cartographie génétique. P, promoteur putatif de *nimH* présent dans l'IS614B. IRR, séquence répétée droite de l'IS614B [Publication 37].

A la suite de ces travaux, j'ai été contactée par le *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, manuel de référence dans la classification bactérienne, afin de rédiger deux chapitres concernant les genres *Flavonifractor* et *Pseudoflavonifractor*.

Reconnaissance et régulation immunitaire face aux microorganismes

- ➔ Publications 3, 5, 7, 14, 15, 16, 30, 35
- ➔ Présentations orales : Sepsis 2010 International Symposium, SRLF 2010, SRLF 2011, SRLF 2012, International Sepsis Forum 2012,
- ➔ Communications affichées : SRLF 2006, Journées de la Recherche BioMédicale 2010, Sepsis 2010 International Symposium, SRLF2012, International Sepsis Forum 2012

Les interactions entre le système immunitaire et l'environnement font intervenir toute une série d'éléments moléculaires et cellulaires visant à avertir au plus tôt l'organisme d'un contact avec un élément exogène potentiellement délétère, tout en maintenant un état de tolérance active vis-à-vis des microorganismes commensaux. Ces signaux de danger sont rapidement relayés par les cellules de l'immunité innée via des récepteurs spécifiques tels les Toll-Like Receptors (TLR), ou les Triggering Receptors Expressed on Myeloid cells (TREM et TLT).

Notre équipe a mené entre 2006 et 2019 des travaux en collaboration avec l'Equipe Avenir INSERM U961, qui a ensuite été intégrée à l'UMR_S 1116 de l'UL, portant sur la stimulation bactérienne du récepteur TREM-1 présent à la surface des cellules myéloïdes ou du récepteur TLT-1 présent à la surface des mégacaryocytes et des plaquettes activées. Ces travaux ont permis de montrer, à l'aide de différents modèles expérimentaux animaux, que l'utilisation de peptides immunomodulateurs permettait d'améliorer la survie de l'hôte (**Figure 7**) par le biais d'une diminution de la réponse inflammatoire délétère et le maintien d'une activité anti-infectieuse suffisante. Il a également été mis en évidence que l'immunomodulation induite permettait de diminuer la translocation bactérienne d'origine intestinale.

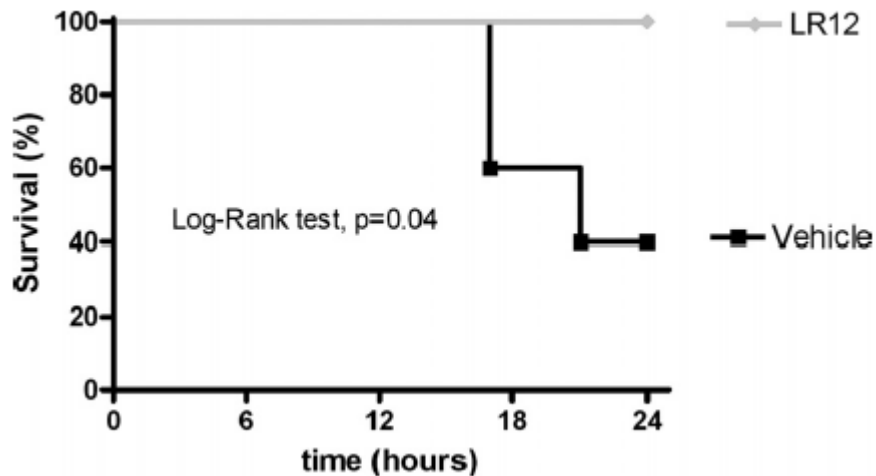


Figure 7 : Courbes de survie de Kaplan-Meier montrant que le peptide LR12 (inhibiteur de la signalisation TREM-1-dépendante) améliore la survie à 24h des souris après induction d'une péritonite infectieuse (test de log-rank, $p=0.04$) [Publication 18].

D'autres études dans le cadre de cette collaboration ont montré que l'administration de cellules immunosuppressives, les MDSC (Myeloid-derived suppressor cells), améliorait la survie au cours d'un modèle murin de péritonite, essentiellement en facilitant la clairance bactérienne. Enfin, des travaux sur l'effet de l'administration de cellules souches dans ce même type de modèle animal ont montré que seules les cellules isolées à partir de la gelée de Wharton amélioraient la clairance bactérienne, contrairement aux cellules souches isolées de la moelle osseuse.

Thématique de recherche expérimentale actuelle au sein de l'UR 7300

ETUDE DE L'IMPACT D'UN STRESS CHRONIQUE SUR LA DIVERSITE DU MICROBIOTE INTESTINAL EN LIEN AVEC LA REPONSE IMMUNITAIRE

- Publications 20, 36-39, 45-47, N3, N5
- Présentations orales : congrès SFM 2013, Congrès SFM 2017, Journées d'Actualités Physiopathologiques de Strasbourg 2018, Congrès SFM 2018, Journées Régionales de Prévention des Infections Associées aux Soins du Grand-Est 2021
- Communications affichées : Journées de la Recherche BioMédicale 2013, Congrès SFM 2018, Congrès SFM 2019, Colloque Réseau National Biofilm 2019, Congrès SFM 2021, Congrès SFM 2022.
- Co-encadrement d'une thèse d'Université
- Encadrement ou co-encadrement d'1 thèse d'exercice, 8 M2, 5 M1 et 2 SIR

Le microbiote intestinal (MI) humain constitue un écosystème complexe qui, de par son impact sur la santé et le bien-être de l'homme, est considéré actuellement par certains auteurs comme un organe métabolique à part entière. Son implication possible dans des pathologies telles que les maladies inflammatoires de l'intestin, certaines allergies ou des troubles métaboliques et dégénératifs, a également été avancée et parfois démontrée. Par ailleurs, l'équilibre et la composition de ce microbiote sont des facteurs importants dans les défenses naturelles de l'hôte contre les infections. Or, sa composition est affectée à la fois par des facteurs intrinsèques de l'hôte et des facteurs extrinsèques comme les antibiotiques ou l'alimentation. Des travaux princeps ont montré dans les années 2010 que l'exposition à différents types de **stress psychologiques** entraînait des **modifications significatives du microbiote digestif**. Par ailleurs, ces mêmes stress sont associés à des altérations de l'état immunitaire de l'hôte, accentuant le risque infectieux.

L'objectif du projet de recherche que j'ai développé à partir de 2010 dans le cadre de ma candidature à un poste de MCU-PH était d'évaluer l'impact de différents types de stress chroniques, psychologiques et/ou mécaniques, sur la composition du microbiote intestinal chez la souris. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à l'influence de ces stress sur la diversité bactérienne, en relation avec la réponse immunitaire intestinale de l'hôte.

Le microbiote intestinal : diversité & fonctions

Le tractus gastro-intestinal des mammifères est colonisé par une flore complexe et diverse avec laquelle ils co-évoluent depuis des millions d'années [7,28]. La colonisation microbienne massive du nouveau-né débute durant le processus de la naissance et est influencée par le mode d'accouchement [13]. Cette flore commensale, appelée microbiote, va évoluer en composition et diversité tout au long de la vie de son hôte en établissant avec lui des relations de mutualisme et de commensalisme [11,13]. A l'âge adulte, le microbiote humain est constitué de milliards de bactéries et l'ensemble des gènes bactériens, appelé microbiome, représente 150 fois plus de gènes que le génome humain [28].

Diversité du microbiote intestinal

Au sein de la flore digestive, seuls **10 à 30% des taxons sont cultivables** [7,13,15]. Une grande partie des informations concernant l'écosystème digestif a donc été générée par l'application de méthodes moléculaires visant la reconnaissance des acides nucléiques, notamment du gène codant l'ARN ribosomique 16S, motif moléculaire clef de la taxonomie bactérienne [11,13,15]. Ces études ont montré que la majorité du microbiote résidait au niveau du côlon avec plus de 99% des espèces présentes appartenant à deux phylums bactériens, les *Firmicutes* (ou *Bacillota*) et les *Bacteroidetes* (ou *Bacteroidota*), chez l'humain (**Figure 8**) ainsi que chez 60 autres espèces de mammifères [7,11,13,15,28]. Les membres du phylum *Actinobacteria*, représenté essentiellement par les bifidobactéries et les bactéries du groupe *Collinsella-Atopobium*, constituent une faible proportion de la flore digestive. Les genres cultivables dominants au sein de ces trois phylums sont *Bacteroides* sp., *Eubacterium* sp., *Ruminococcus* sp., *Clostridium* sp. et *Bifidobacterium* sp. Représentants majoritaires des *Proteobacteria*, les entérobactéries représentent moins de 1% du microbiote colique [6,13,15,43]. Enfin, six autres phylums ainsi qu'une archée sont également présents mais très minoritaires.

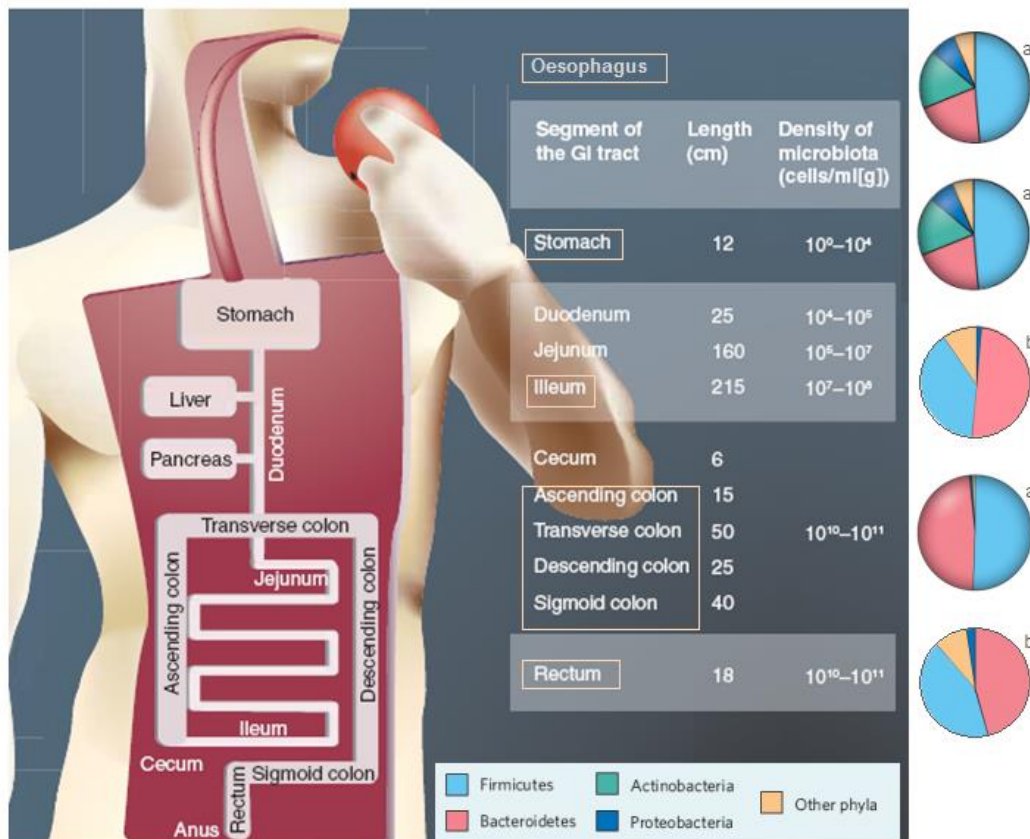


Figure 8. Représentation schématique du tractus gastro-intestinal humain avec la densité du microbiote et sa composition selon le site anatomique en conditions normales [Adapté de 6, 11^a et 51^b].

Tout au long du tube digestif, les bactéries sont présentes sous forme de **communautés site-spécifiques**. Chaque communauté contient des groupes bactériens (taxons de rang supérieur ou égal au genre) qui sont stables dans la plupart des hôtes mais il existe une très grande variabilité inter-individuelle au niveau de certaines espèces ou souches bactériennes [11,13]. La prédominance exclusive chez tous les mammifères des deux phylums *Firmicutes* et *Bacteroidetes* s'explique par le rôle essentiel de ces grands groupes bactériens dans les diverses fonctions du microbiote (voir §

suivant). Leur sélection et leur maintien au sein de la flore digestive sont liés aux nombreuses pressions exercées par le milieu intestinal (sels biliaires, pH, péristaltisme...) ainsi qu'à l'évolution de l'alimentation au cours de la vie de l'hôte et aux interactions (antagonistes ou synergiques) entre les différentes espèces bactériennes du microbiote.

L'exploration du microbiome intestinal est en pleine expansion depuis une quinzaine d'années notamment à l'instigation de l'équipe MICALIS de l'INRA de Jouy-en-Josas dans le cadre du programme européen MetaHIT qui fait partie du consortium international IHMC (International Human Microbiome Consortium) [24]. Sur les 160 espèces hébergées *a minima* par un individu sain, il semble exister un '**core microbiome**' correspondant à environ 60 espèces, bien que l'abondance relative de chacune de ces espèces soit très variable entre individus [39,46]. Ce nombre limité de phylotypes est particulièrement bien adapté à l'écosystème intestinal, si bien qu'on les trouve partagés par la majorité des individus. Ceci contribuerait à maintenir l'**homéostasie intestinale** ainsi que les fonctions principales assurées par le microbiote chez les individus sains [13,39]. L'amélioration de la connaissance de cette diversité a permis de définir des critères différenciant l'état normal du microbiote intestinal humain, ou **normobiose**, d'un état pathologique appelé **dysbiose**.

Fonctions du microbiote intestinal & immunité de l'hôte

Le MI exerce de nombreuses fonctions physiologiques essentielles au maintien de la santé de l'hôte. Les bactéries qui le composent possèdent en particulier un **potentiel métabolique** considérable. Elles sont ainsi capables de convertir une grande variété de substrats, générant une diversité de métabolites dont la plupart ont des effets bénéfiques sur la santé. C'est le cas de certaines fibres végétales telles que la cellulose dont la fermentation par le microbiote libère des acides gras qui sont réabsorbés et servent de source d'énergie à l'hôte [13,44]. Les bactéries de la flore digestive permettent également d'assimiler des éléments nutritifs tels que les vitamines. Leur rôle a aussi été établi dans le métabolisme des colonocytes, le développement et le renouvellement cellulaire de l'épithélium, ou encore l'angiogenèse intestinale.

Outre sa contribution aux fonctions citées ci-dessus, le MI participe au **développement** et à la **maturation** du **système immunitaire** et joue un rôle de **barrière** à la colonisation par les microorganismes entéropathogènes [7,44]. Plusieurs mécanismes expliquent cette capacité protectrice du microbiote, tels que la compétition pour les nutriments et/ou les sites de liaison ainsi que la production de métabolites inhibiteurs ou d'agents antimicrobiens (**Figure 9**). La muqueuse intestinale présente une très grande surface et est par conséquent continuellement exposée à de nombreux antigènes bactériens. Ces interactions permanentes jouent un rôle notamment dans la mise en place des phénomènes de tolérance et la prévention des allergies. La maturation des tissus lymphoïdes associés à l'intestin (GALT) ainsi que le recrutement au niveau de la muqueuse des cellules sécrétant les IgA et des lymphocytes T activés sont entièrement sous le contrôle de signaux provenant du microbiote [44]. Par ailleurs, des propriétés immunomodulatrices ont été décrites pour certaines espèces bactériennes telles que *Faecalibacterium prausnitzii* qui possède des propriétés anti-inflammatoires en bloquant la voie NF- κ B et la production d'IL-8 et en stimulant la sécrétion d'IL-10 [33,48]. De nombreux travaux ont montré que, chez les animaux axéniques, le système immunitaire est peu développé et déficient : immaturité des cellules présentatrices d'antigènes ; réduction des IgA plasmatiques ; production de cytokines limitée ; mauvaise différenciation des réponses Th1, Th2, Th17 et Treg ; faible diversité des anticorps sécrétés ; hypoplasie des plaques de Peyer ; difficultés dans l'établissement de la tolérance orale. Par ailleurs, la rate et les ganglions mésentériques de ces animaux sont non structurés et présentent des zones lymphocytaires atrophiées [7, 44].

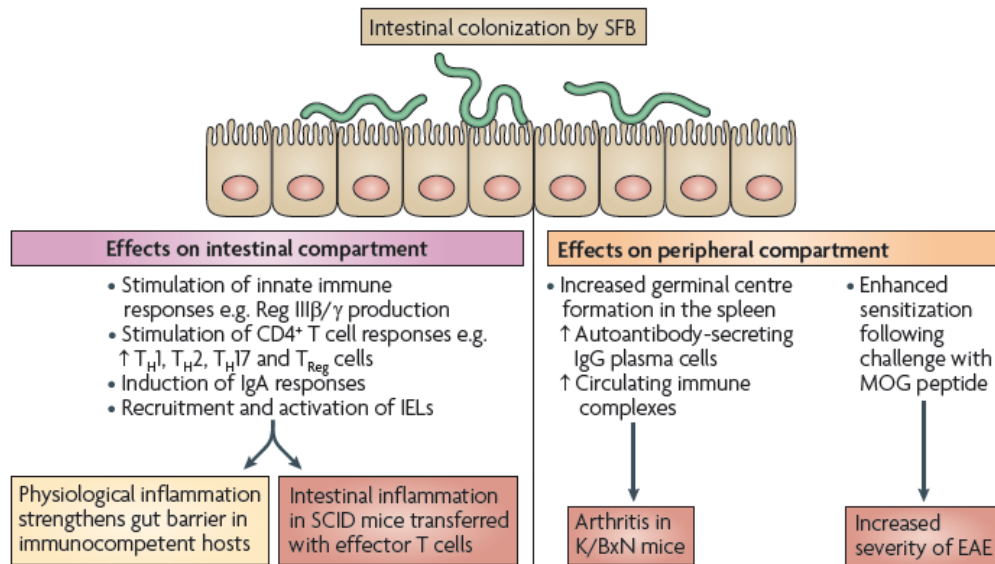


Figure 9. Effets de la colonisation de souris gnotobiotiques par un phylotype apparenté au genre *Clostridium* (SFB, segmented filamentous bacteria) sur le système immunitaire. *Via* des interactions fortes avec la muqueuse iléale, les SFB induisent i) la production de peptides antibactériens (RegIIIβ/γ) protégeant contre l’implantation de pathogènes, ii) une réponse pro-inflammatoire ainsi qu’une réponse régulatrice dont la composante inflammatoire permet de maintenir la barrière intestinale. Par contre, dans certaines conditions pathologiques (immunodépression, diabète de type I, encéphalomyélite auto-immune), ces mêmes bactéries auront un effet délétère [7]. IEL, lymphocytes intra-épithéliaux; MOG, myelin oligodendrocyte glycoprotein; EAE, encéphalomyélite auto-immune expérimentale.

L’ensemble des données montre que les **interactions** entre le microbiote et le système immunitaire sont **dynamiques et complexes**. Les bactéries commensales ou leurs métabolites affectent l’équilibre entre les réponses immunes adaptatives effectrices et régulatrices mais peu de données sont disponibles concernant l’influence du microbiote sur la réponse immunitaire innée de l’hôte. Il a été suggéré que les médiateurs de l’inflammation étaient associés à la réponse de l’hôte face à un stress environnemental et que le microbiote pouvait influencer cette même réponse (voir § suivant). La colonisation de l’hôte par les bactéries du microbiote modifierait donc les voies de perception et de réaction aux stimuli extérieurs, améliorant la résilience du consortium hôte-microorganisme face aux stress extérieurs.

Impact du stress sur le microbiote intestinal

Au sein du microbiote, la symbiose hôte-bactéries repose sur un équilibre et un dialogue permanent des bactéries entre elles et avec les cellules de l’hôte sain. Dans certains cas pathologiques, ce consensus semble être altéré et l’on parle alors de dysbiose. De **nombreux facteurs**, comme en particulier le temps de transit, le pH intestinal, l’alimentation ou la prise d’antibiotiques peuvent **influencer la stabilité des communautés microbiennes** dans l’intestin. Bien que moins étudiée, la question de l’impact d’un stress sur l’état et la composition du microbiote intestinal se pose, et ce d’autant plus que les bactéries de la flore digestive participent activement à l’**axe intestin-cerveau** [1,8,9, 35,40].

Stress, microbiote & axe intestin-cerveau

Le terme 'stress', largement utilisé dans le langage quotidien, définit à la fois l'action de l'environnement sur l'organisme et les réponses de ce même organisme pour s'adapter à son environnement. L'état de stress, d'origine psychologique et/ou physique, aigu ou chronique, correspond à une **réponse adaptative** de l'organisme conduisant à un ensemble de réactions non spécifiques (neuronales, neuroendocrines, métaboliques, comportementales) destinées à maintenir l'équilibre homéostatique. Face à un agent stressant, l'activation initiale du système nerveux sympathique déclenche la libération de **catécholamines** et est suivie par l'induction de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien conduisant à la sécrétion de **cortisol**. Le système immunitaire prend également part à cette réponse avec un rôle important de certaines cytokines telles que l'IL-1 [19,35,40]. Cette **phase dite d'alarme** entraîne notamment une mobilisation des réserves énergétiques qui permettraient à l'hôte soit de fuir, soit de se défendre contre l'agent stressant. Il s'en suit une **phase de résistance** impliquant majoritairement la voie endocrine et permettant à l'hôte de s'adapter au stress. Cependant, si ce stress perdure, l'accroissement de l'activité hormonale associé à la perte du rétrocontrôle négatif va avoir des **effets délétères** sur l'organisme, à la fois périphériques et centraux.

Ce réseau complexe de communication est en lien direct avec le tractus digestif pour former l'axe intestin-cerveau (**Figure 10**). Le **système nerveux entérique**, constitué de près de 10^8 neurones, est présent dans les parois du tractus gastro-intestinal et contrôle ses fonctions sensibles, motrices et sécrétoires. Cette régulation est liée notamment à la libération dans la lumière intestinale de nombreuses molécules telles que les catécholamines, la sérotonine, la corticolibérine (CRF pour corticotrophin releasing factor) ou certaines cytokines, soit directement par les neurones entériques, soit par les cellules entérochromaffines sous l'activation du nerf vague [30,40].

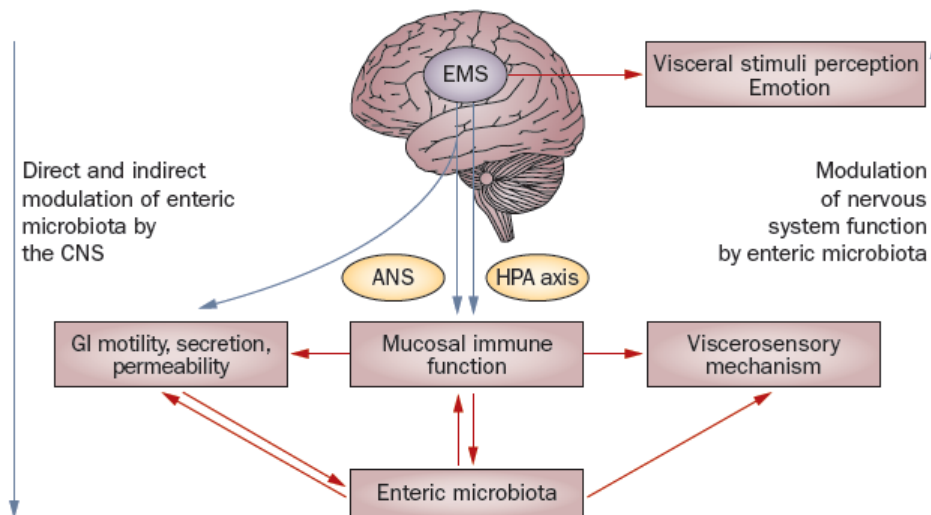


Figure 10. Représentation schématique des interactions bidirectionnelles entre le système nerveux central (CNS), le système digestif et le microbiote. Le cerveau module les fonctions et les perceptions du tractus gastro-intestinal par un réseau d'afférences et d'efférences (EMS, système moteur émotionnel) incluant les axes nerveux sympathiques et parasympathiques (ANS, système nerveux autonome) et l'axe corticotrope (HPA, axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien). Les bactéries du microbiote peuvent interagir à la fois avec des effecteurs digestifs ou immunitaires et des afférences viscérales [40].

L'étude de ces interactions est en pleine expansion depuis quelques années avec l'émergence de nouvelles disciplines telles que la psycho-neuro-immunologie ou l'endocrinologie microbienne

[1,8,9]. Diverses observations suggèrent un **rôle important du MI** dans l'axe intestin-cerveau, soit en interagissant indirectement avec le système immunitaire muqueux, soit en communiquant directement avec les cellules épithéliales et notamment les cellules entérochromaffines [8,9,40]. Des modifications du MI pourraient donc avoir des répercussions délétères sur les relations neuroendocrines et/ou immunitaires au sein du tractus gastro-intestinal, et de ce fait avoir des conséquences physiopathologiques. Or, il a déjà été démontré qu'un stress entraînait des **modifications**, par les voies **hormonales et endocrines**, de l'**environnement digestif** telles que des variations de motilité, d'acidité et de transport des ions ainsi que d'intégrité de la paroi intestinale. Ces modifications pourraient avoir des répercussions sur la composition du microbiote [1,8,9,40]. Par ailleurs, les **catécholamines** ont un **effet direct** sur certaines bactéries entériques dont elles stimulent la croissance ou l'expression de facteurs d'adhésion, impactant ainsi potentiellement la distribution des communautés bactériennes. Enfin, le stress est en général associé à des **perturbations du système immunitaire**, il peut de ce fait induire une altération de la régulation immunitaire du microbiote et être associé à une susceptibilité accrue aux infections (**Figure 11**) [1,8,30,40].

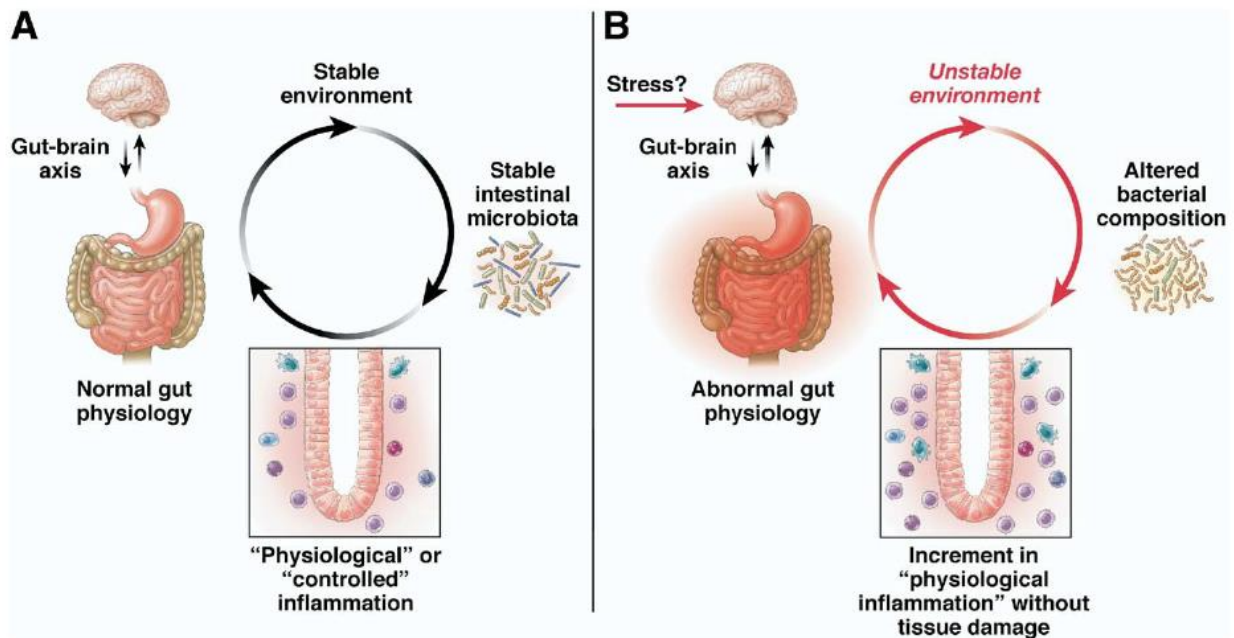


Figure 11. Représentation schématique de l'axe intestin-cerveau en cas de normobiose (A) ou de dysbiose (B). Le tractus gastro-intestinal constitue un environnement stable pour les bactéries du microbiote qui participent normalement à son intégrité structurale et fonctionnelle. Des altérations de la physiologie intestinale et/ou de la composition du microbiote auront des répercussions sur le fonctionnement du système digestif [8].

Influence du stress psychologique sur la diversité du microbiote intestinal

Il a été montré que l'exposition à différents types de stress entraînait des modifications significatives de la flore digestive à la fois chez l'humain et chez l'animal. La plupart des études récentes ont été effectuées dans le cadre de certaines affections (diabète, obésité, maladie inflammatoire de l'intestin, infection), au cours desquelles les dysbioses observées étaient généralement caractérisées par une perte globale de la diversité bactérienne avec des **variations du ratio Firmicutes/Bacteroidetes**. Ces variations pouvaient être associées à la **disparition** de groupes bactériens dits '**protecteurs**' tels que les lactobacilles, les bifidobactéries ou l'espèce

Faecalibacterium prausnitzii [11,13,33,45]. Les données concernant l'impact d'un stress psychologique sur le microbiote intestinal restent parcellaires. Bien que certaines modifications observées varient selon le type de stress et le modèle animal utilisés, l'ensemble des travaux décrivent des perturbations significatives de l'écosystème digestif liées au stress avec une **diminution de la charge bactérienne**, une **perte de la diversité**, une **augmentation** fréquente des bactéries **aéro-anaérobies facultatives**, une **perte** de groupes bactériens '**protecteurs**' et une **susceptibilité accrue** à la colonisation par des pathogènes entériques [8,18,36]. L'utilisation de la technique séquençage haut débit (NGS) a permis non seulement de confirmer ces observations mais également de caractériser de façon plus fine les modifications majeures liées au stress. Dans le modèle de stress d'immobilisation, Bailey *et al.* ont démontré que la diminution significative de diversité bactérienne du microbiote murin était liée à la perte des bactéries du genre *Tannerella* [2]. Il est intéressant de souligner qu'une réduction de l'abondance des *Tannerella* avait également été décrite par Lupp *et al.* dans un modèle murin d'inflammation intestinale [29]. Dans les deux cas, une susceptibilité accrue à l'infection par *Citrobacter rodentium* était associée à cette dysbiose [2,29]. Par ailleurs, ces modifications sont en général associées à l'**augmentation** des concentrations sériques de **corticostérone** (équivalent murin du cortisol chez l'homme) et de **cytokines pro-inflammatoires**, ainsi qu'à une réponse plus importante à un nouveau stimulus stressant et à une perméabilité intestinale accrue [8,18,36].

Ces données soulignent les liens étroits entre le microbiote, le système immunitaire et les voies de réponse au stress de l'hôte. Bien que certaines de ces interactions commencent à être élucidées, la majorité d'entre elles restent inconnues.

Objectifs de l'étude

Il nous semblait donc nécessaire dans un premier temps d'évaluer la composition et la diversité du microbiote intestinal en réponse à différents types de stress psychologiques afin d'évaluer des stratégies de modulation limitant l'impact du stress sur l'axe intestin-cerveau. Pour cela, nous avons étudié l'écosystème intestinal de souris soumises à plusieurs types de stress chroniques en nous intéressant plus particulièrement aux relations entre la **diversité** bactérienne et la **réponse immunitaire** de l'hôte.

Modèles animaux de stress chroniques

Plusieurs modèles de stress chroniques sont utilisés au laboratoire. Nous testons l'influence d'un stress socio-environnemental chronique modéré (CUMS pour *Chronic Unpredictable Mild Stress*) mimant une répétition de contrariétés de la vie quotidienne, correspondant à un état de stress chronique d'intensité faible à modérée chez l'humain. Par ailleurs, dans le cadre d'une collaboration avec le Centre National d'Etudes spatiales, nous testons des stress liés à une modification de la gravité (hyper- ou microgravité) qui correspondent à des stress mécaniques purs ou associés à un stress socio-environnemental. Qu'il s'agisse de stress psychosociaux seuls ou associés à des stress mécaniques, il a été montré que les voies s'activant en réponse aux agents stressant, axes corticotrope et hypothalamo-hypophysio-surrénalien, sont également impliquées dans l'axe intestin-cerveau [12]. Ce dernier constitue un système de communication entre le système nerveux central et le tractus gastro-intestinal, y compris les bactéries constituant le microbiote. La modulation de ces communications pourrait avoir un impact sur la stabilité et la composition du MI.

Pour chaque expérimentation, des groupes d'animaux témoins sont testés en parallèle. L'ensemble des expérimentations animales ont été réalisées dans le respect de la réglementation d'éthique en vigueur et selon des protocoles déjà établis. Les résultats que je vais vous présenter ici proviennent d'expérimentations qui ont été réalisées soit à Marseille, soit à Paris car nous ne possédions pas les modèles sur place à l'époque. A l'heure actuelle, ces modèles de stress chroniques sont en place au sein de l'ACBS (Animalerie du Campus de Biologie Santé) de l'Université de Lorraine (CUMS) et de la plateforme GEPAM (Gravity-Gravitational Experimental Platform for Animal Models) de l'UR 7300 située dans les locaux de l'ACBS (modifications gravitationnelles) [5].

Pour nos travaux, nous avons utilisé des souris C57BL/6 mâles âgées de 8 semaines que nous avons soumises pendant une durée de 21 jours (**stress chronique**) à un stress hypergravitaire (souris centrifugées à 2G ou 3G) (**Figure 12**), ou à un stress psychosocial modéré (CUMS) [20,38].



Figure 12. Centrifugeuse utilisée pour soumettre les souris à des conditions hypergravitaires (laboratoire de Génomique Fonctionnelle, Comportement et Pathologie, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille).

Les modèles de stress par modification de la gravité

Les vols spatiaux représentent un modèle unique dans lequel plusieurs stress sont rencontrés de façon continue ou intermittente dont des stress psychosociaux (dus à l'isolement et au confinement), des stress physiques (modification de la gravité, vibrations), les radiations, la perturbation du rythme circadien et une moins bonne nutrition [16,20]. Associées aux effets directs de ces stress sur les astronautes, des altérations du système immunitaire et une augmentation de la virulence des microorganismes dans l'espace font de ces vols spatiaux des missions à risque infectieux plus élevé. Au début des années 2010, les données disponibles concernant l'impact des vols spatiaux sur la composition et la diversité du microbiote intestinal sont rares et parcellaires, ceci étant en grande partie lié aux difficultés techniques de recueil des échantillons biologiques en vol [23].

Il est intéressant de souligner que les **mécanismes de stress** chroniques sont les **mêmes en vol et sur Terre**. Il en est de même pour un grand nombre des **altérations du système immunitaire** observées en vol (perturbations de la production des cytokines Th1, des IgG, ainsi que de la réponse proliférative des lymphocytes B et T) qui sont également retrouvées chez les personnes soumises à des stress chroniques sur Terre [19,20,37]. Ainsi, les données obtenues pourront non seulement être appliquées à la **biologie spatiale** mais également servir de **comparatif avec des modèles de stress chroniques terrestres** afin d'identifier des modifications particulières liées à des conditions plus extrêmes.

Le modèle de **stress hypergravitaire** nous a permis d'étudier au sol l'impact d'un stress **mécanique** pouvant être associé à un stress **psychologique**. Les immunologistes de la future UR

7300 venaient juste de démontrer qu'un état de stress psychologique persistait après une centrifugation de 21 jours à 3G et était associé à des concentrations sériques de corticostérone deux fois plus élevées (**Figure 13**) ainsi qu'à des comportements anxieux qui persistaient 15 jours après arrêt de la centrifugation [20]. Cet état de stress psychologique n'était pas retrouvé à 2G. Ainsi, les résultats obtenus à ces deux vitesses d'hypergravité permettent de comparer les effets liés à une modification de **gravité seule (2G)** ou **associée à un stress psychologique (3G)**.

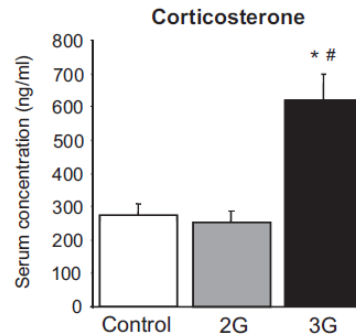


Figure 13. Concentration sérique de corticostérone après 21 jours d'hypergravité à 2 ou 3G en comparaison à des souris contrôles ($n = 12$ / groupe) [20].

Le modèle de stress chronique modéré (CUMS)

Ce modèle de **stress psychologique chronique modéré** combine un ensemble de stress sociaux et environnementaux d'intensité modérée qui vont être répétés de façon imprévisible tous les jours pendant les 21 jours de l'expérience (modèle de stress détaillé dans le chapitre *Projet de Recherche*). C'est un modèle animal utilisé pour mimer une **répétition de contrariétés de la vie quotidienne** menant à un état de stress chronique d'intensité faible à modérée chez l'humain [38]. Cet état de stress est associé à une augmentation des taux sériques de corticostérone. Dans l'attente de la mise en place de ce modèle au laboratoire UR 7300, les expériences ont été réalisées au Centre Psychiatrie et Neurosciences, au sein du laboratoire INSERM U894 de l'Université Paris Descartes. Ce dernier est le laboratoire qui a mis en place ce modèle original de stress psychologique.

Validation de l'étape d'extraction de l'ADN à partir d'échantillons fécaux

L'étape d'extraction des acides nucléiques reste l'étape **limitante** des études indépendantes de la culture. De nombreux travaux soulignent l'importance et la nécessité de valider cette étape [31,34,42]. En effet, il est indispensable d'évaluer non seulement l'efficacité de l'extraction de l'ADN à partir du milieu très dense et complexe qu'est le microbiote intestinal, mais il faut également que les nombreux **inhibiteurs** présents soient correctement éliminés. Par ailleurs, la présence de bactéries ayant une **paroi difficile à lyser** soulève le risque de sous-évaluer certaines espèces si l'extraction n'est pas adaptée. Certains auteurs ont comparé l'efficacité de plusieurs méthodes d'extraction sur des échantillons fécaux humains et animaux [31,34,42,49]. Bien que la souris soit le modèle mammifère de prédilection, notamment dans les analyses du microbiote intestinal, aucun travail concernant l'optimisation de l'étape d'extraction d'ADN à partir d'échantillons fécaux murins n'avait été publié à l'époque.

Une étape **préliminaire** de ce projet a donc consisté à **comparer** l'efficacité de **plusieurs méthodes d'extraction d'ADN** sur des échantillons fécaux et intra-luminaux murins. Différents paramètres tels qu'un prétraitement avec des billes, des modifications de temps d'incubation et de température, et/ou des étapes supplémentaires de purification ont été comparés. Le rendement de

l'extraction, la pureté et l'intégrité de l'ADN extrait (**Tableau 1**), la présence d'inhibiteurs et la capacité à extraire des quantités définies de bactéries possédant des types de paroi différents ont été évalués.

Tableau 1. Synthèse des résultats de pureté et de concentration d'ADN extrait à partir des fèces ou des contenus intra-caecaux murins à l'aide de 7 méthodes différentes [Publication 26].

Extraction method	Nucleic acid yield (µg/g sample) ^a	A ₂₆₀ /A ₂₈₀	16S rRNA gene yield (log copies/g sample)
<i>Feces</i>			
MG+	25.90 ± 10.70	1.62 ± 0.05	10.64 ± 0.15
QS	35.47 ± 1.39	2.10 ± 0.01	11.15 ± 0.02
EM	19.66 ± 9.54	1.99 ± 0.02	10.75 ± 0.24
BO	134.00 ± 15.80	1.93 ± 0.03	12.02 ± 0.10 ^b
ZR	64.20 ± 24.20	1.60 ± 0.54	11.41 ± 0.38
FpS	58.02 ± 7.60	1.92 ± 0.02	11.97 ± 0.04 ^b
FpF	63.69 ± 5.13	2.23 ± 0.03	11.81 ± 0.04 ^b
<i>Cecal contents</i>			
MG+	6.83 ± 1.46	1.95 ± 0.04	10.54 ± 0.07
QS	5.09 ± 0.96	2.16 ± 0.05	10.30 ± 0.13
EM	7.83 ± 1.95	1.93 ± 0.01	10.83 ± 0.11
BO	6.34 ± 2.37	1.79 ± 0.10	10.75 ± 0.23
ZR	7.04 ± 5.11	1.23 ± 0.58	10.73 ± 0.17
FpS	74.55 ± 1.59	1.94 ± 0.01	11.94 ± 0.06 ^b
FpF	36.64 ± 8.63	2.98 ± 0.14	11.30 ± 0.02

MG+: MasterPure™ Gram Positive; QS: QIAamp® DNA Stool; EM: NucleiSENS® easyMAG®; BO: method from Bonot et al. (2010); ZR: ZR Fecal DNA MiniPrep™; FpF: FastDNA® SPIN Kit for Feces; FpS: FastDNA® SPIN Kit for Soil.

^a DNA yield from a 50 mg sample as determined with the Qubit fluorometer (average of five replicates ± SEM).

^b Significantly different from the other four or six methods, respectively (p < 0,001).

Pour ce dernier paramètre, nous avons préalablement ajouté à des échantillons intra-luminaux et de fèces un mélange calibré de *Prevotella baroniae* DSM 16972^T (gène *nimI* chromosomique), *Enterococcus faecium* BM 4339 (gène *vanD* chromosomique) et *Mycobacterium chelonae* CIP 104535^T (région ribosomique entre les gènes *rrs* et *rrl*). Ces espèces bactériennes ont été choisies de par la variabilité de leur paroi : très fine pour *P. baroniae* (bactérie à Gram négatif), d'épaisseur classique pour *E. faecium* (bactérie à Gram positif) ou très épaisse pour *M. chelonae* (mycobactérie).

Cette étude a montré une très importante variabilité de résultats selon la technique utilisée en termes de rendement d'extraction (**Figure 14**), de degrés de pureté et d'intégrité des ADN extraits, ainsi qu'en termes d'élimination des inhibiteurs présents en grande quantité dans le milieu intestinal. Nos résultats ont été publiés dans *Journal of Microbiological Methods* [publication 26]. Ils montraient que la technique qui alliait les meilleures performances en termes de rendement, de pureté, d'intégrité, d'élimination des inhibiteurs et de lyse de tout type de paroi bactérienne correspondait au 'FastDNA® SPIN kit for Soil' (MP Biomedicals, USA). Ce coffret a donc été choisi pour extraire l'ADN de l'ensemble des échantillons fécaux murins dans nos différents travaux.

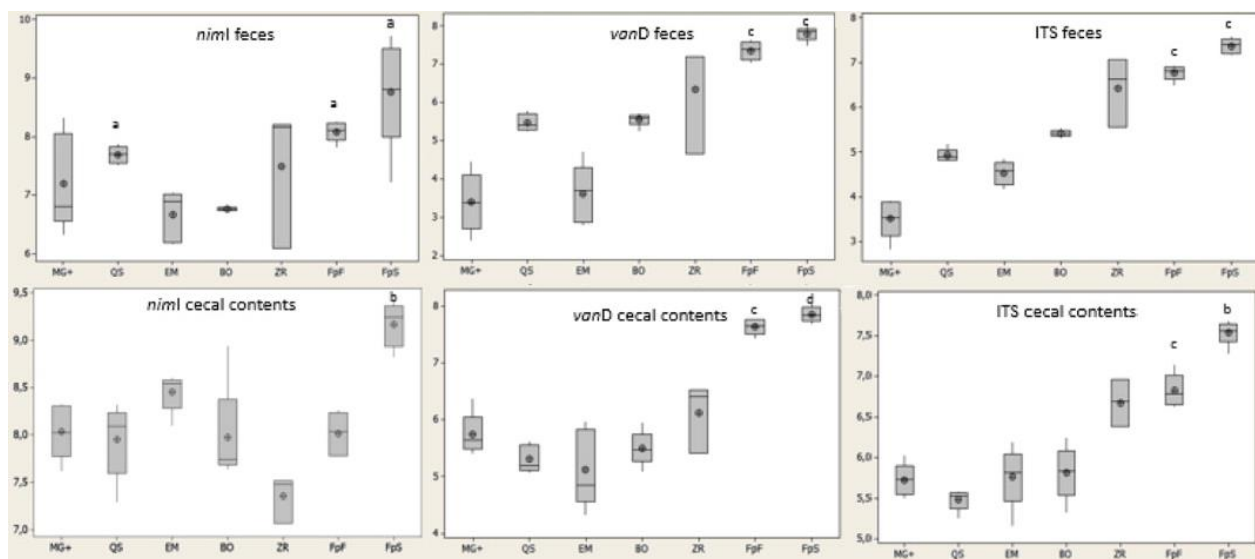


Figure 14 : Nombres de copies (Log10) détectées en qPCR des gènes *nimI*, *vanD* et de l'ITS de *M. chelonae* à partir d'ADN extrait de 50 mg de fèces ou de contenu intra-caecal en comparant les différentes méthodes [Publication 26].

Impact des stress hypergravitaires sur le microbiote intestinal murin

L'étude par NGS et qPCR de l'ADNr 16S chez les souris soumises à une hypergravité de 2 ou 3G durant 21 jours a permis de mettre en évidence une augmentation de la charge bactérienne (**Figure 15A**) seulement à 3G, une augmentation de l' α -diversité à 2 et 3G, ainsi qu'une modification significative de la β -diversité dans le caecum des souris 3G. Les profils intra-caecaux des souris 3G étaient caractérisés par une diminution du rapport *Firmicutes/Bacteroidetes* (rapport de 15,79 chez les souris 1G, 14,03 chez les souris 2G et 7,31 chez les souris 3G). Nous avons aussi noté que 12,1% des taxons étaient significativement impactés à 3G, la plupart d'entre eux (78%) étant enrichis. Au sein du phylum *Bacteroidetes*, un impact significatif du stress sur l'abondance relative des *Porphyromonadaceae/Tannerellaceae* a été mis en évidence à 3G, avec une réduction de l'espèce *Parabacteroides distasonis* (**Figure 15B**).

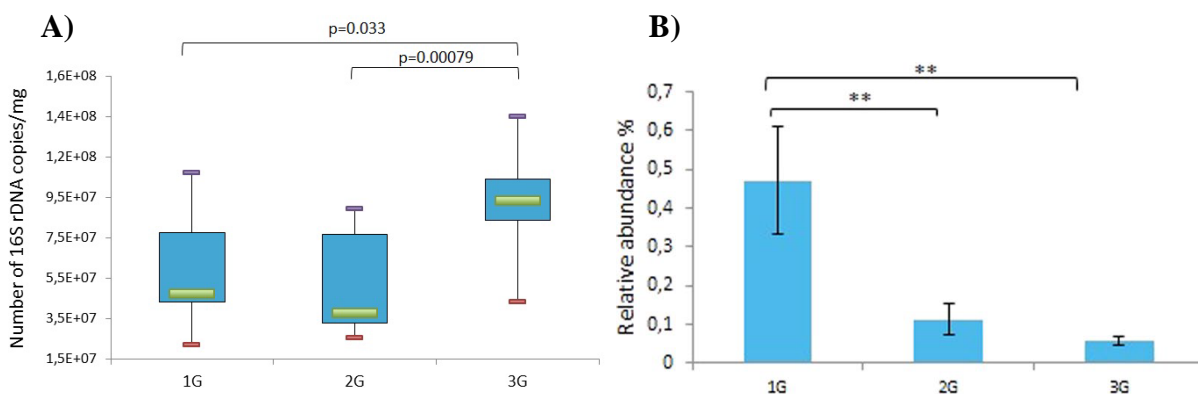


Figure 15. A) Charge bactérienne totale (déterminée par qPCR) correspondant au nombre total de copies de gènes codant pour un ARNr 16S par mg de contenu intra-caecal et B) abondance relative intra-caecale de *Parabacteroides distasonis* chez les souris soumises à une hypergravité de 2G (n=10), 3G (n=11) ou gardés à 1G (n=7). Analyses statistiques : Mann-Whitney U test [Publication 48].

La perturbation du microbiote caecal semble donc être fonction de l'intensité de la force gravitaire appliquée. De façon intéressante, ces modifications ne s'accompagnaient pas

d'altérations de l'intégrité de la muqueuse intestinale ni de l'immunité locale. Ces résultats, publiés dans *Scientific Reports* [publication 48], renforcent ceux obtenus lors d'expérimentations en vol ou en utilisant des modèles de microgravité [40,47] et soulignent la nécessité d'étudier l'impact d'un vol spatial sur le microbiote intestinal afin d'optimiser les conditions de voyage dans l'espace à long terme.

Impact du CUMS sur le microbiote intestinal murin

Pour ce qui concerne les souris soumises durant 21 jours au modèle CUMS, l'analyse des données de NGS montre que ce stress impacte significativement la β -diversité alors que l' α -diversité et la charge bactérienne intra-caecales ne semblent pas différer de celles observées chez les souris témoins (**Figure 16A**). L'impact sur les phylums se traduit par une augmentation de l'abondance relative (AR) des *Firmicutes* et une baisse de celle des *Bacteroidetes* (**Figure 16B**), associées à une augmentation du ratio *Firmicutes/Bacteroidetes*, résultat qui est en accord avec ceux observés pour d'autres types de stress [17].

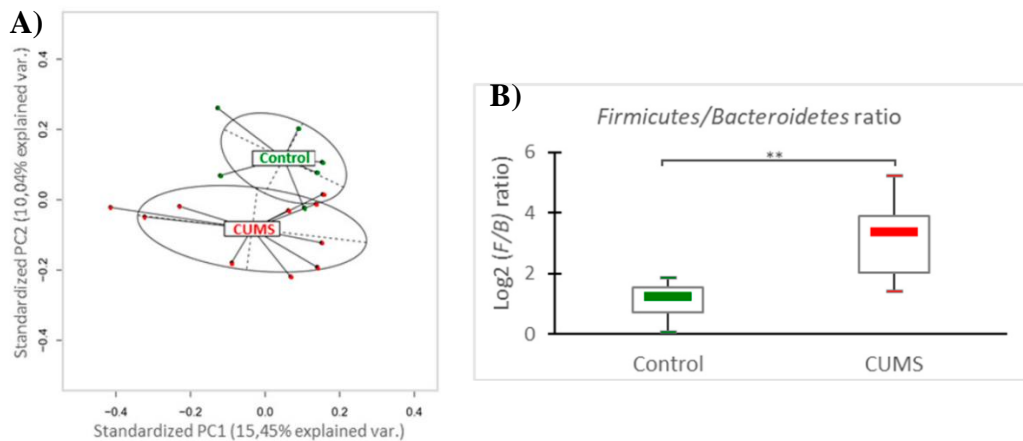


Figure 16. A) Analyse en composante principale décrivant la diversité intra-caecale de souris stressées (CUMS) vs. souris contrôles ($Pr_{(>F)} = 0.029$). B) Ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* du microbiote intra-caecal de souris soumises durant 21 jours à une combinaison de stress socio-environnementaux (10 souris CUMS et 10 souris témoins). Analyses statistiques : Mann-Whitney U test. * $p < 0,005$ [publication 53].

Le CUMS impacte de façon moins significative que l'hypergravité à 3G les espèces intestinales mais nous avons cependant à nouveau observé un impact du stress sur l'abondance relative au sein des *Bacteroidetes* avec une diminution significative des *Porphyromonadaceae/Tannerellaceae*, notamment des taxons tels que *Barnesiella* sp. et *P. distasonis*. Nos résultats ont été publiés dans *International Journal of Molecular Sciences* [publication 53].

Parabacteroides distasonis : du potentiel probiotique au pathogène opportuniste

Nos travaux ont permis d'identifier *Parabacteroides distasonis* comme l'une des espèces bactériennes du MI les plus négativement impactées lors d'un stress chronique aussi bien gravitaire que socio-environnemental. Ce taxon qui appartient à la famille des *Tannerellaceae*, est une bactérie anaérobie stricte à Gram négatif, commensale du MI humain et murin et faisant partie du *core microbiome*. De récentes études suggèrent que *P. distasonis* pourrait exercer des effets protecteurs contre des maladies, notamment la sclérose en plaques, le diabète de type II, le cancer colorectal et les maladies inflammatoires. Elle possède en effet une activité anti-inflammatoire via la suppression de la production de cytokines pro-inflammatoires ainsi que des propriétés

anticancéreuses via l'induction de l'apoptose de cellules cancéreuses [10,21,25-27]. Cette bactérie pourrait donc être utilisée comme potentiel nouveau produit biothérapeutique. Cependant, d'autres données décrivent *P. distasonis* comme un possible pathobionte pouvant être impliqué dans l'aggravation de colites ou l'aggravation des symptômes de la maladie de Charcot chez des souris [4,14]. Ce taxon semble donc présenter un rôle dichotomique selon le contexte, l'environnement et, très probablement, la souche. Or peu de données sont actuellement disponibles concernant les capacités de colonisation de cette espèce au sein de l'écosystème complexe qu'est l'intestin.

Nous nous sommes donc intéressés aux propriétés de surfaces de *P. distasonis* qui pourraient expliquer son maintien, ou sa disparition en cas de stress, au sein du MI. Pour cela, nous avons évalué les propriétés d'adhésion et de formation de biofilm de 14 souches non apparentées de *P. distasonis* en utilisant, pour la première fois sur une espèce anaérobie, la technique de lavage vapeur [50]. Nous avons également évalué les propriétés de surface de ces souches par micro-électrophorèse (mobilité électrophorétique, charge externe globale et perméabilité de surface), leur coefficient d'homo-agrégation ainsi que l'impact de plusieurs marqueurs de stress (adrénaline, noradrénaline, dopamine, cortisol et sérotonine) sur l'adhésion et sur la formation de biofilm. Nos premiers résultats ont mis en évidence que, dans les conditions testées, toutes les souches de *P. distasonis* ont été capable d'adhérer au support abiotique, avec l'une des souches cliniques (CS1) montrant une capacité d'adhésion aussi importante que celle du témoin positif *Lactobacillus rhamnosus* GG. Toutes les souches étudiées avaient également la capacité de former un biofilm avec cependant une variabilité dans l'organisation du biofilm. L'étude des propriétés électrocinétiques a permis d'obtenir une première image qualitative des marqueurs de surface bactérien. La mobilité électrophorétique de toutes les souches testées était négative et a atteint un plateau dans des conditions de forces ioniques suffisamment élevées (**Figure 17**). Ces valeurs reflètent la présence d'une couche chargée et perméable comme attendu pour une bactérie à Gram négatif. La souche clinique CS1, qui possède les propriétés d'adhésion les plus importantes, a montré une densité de charge de surface moins électronégative que les autres souches, comme observé pour le contrôle LGG. Ceci peut être expliqué par la présence d'exopolysaccharides et de pili à sa surface.

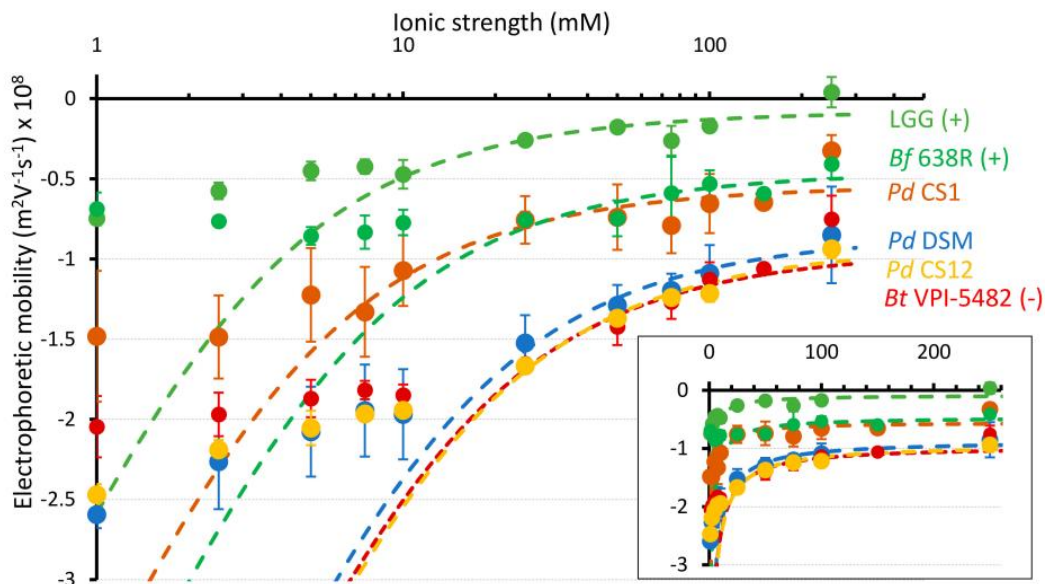


Figure 17. Profils de mobilité électrophorétique des souches de *P. distasonis* CS1, CS12 et DSM 20701^T ainsi que des contrôles *L. rhamnosus* GG, *B. fragilis* 638R et *B. thetaiotaomicron* VPI-5482. Points : données expérimentales. Pointillés : données fittées en utilisant la procédure standard de Levenberg-Marquardt. Encadré : représentation des données électrocinétiques selon un axe linéaire de concentration en électrolytes [publication 61].

Nos résultats ont enfin montré que toutes les molécules de stress testées, hormones et/ou neurotransmetteurs, peuvent réduire ou améliorer les capacités d'adhésion et de formation de biofilms de *P. distasonis*, selon la souche et la molécule testée. Ces résultats suggèrent la présence d'éléments de détection à la surface de la bactérie qui sont potentiellement activés/déclenchés par des molécules produites par l'hôte en conditions de stress. Ce travail a été publié dans *Microorganisms* [publication 61].

Les structures de surface cellulaire impliquées dans son interaction avec son hôte et pouvant expliquer son comportement bénéfique ou délétère ont ensuite été analysées *in silico*. Parmi ces structures se trouvent notamment la capsule, les fimbriae ou encore les pili. La classification RfbA [3], basée sur la séquence du gène *rfaA* impliqué dans la synthèse du lipopolysaccharide (LPS) des bactéries, a également été appliquée. Ces analyses *in silico* ont été effectuées sur 26 génomes complets de *P. distasonis* (13 génomes séquencés pour cette étude et 13 génomes publics). Deux types de fimbriae, trois de pili et 14 locus d'exopolysaccharides ont été identifiés mais aucun marqueur de surface cellulaire pouvant expliquer son caractère dichotomique n'a été mis en évidence (**Figure 18**). Ce travail a été publié dans *International Journal of Molecular Sciences* [publication 65]. La comparaison des structures de surface et des différents types de RfbA en fonction des souches, de leur comportement bénéfique ou délétère et du statut de leur hôte dont elles ont été isolées n'a pas permis d'identifier un ou plusieurs marqueurs de surface pouvant expliquer le comportement pathogène ou probiotique des souches de *P. distasonis*. Cependant, la présence/absence de certains marqueurs de surface couplée à l'organisation des loci/clusters et aux variations des séquences génétiques pourraient expliquer le comportement de *P. distasonis* très vraisemblablement souche-dépendant.

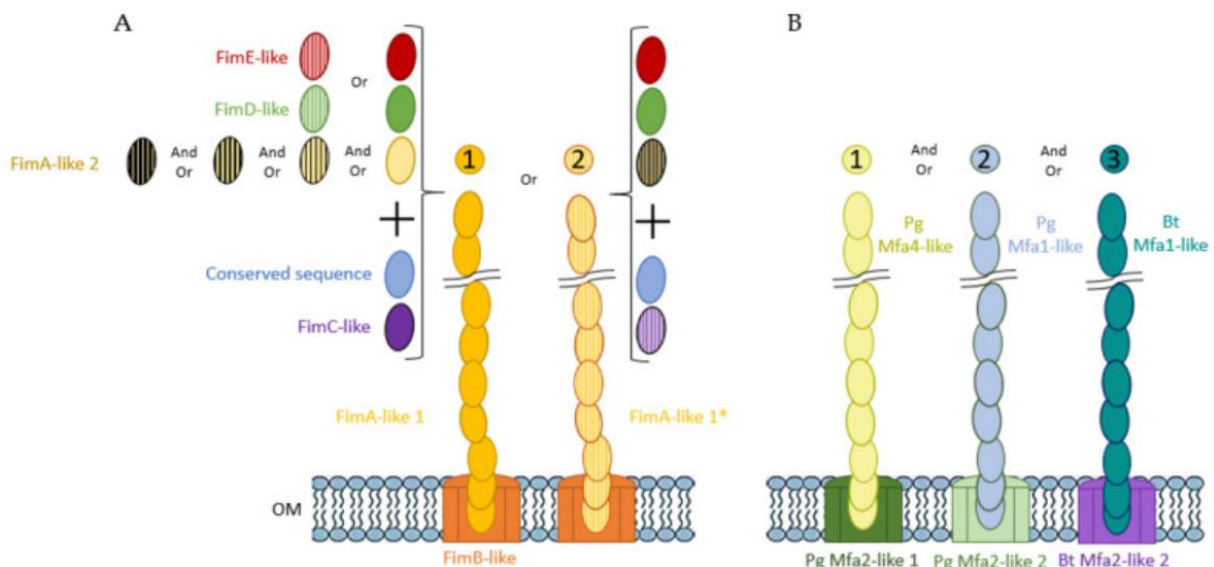


Figure 18. Représentation hypothétique A) des fimbriae du système Fim et B) des pili du système Mfa chez *Parabacteroides distasonis* [publication 65].

Les caractéristiques liées à la sélection d'un nouveau produit biothérapeutique (NPB) à partir d'un large panel de souches de *P. distasonis* ont ensuite été étudiées pour identifier un ou plusieurs candidats présentant des effets bénéfiques pour l'hôte pouvant être envisagés comme contre-mesure à la perte de cette espèce induite par le stress. La sélection de NPB tels que les probiotiques repose sur la validation de critères généraux et spécifiques. Les critères généraux portent sur la caractérisation phénotypique et génotypique, la non-pathogénicité, la résistance aux

conditions gastriques ainsi que l'implantation efficace de la souche dans l'intestin, tandis que les caractères spécifiques correspondent aux effets bénéfiques pour l'hôte [22].

La capacité de *P. distasonis* à coloniser l'intestin via l'étude des propriétés d'adhésion et de formation de biofilm sur support abiotique ayant été précédemment évaluée [publication 61], nous avons poursuivi nos travaux par l'étude des capacités d'adhérence sur support biotique, de résistance aux conditions gastriques, de renforcement de la barrière épithéliale et d'immunomodulation. L'effet immunomodulateur de *P. distasonis* a été examiné sur les modèles cellulaires eucaryotes HT-29 (barrière épithéliale) et PBMC (système immunitaire). Cette étude, couplée aux résultats obtenus dans nos précédents travaux, nous a permis de mettre en évidence cinq souches combinant 10 des 12 propriétés biothérapeutiques testées *in vitro*. Parmi ces souches, deux semblent particulièrement intéressantes en raison de leur forte capacité d'adhésion et de formation de biofilm, de leur effet anti-inflammatoire sur le modèle de cellules épithéliales stimulées par le LPS, et de leur faible effet pro-inflammatoire sur le modèle de cellules du système immunitaire. Cependant, leur utilisation nécessite de mieux définir les mécanismes sous-jacents à leurs interactions avec l'hôte, d'assurer leur survie jusqu'à la colonisation de leur site d'action et l'absence d'effets indésirables pour l'hôte. Ce travail a été publié dans *Nutrients* [publication 66].

Bilan des travaux des dix dernières années

Depuis la création de l'UR 7300 et la mise en route de ma nouvelle thématique de recherche, j'ai bénéficié de l'aide technique de Lisiane Cunat à partir de 2014. J'ai ensuite été rejointe dans cette thématique par Catherine Cailliez-Grimal en 2016, ce qui nous a permis d'avancer plus vite dans l'avancement et la valorisation des différents travaux en cours. Durant toutes ces années, nous avons accueilli et formé de nombreux étudiants qui ont participé aux différents travaux présentés.

Les résultats obtenus dans deux modèles de stress ont permis de **caractériser l'impact d'un stress chronique socio-environnemental seul (CUMS, hypergravité à 2G) ou associé à un stress mécanique (hypergravité à 3G) sur la composition du microbiote intestinal murin**. Ces connaissances peuvent être d'emblée utilisées pour envisager des **moyens préventifs** (probiotiques, lutte contre le stress, alimentation) de lutte contre la dysbiose à la fois chez les astronautes, mais également sur Terre où les individus sont soumis en permanence à des stress socio-environnementaux d'intensité plus ou moins importante.

Ces données ont également permis de mettre en lumière des **taxons d'intérêt** tel que *Barnesiella* sp. ou *P. distasonis*. La perte de *P. distasonis* induite par le stress nous a ensuite mené à nous intéresser aux propriétés de surface de ce taxon afin de mieux comprendre ses propriétés impliquées dans sa colonisation et son maintien au sein du microbiote intestinal. Ce travail a fait l'objet de la thèse d'Université de Jordan Chamarande que j'ai co-encadrée avec Catherine Cailliez-Grimal et pour laquelle nous avons obtenues une bourse LUE de l'Université de Lorraine. Il nous a permis d'approfondir les connaissances concernant cette espèce encore mal connue du *core microbiome* humain et murin et a confirmé que **seules certaines souches de *P. distasonis* semblent prometteuses en tant que NBP**. Cette utilisation pourrait être envisagée comme un moyen de lutter contre la perte de *P. distasonis* liée à un stress chronique. Il pourrait ainsi être envisagé de proposer une approche de supplémentation chez l'animal par l'administration dans nos modèles de stress soit de bactéries vivantes ou de la fraction d'intérêt identifiée.

En parallèle, mon intérêt à la fois clinique et fondamental concernant la problématique liée à la résistance aux antibiotiques m'a amenée à m'intéresser à la dissémination de cette résistance au sein

du microbiote intestinal et à l'éventuel effet d'un stress de l'hôte sur cette dissémination. Cette hypothèse est la base de mon projet de recherche présenté dans le chapitre suivant.

Bibliographie de la thématique de recherche expérimentale

1. Bailey MT. The effects of psychological stressors on the intestinal microbiota. *Bioscience Microflora*. 2009; 28:125-34.
2. Bailey MT, Dowd SE, Parry NM, Galley JD, Schauer DB, Lyte M. Stressor exposure disrupts commensal microbial populations in the intestines and leads to increased colonization by *Citrobacter rodentium*. *Infect Immun*. 2010 Apr;78(4):1509-19.
3. Bank NC, Singh V, Rodriguez-Palacios A. Classification of *Parabacteroides distasonis* and other Bacteroidetes using O-antigen virulence gene: RfbA-Typing and hypothesis for pathogenic vs. probiotic strain differentiation. *Gut Microbes*. 2022 Jan-Dec;14(1):1997293.
4. Blacher E, Bashiardes S, Shapiro H, Rothschild D, Mor U, Dori-Bachash M, Kleimeyer C, Moresi C, Harnik Y, Zur M, Zabari M, Brik RB, Kviatcovsky D, Zmora N, Cohen Y, Bar N, Levi I, Amar N, Mehlman T, Brandis A, Biton I, Kuperman Y, Tsoory M, Alfahel L, Harmelin A, Schwartz M, Israelson A, Arike L, Johansson MEV, Hansson GC, Gotkine M, Segal E, Elinav E. Potential roles of gut microbiome and metabolites in modulating ALS in mice. *Nature*. 2019 Aug;572(7770):474-480.
5. Bonnefoy J, Ghislin S, Beyrend J, Coste F, Calcagno G, Lartaud I, Gauquelin-Koch G, Poussier S, Fripiat JP. Gravitational Experimental Platform for Animal Models, a New Platform at ESA's Terrestrial Facilities to Study the Effects of Micro- and Hypergravity on Aquatic and Rodent Animal Models. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 15;22(6):2961.
6. Booiijink CC, Zoetendal EG, Kleerebezem M, de Vos WM. Microbial communities in the human small intestine: coupling diversity to metagenomics. *Future Microbiol*. 2007 Jun;2(3):285-95.
7. Cerf-Bensussan N, Gaboriau-Routhiau V. The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nat Rev Immunol*. 2010 Oct;10(10):735-44.
8. Collins SM, Bercik P. The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. *Gastroenterology*. 2009 May;136(6):2003-14.
9. Cryan JF, O'Mahony SM. The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behavior. *Neurogastroenterol Motil*. 2011 Mar;23(3):187-92.
10. Cuffaro B, Assouhoun ALW, Boutillier D, Súkeníková L, Desramaut J, Boudebouze S, Salomé-Desnoulez S, Hrdý J, Waligora-Dupriet AJ, Maguin E, Grangette C. In Vitro Characterization of Gut Microbiota-Derived Commensal Strains: Selection of *Parabacteroides distasonis* Strains Alleviating TNBS-Induced Colitis in Mice. *Cells*. 2020 Sep 16;9(9):2104.
11. Dethlefsen L, McFall-Ngai M, Relman DA. An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease. *Nature*. 2007 Oct 18;449(7164):811-8.
12. Dinan TG, Cryan JF. Gut-brain axis in 2016: Brain-gut-microbiota axis - mood, metabolism and behaviour. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017 Feb;14(2):69-70.
13. Dore J, G Corthier.. [The human intestinal microbiota]. *Gastroenterol Clin Biol*. 2010. 34 Suppl 1:S7-15.
14. Dziarski R, Park SY, Kashyap DR, Dowd SE, Gupta D. Pglyrp-Regulated Gut Microflora *Prevotella falsenii*, *Parabacteroides distasonis* and *Bacteroides eggerthii* Enhance and *Alistipes finegoldii* Attenuates Colitis in Mice. *PLoS One*. 2016 Jan 4;11(1):e0146162.
15. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005 Jun 10;308(5728):1635-8.
16. Fripiat JP, Crucian BE, de Quervain DJ, Grimm D, Montano N, Praun S, Roozendaal B, Schelling G, Thiel M, Ullrich O, Choukèr A. Towards human exploration of space: The THESEUS review series on immunology research priorities. *NPJ Microgravity*. 2016 Dec 1;2:16040.
17. Galley JD, Nelson MC, Yu Z, Dowd SE, Walter J, Kumar PS, Lyte M, Bailey MT. Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota. *BMC Microbiol*. 2014 Jul 15;14:189.
18. Gareau MG, Jury J, MacQueen G, Sherman PM, Perdue MH. Probiotic treatment of rat pups normalises corticosterone release and ameliorates colonic dysfunction induced by maternal separation. *Gut*. 2007 Nov;56(11):1522-8.
19. Godbout JP, Glaser R. Stress-induced immune dysregulation: implications for wound healing, infectious disease and cancer. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2006 Dec;1(4):421-7.
20. Guéguinou N, Bojados M, Jamon M, Derradji H, Baatout S, Tschirhart E, Fripiat JP, Legrand-Frossi C. Stress response and humoral immune system alterations related to chronic hypergravity in mice. *Psychoneuroendocrinology*. 2012 Jan;37(1):137-47.
21. Hiippala K, Kainulainen V, Suutarinen M, Heini T, Bowers JR, Jasso-Selles D, Lemmer D, Valentine M, Barnes R, Engelthaler DM, Satokari R. Isolation of Anti-Inflammatory and Epithelium Reinforcing *Bacteroides* and *Parabacteroides* Spp. from A Healthy Fecal Donor. *Nutrients*. 2020 Mar 27;12(4):935.
22. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014 Aug;11(8):506-14.
23. Horneck G, Klaus DM, Mancinelli RL. Space microbiology. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010 Mar;74(1):121-56.

24. Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The Integrative Human Microbiome Project. *Nature*. 2019 May;569(7758):641-648.
25. Koh GY, Kane A, Lee K, Xu Q, Wu X, Roper J, Mason JB, Crott JW. *Parabacteroides distasonis* attenuates toll-like receptor 4 signaling and Akt activation and blocks colon tumor formation in high-fat diet-fed azoxymethane-treated mice. *Int J Cancer*. 2018 Oct 1;143(7):1797-1805.
26. Koh GY, Kane AV, Wu X, Crott JW. *Parabacteroides distasonis* attenuates tumorigenesis, modulates inflammatory markers and promotes intestinal barrier integrity in azoxymethane-treated A/J mice. *Carcinogenesis*. 2020 Jul 14;41(7):909-917.
27. Kverka M, Zakostelska Z, Klimesova K, Sokol D, Hudcovic T, Hrcir T, Rossmann P, Mrazek J, Kopecky J, Verdu EF, Tlaskalova-Hogenova H. Oral administration of *Parabacteroides distasonis* antigens attenuates experimental murine colitis through modulation of immunity and microbiota composition. *Clin Exp Immunol*. 2011 Feb;163(2):250-9.
28. Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, Schlegel ML, Tucker TA, Schrenzel MD, Knight R, Gordon JI. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*. 2008 Jun 20;320(5883):1647-51.
29. Lupp C, M. L. Robertson, M. E. Wickham, I. Sekirov, O. L. Champion, E. C. Gaynor, and B. B. Finlay. 2007. Host-mediated inflammation disrupts the intestinal microbiota and promotes the overgrowth of Enterobacteriaceae. *Cell Host Microbe* 2:119-29.
30. Lyte M, Vulchanova L, Brown DR. Stress at the intestinal surface: catecholamines and mucosa-bacteria interactions. *Cell Tissue Res*. 2011 Jan;343(1):23-32.
31. McOrist AL, Jackson M, Bird AR. A comparison of five methods for extraction of bacterial DNA from human faecal samples. *J Microbiol Methods*. 2002 Jul;50(2):131-9.
32. Merlin C, Bonot S, Courtois S, Block JC. Persistence and dissemination of the multiple-antibiotic-resistance plasmid pB10 in the microbial communities of wastewater sludge microcosms. *Water Res*. 2011 Apr;45(9):2897-905.
33. Miquel S, Martín R, Rossi O, Bermúdez-Humarán LG, Chatel JM, Sokol H, Thomas M, Wells JM, Langella P. *Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health. *Curr Opin Microbiol*. 2013 Jun;16(3):255-61.
34. Morgan JL, Darling AE, Eisen JA. Metagenomic sequencing of an in vitro-simulated microbial community. *PLoS One*. 2010 Apr 16;5(4):e10209.
35. O'Mahony SM, Hyland NP, Dinan TG, Cryan JF. Maternal separation as a model of brain-gut axis dysfunction. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011 Mar;214(1):71-88.
36. O'Mahony SM, Marchesi JR, Scully P, Codling C, Ceolho AM, Quigley EM, Cryan JF, Dinan TG. Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biol Psychiatry*. 2009 Feb 1;65(3):263-7.
37. Ott CM, Crabbé A, Wilson JW, Barrila J, Castro SL, Nickerson CA. Microbial stress: spaceflight-induced alterations in microbial virulence and infectious disease risks for the crew. p. 203-25. In: A. Choukèr (ed.), *Stress challenges and immunity in space*. 2012. Springer BerlinHeidelberg.
38. Pardon MC, Pérez-Díaz F, Joubert C, Cohen-Salmon C. Influence of a chronic ultramild stress procedure on decision-making in mice. *J Psychiatry Neurosci*. 2000 Mar;25(2):167-77.
39. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan M, Batto JM, Hansen T, Le Paslier D, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J; MetaHIT Consortium; Bork P, Ehrlich SD, Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010 Mar 4;464(7285):59-65.
40. Rhee SH, Pothoulakis C, Mayer EA. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2009 May;6(5):306-14.
41. Ritchie LE, Taddeo SS, Weeks BR, Lima F, Bloomfield SA, Azcarate-Peril MA, Zwart SR, Smith SM, Turner ND. Space Environmental Factor Impacts upon Murine Colon Microbiota and Mucosal Homeostasis. *PLoS One*. 2015 Jun 17;10(6):e0125792.
42. Salonen A, Nikkilä J, Jalanka-Tuovinen J, Immonen O, Rajilić-Stojanović M, Kekkonen RA, Palva A, de Vos WM. Comparative analysis of fecal DNA extraction methods with phylogenetic microarray: effective recovery of bacterial and archaeal DNA using mechanical cell lysis. *J Microbiol Methods*. 2010 May;81(2):127-34.
43. Salyers AA, Gupta A, Wang Y. Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends Microbiol*. 2004 Sep;12(9):412-6.
44. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*. 2010 Jul;90(3):859-904.
45. Seksik P. [Gut microbiota and IBD]. *Gastroenterol Clin Biol*. 2010. 34 Suppl 1:S44-51.
46. Sharon I, Quijada NM, Pasolli E, Fabbrini M, Vitali F, Agamennone V, Dötsch A, Selberherr E, Grau JH, Meixner M, Liere K, Ercolini D, de Filippo C, Caderni G, Brigidi P, Turrone S. The Core Human Microbiome: Does It Exist and How Can We Find It? A Critical Review of the Concept. *Nutrients*. 2022 Jul 13;14(14):2872.
47. Shi J, Wang Y, He J, Li P, Jin R, Wang K, Xu X, Hao J, Zhang Y, Liu H, Chen X, Wu H, Ge Q. Intestinal microbiota contributes to colonic epithelial changes in simulated microgravity mouse model. *FASEB J*. 2017 Aug;31(8):3695-3709.
48. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, Blugeon S, Bridonneau C, Furet JP, Corthier G, Grangette C, Vasquez N, Pochart P, Trugnan G, Thomas G, Blottière HM, Doré J, Marteau P, Seksik P, Langella P. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Oct 28;105(43):16731-6.
49. Tang JN, Zeng ZG, Wang HN, Yang T, Zhang PJ, Li YL, Zhang AY, Fan WQ, Zhang Y, Yang X, Zhao SJ, Tian GB, Zou LK. An effective method for isolation of DNA from pig

- faeces and comparison of five different methods. *J Microbiol Methods*. 2008 Dec;75(3):432-6.
50. Tasse J, Cara A, Saglio M, Villet R, Laurent F. A steam-based method to investigate biofilm. *Sci Rep*. 2018 Aug 29;8(1):13040.
51. Wang M, Ahrné S, Jeppsson B, Molin G. Comparison of bacterial diversity along the human intestinal tract by direct cloning and sequencing of 16S rRNA genes. *FEMS Microbiol Ecol*. 2005 Oct 1;54(2):219-31.

LISTE DES PUBLICATIONS

Dans la liste suivante, mon nom apparaît en gras et souligné. Les noms des étudiants que j'ai encadrés sont soulignés.

Publications internationales

- Publication 1** Mory F., Carlier J. P., **Alauzet C.**, Thouvenin M., Schuhmacher H., Lozniewski A. **2005**. Bacteremia caused by a metronidazole-resistant *Prevotella* sp. strain. *J. Clin. Microbiol.* 43:5380-5383.
- Publication 2** Hadou T, Elfarra M., **Alauzet C.**, Guinet F., Lozniewski A., Lion C. **2006**. Abdominal aortic aneurysm infected by *Yersinia pseudotuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.* 44:3457-3458.
- Publication 3** Gibot S., **Alauzet C.**, Massin F., Sennoune N., Faure G. C., Béné M. C., Lozniewski A., Bollaert P. E., Levy B. **2006**. Modulation of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 pathway during pneumonia in rats. *J. Infect. Dis.* 194:975-983.
- Publication 4** **Alauzet C.**, Mory F., Carlier J. P., Marchandin H., Jumas-Bilak E., Lozniewski A. **2007**. *Prevotella nanceiensis* sp. nov., isolated from human clinical samples. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57:2216-2220.
- Publication 5** Gibot S., Massin F., **Alauzet C.**, Montemont C., Lozniewski A, Bollaert P. E., Levy B. **2008**. Effects of the TREM-1 pathway modulation during mesenteric ischemia-reperfusion in rats. *Crit. Care Med.* 36:504-510.
- Publication 6** Mory F., **Alauzet C.**, Matuzeswki C., Riegel P., Lozniewski A. **2009**. Evaluation of the new Vitek2 ANC card for identification of medically relevant anaerobic bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 47:1923-1926.
- Publication 7** Gibot S., Massin F., **Alauzet C.**, Derive M., Montemont C., Collin S., Fremont S., Levy B. **2009**. Effects of the TREM-1 pathway modulation during hemorrhagic shock in rats. *Shock.* 32:633-637.
- Publication 8** Cinquetti G., Banal F., Dupuy A. L., Girault P. Y., Couderc A., Guyot P., **Alauzet C.**, Oddoux O., Ragot C., Puyhardy J. M., Graffin B., Veran Y. **2009**. Three related cases of cutaneous anthrax in France: clinical and laboratory aspects. *Medicine (Baltimore).* 88:371-375.
- Publication 9** Carlier J. P., Bedora-Faure M., K'ouas G., **Alauzet C.**, Mory F. **2010**. Proposal to unify *Clostridium orbiscindens* Winter et al. 1991 and *Eubacterium plautii* (Seguin 1928) Hofstad & Aasjord 1982 with description of *Flavonifractor plautii* gen. nov. comb. nov. and reassignment of *Bacteroides capillosus* to *Pseudoflavonifractor capillosus* gen. nov. comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60:585-590.
- Publication 10** **Alauzet C.**, Mory F., Teyssier C., Hallage H., Carlier J. P., Grollier G., Lozniewski A. **2010**. Metronidazole resistance in *Prevotella* spp. and description of a new *nim* gene in *Prevotella baroniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54:60-64.

- Publication 11** Cholley P., Hocquet D., Alauzet C., Dehecq B., Cravoisy A., Thouverez M., Talon D., Aissa N., Plesiat P., Bertrand X. **2010**. Hospital outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* producing extended-spectrum oxacillinase OXA-19. *J. Med. Microbiol.* 59(7):866-869.
- Publication 12** Alauzet C., Teyssier C., Jumas-Bilak E., Gouby A., Chiron R., Rabaud C., Counil F., Lozniewski A., Marchandin H. **2010**. *Gluconobacter* as well as *Asaia* species, newly emerging human opportunistic pathogens among acetic acid bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 48(11):3935-3942.
- Publication 13** Alauzet C., Marchandin H., Lozniewski A. **2010**. New insights into *Prevotella* diversity and medical microbiology. *Future Microbiol.* 5:1695-1718.
- Publication 14** Kiefer T, Park L, Tribouilloy C, Cortes C, Casillo R, Chu V, Delahaye F, Durante-Mangoni E, Edathodu J, Falces C, Logar M, Miró JM, Naber C, Tripodi MF, Murdoch DR, Moreillon P, Utili R, Wang A.W.; ICE-PCS Investigators. **2011**. Association between valvular surgery and mortality among patients with infective endocarditis complicated by heart failure. *JAMA.* 306(20):2239-2247.
- Publication 15** Derive M., Bouazza Y., Alauzet C., Gibot S. **2012**. Myeloid-derived suppressor cells controls microbial sepsis. *Intens. Care Med.* 38:1040-1049.
- Publication 16** Athan E., Chu V.H., Tattevin P., Selton-Suty C., Jones P., Naber C., Miró J.M., Ninot S., Fernández-Hidalgo N., Durante-Mangoni E., Spelman D., Hoen B., Lejko-Zupanc T., Cecchi E., Thuny F., Hannan M.M., Pappas P., Henry M., Fowler V.G. Jr, Crowley A.L., Wang A.; ICE-PCS Investigators. **2012**. Clinical characteristics and outcome of infective endocarditis involving implantable cardiac devices. *JAMA.* 307(16):1727-1735.
- Publication 17** Derive M., Bouazza Y., Sennoun N., Marchioni S., Quigley L., Washington V., Massin F., Max J.P., Ford J., Alauzet C., Levy B., McVicar D.W., Gibot S. **2012**. Soluble TREM-like transcript-1 regulates leukocytes activation and controls microbial sepsis. *J. Immunol.* 188(11):5585-5592.
- Publication 18** Derive M., Boufenzler A., Bouazza Y., Groubatch F., Alauzet C., Barraud D., Lozniewski A., Leroy P., Tran N., Gibot S. **2013**. Effect of a TREM-like transcript 1-derived peptide during hypodynamic septic shock in pigs. *Shock* 39(2):176-182.
- Publication 19** Berger S., Alauzet C., Aissa N., Hénard S., Rabaud C., Bonnet R., Lozniewski A. **2013**. Characterization of a new *bla_{OXA-48}*-carrying plasmid in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 57(8):4064-4067.
- Publication 20** Ferrand J., Hadou T., Selton-Suty C., Goehringer F., Sadoul N., Alauzet C., Lozniewski A. **2013**. Cardiac device-related endocarditis caused by *Paenibacillus glucanolyticus*. *J. Clin. Microbiol.* 51(10):3439-3442.
- Publication 21** Barsic B., Dickerman S., Krajcinovic V., Pappas P., Altclas J., Carosi G., Casabé J.H., Chu V.H., Delahaye F., Edathodu J., Fortes C.Q., Olaison L., Pangercic A., Patel M., Rudez I., Tamin S.S., Vincelj J., Bayer A.S., Wang A.; International Collaboration on Endocarditis–Prospective Cohort Study Investigators. **2013**. Influence of the timing of cardiac surgery on the outcome of patients with infective endocarditis and stroke. *Clin. Infect. Dis.* 56(2):209-217.

- Publication 22** Chirouze C., Athan E., Alla F., Chu V. H., Ralph Corey G., Selton-Suty C., Erpelding M. L., Miro J. M., Olaison L., Hoen B.; **International Collaboration on Endocarditis Study Group**. 2013. Enterococcal endocarditis in the beginning of the 21st century: analysis from the International Collaboration on Endocarditis-Pro prospective Cohort Study. *Clin. Microbiol. Infect.* 19(12):1140-1147.
- Publication 23** Chambers S. T., Murdoch D., Morris A., Holland D., Pappas P., Almela M., Fernández-Hidalgo N., Almirante B., Bouza E., Forno D., del Rio A., Hannan M. M., Harkness J., Kanafani Z. A., Lalani T., Lang S., Raymond N., Read K., Vinogradova T., Woods C. W., Wray D., Corey G. R., Chu V. H.; **International Collaboration on Endocarditis-Pro prospective Cohort Study Investigators**. 2013. HACEK infective endocarditis: characteristics and outcomes from a large, multi-national cohort. *PLoS One* 8(5):e63181.
- Publication 24** Lalani T., Chu V. H., Park L. P., Cecchi E., Corey G. R., Durante-Mangoni E., Fowler V. G. Jr, Gordon D., Grossi P., Hannan M., Hoen B., Muñoz P., Rizk H., Kanj S. S., Selton-Suty C., Sexton D. J., Spelman D., Ravasio V., Tripodi M. F., Wang A.; **International Collaboration on Endocarditis-Pro prospective Cohort Study Investigators**. 2013. In-hospital and 1-year mortality in patients undergoing early surgery for prosthetic valve endocarditis. *JAMA Intern. Med.* 173(16):1495-1504.
- Publication 25** **Alauzet C.**, Marchandin H., Courtin P., Mory F., Lemée L., Pons J. L., Chapot-Chartier M. P., Lozniewski A., Jumas-Bilak E. 2014. Multilocus analysis reveals diversity in the genus *Tissierella*: description of *Tissierella carlieri* sp. nov. in the new class *Tissierellia* classis nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 37(1):23-34.
- Publication 26** **Ferrand J., Patron K., Legrand-Frossi C., Frippiat J. P., Merlin C., Lozniewski A.* , Alauzet C.*** 2014. Comparison of seven methods for extraction of bacterial DNA from fecal and cecal samples of mice. *J. Microbiol. Methods* 105:180-185.
- Publication 27** Delahaye F., Chu V. H., Altclas J., Barsic B., Delahaye A., Freiburger T., Gordon D. L., Hannan M. M., Hoen B., Kanj S. S., Lejko-Zupanc T., Mestres C. A., Pachirat O., Pappas P., Lamas C., Selton-Suty C., Tan R., Tattevin P., Wang A.; **International Collaboration on Endocarditis Prospective Cohort Study (ICE-PCS) Investigators**. 2015. One-year outcome following biological or mechanical valve replacement for infective endocarditis. *Int. J. Cardiol.* 178:117-123.
- Publication 28** Chirouze C., Alla F., Fowler V. G. Jr, Sexton D. J., Corey G. R., Chu V. H., Wang A., Erpelding M. L., Durante-Mangoni E., Fernández-Hidalgo N., Giannitsioti E., Hannan M. M., Lejko-Zupanc T., Miró J. M., Muñoz P., Murdoch D. R., Tattevin P., Tribouilloy C., Hoen B.; **ICE Prospective Investigators**. 2015. Impact of early valve surgery on outcome of *Staphylococcus aureus* prosthetic valve infective endocarditis: analysis in the International Collaboration of Endocarditis-Pro prospective Cohort Study. *Clin. Infect. Dis.* 60(5):741-749.
- Publication 29** Guillard T., Lebreil A. L., Hansen L. H., Kisserly A., Berger S., Lozniewski A., **Alauzet C.**, de Champs C. 2015. Discrimination between native and Tn6010-associated *oqxAB* in *Klebsiella* spp., *Raoultella* spp., and other *Enterobacteriaceae* by using a two-step strategy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 59(9):5838-5840.
- Publication 30** Risse J., Settembre N., Mandry D., Benayad H., Lemarié C., **Alauzet C.**, Zuily S.,

Bertaux A., Malikov S., Claudon M., Wahl D. **2015**. Infected abdominal aortic aneurysm attributable to *Haemophilus influenzae*: rapid changes of imaging findings. *Circulation* 132(7):613-615.

- Publication 31** Baux E., Hénard S., Alauzet C., Goehringer F., Laurain C., Champigneulle J., Vaillant P., Hardy A., Rabaud C., May T. **2015**. AA-type amyloidosis secondary to Multi-Drug Resistant pulmonary tuberculosis: implications for therapy. *Rev. Pneumol. Clin.* 71(5):297-300.
- Publication 32** Arnold C.J., Johnson M., Bayer A.S., Bradley S., Giannitsioti E., Miró J.M., Tornos P., Tattevin P., Strahilevitz J., Spelman D., Athan E., Nacinovich F., Fortes C.Q., Lamas C., Barsic B., Fernández-Hidalgo N., Muñoz P., and Chu, V.H. for the ICE Investigators. **2015**. *Candida* infective endocarditis: an observational cohort study with a focus on therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 59(4):2365-73.
- Publication 33** Ferrand J., Hochard H., Girard V., Aissa N., Bogard B., Alauzet C., Lozniewski A. **2016**. Comparison of Vitek MS and MALDI Biotyper for identification of *Actinomycetaceae* of clinical importance. *J. Clin. Microbiol.* 54(3):782-784.
- Publication 34** Selton-Suty C., Delahaye F., Tattevin P., Federspiel C., Le Moing V., Chirouze C., Nazeyrollas P., Vernet-Garnier V., Bernard Y., Chocron S., Obadia J.F., Alla F., Hoen B., Duval X., AEPEI (Association pour l'Etude et la Prévention de l'Endocardite Infectieuse). **2016**. Symptomatic and asymptomatic neurological complications of infective endocarditis: impact on surgical management and prognosis. *PLoS One*. 11(7):e0158522.
- Publication 35** Park L. P., Chu V.H., Peterson G., Skoutelis A., Lejko-Zupa T., Bouza E., Tattevin P., Habib G., Tan R., Gonzalez J., Altclas J., Edathodu J., Fortes C.Q., Siciliano R. F., Pachirat O., Kanj S., Wang A., International Collaboration on Endocarditis (ICE) Investigators. **2016**. Validated risk score for predicting 6-month mortality in infective endocarditis. *J Am Heart Assoc*, 5(4), e003016.
- Publication 36** Gaci R., Alauzet C., Selton-Suty C., Lozniewski A., Pulcini C., May T., Goehringer F. **2016**. *Francisella tularensis* endocarditis: 2 cases and literature review. *Infect Dis (Lond)*, 49(2):128-131.
- Publication 37** Alauzet C., Berger S., Jean-Pierre H., Dubreuil L., Jumas-Bilak E., Lozniewski A., Marchandin H. **2017**. *nimH*, a novel nitroimidazole resistance gene contributing to metronidazole resistance in *Bacteroides fragilis*. *J. Antimicrob. Chemother.* 72(9):2673-2675.
- Publication 38** Selton-Suty C., Maigrat C.H., Devignes J., Goehringer F., Erpelding M.L., Alla F., Thivilier C., Huttin O., Venner C., Juilliere Y., Doco-Lecompte T., Lecompte T.; Endocarditis Team of the University Hospital of Nancy, France. **2018**. Possible relationship between antiphospholipid antibodies and embolic events in infective endocarditis. *Heart*. 104(6):509-516.
- Publication 39** Ferrand J., Bonnet I., Alauzet C., Lozniewski A. **2018**. Evaluation of the Vitek MS and the MALDI Biotyper systems for the identification of less commonly isolated but clinically relevant anaerobes and facultative anaerobes. *Anaerobe*. 54:210-216.

- Publication 40** Diallo K., Ferrand J., Goehringer F., Selton-Suty C., Folliguet T., Alauzet C., Lozniewski A. **2018**. The brief case: an unusual cause of infective endocarditis after a urological procedure. *J Clin Microbiol.* 56(7). pii: e01400-17.
- Publication 41** Diallo K., Ferrand J., Goehringer F., Selton-Suty C., Folliguet T., Alauzet C., Lozniewski A. **2018**. Closing the brief case: an unusual cause of infective endocarditis after a urological procedure. *J Clin Microbiol.* 56(7). pii: e01400-17.
- Publication 42** Laroye C., Lemarié J., Boufenzler A., Labroca P., Cunat L., Alauzet C., Groubatch F., Cailac C., Jolly L., Bensoussan D., Reppel L., Gibot S. **2018**. Clinical-grade mesenchymal stem cells derived from umbilical cord improve septic shock in pigs. *Intensive Care Med Exp.* 6(1):24.
- Publication 43** Alauzet C., Aujoulat F., Lozniewski A., Marchandin H. **2019**. A sequence database analysis of 5-nitroimidazole reductase and related proteins to expand knowledge on enzymes responsible for metronidazole inactivation. *Anaerobe.* 55:29-34.
- Publication 44** Alauzet C., Lozniewski A., Marchandin H. **2019**. Metronidazole resistance and *nim* genes in anaerobes: A review. *Anaerobe.* 55:40-53.
- Publication 45** Diallo K., Jacquet C., Alauzet C., Beguinot I., May T., Selton-Suty C., Hoen B., Goehringer F. **2019**. A case report of Guillain Barré syndrome revealing underlying infective endocarditis due to *Cardiobacterium hominis*. *Medicine (Baltimore).* 98(15):e15014.
- Publication 46** Soeiro C., Quilici I.R., Legoff A., Oussalah M.B., Morin M., Alauzet C., Charmillon A. **2019**. Hepatic abscess due to *Dialister pneumosintes* - A case report. *Anaerobe.* 59:35-37.
- Publication 47** Laroye C., Boufenzler A., Jolly L., Cunat L., Alauzet C., Merlin J.L., Yguel C., Bensoussan D., Reppel L., Gibot S. **2019**. Bone marrow vs Wharton's jelly mesenchymal stem cells in experimental sepsis: a comparative study. *Stem Cell Res Ther.* 10(1):192.
- Publication 48** Alauzet C., Cunat L., Wack M., Lozniewski A., Busby H., Agrinier N., Cailliez-Grimal C., Frippiat J.P. **2019**. Hypergravity disrupts murine intestinal microbiota. *Sci Rep.* 9(1):9410.
- Publication 49** Jacquot A., Luyt C.E., Kimmoun A., Levy B., Baux E.; Fluvalentine Study group. **2019**. Epidemiology of post-influenza bacterial pneumonia due to Pantone-Valentine leucocidin positive *Staphylococcus aureus* in intensive care units: a retrospective nationwide study. *Intensive Care Med.* 45(9):1312-1314.
- Publication 50** Fosbøl E.L., Park L.P., Chu V.H., Athan E., Delahaye F., Freiburger T., Lamas C., Miro J.M., Strahilevitz J., Tribouilloy C., Durante-Mangoni E., Pericas J.M., Fernández-Hidalgo N., Nacinovich F., Rizk H., Barsic B., Giannitsioti E., Hurley J.P., Hannan M.M., Wang A.; ICE-PLUS Investigators. **2019**. The association between vegetation size and surgical treatment on 6-month mortality in left-sided infective endocarditis. *Eur Heart J.* 40(27):2243-2251.
- Publication 51** Dubar M., Frippiat J.P., Remen T., Boufenzler A., Alauzet C., Baumann C., Gibot S., Bisson C. **2020**. Comparison of sTREM-1 and associated periodontal and

bacterial factors before/after periodontal therapy, and impact of psychosocial factors. *J Clin Periodontol.* 47(9):1064-1078.

- Publication 52** Dubar M., Clerc-Urmes I., Baumann C., Clément C., Alauzet C., Bisson C. **2020**. Relations of psychosocial factors and cortisol with periodontal and bacterial parameters: A prospective clinical study in 30 patients with periodontitis before and after non-surgical treatment. *Int J Environ Res Public Health.* 17(20):7651.
- Publication 53** Alauzet C., Cunat L, Wack M, Lanfumey L, Legrand-Frossi C, Lozniewski A, Agrinier N, Cailliez-Grimal C, Fripiat JP. **2020**. Impact of a Model Used to Simulate Chronic Socio-Environmental Stressors Encountered during Spaceflight on Murine Intestinal Microbiota. *Int J Mol Sci.* 21(21):E7863.
- Publication 54** Muggeo A., Alauzet C., Hartard C., Goury A., Schvoerer E., Andreoletti L., Guillard T. **2020**. Co-detection of SARS-CoV-2 and other respiratory pathogens: Lessons from the field to face the second wave. *J Clin Virol.* 133:104658.
- Publication 55** Pericàs J.M., Llopis J., Jiménez-Exposito M.J., Kourany W.M., Almirante B., Carosi G., Durante-Mangoni E., Fortes C.Q., Giannitsioti E., Lerakis S., Montagna-Mella R., Ambrosioni J., Tan R.S., Mestres C.A., Wray D., Pachirat O., Moreno A., Chu V.H., de Lazzari E., Fowler V.G. Jr, Miró J.M.; ICE Investigators. **2021**. Infective Endocarditis in Patients on Chronic Hemodialysis. *J Am Coll Cardiol.*77(13):1629-1640.
- Publication 56** Lecorche E., Daniau C., La K., Mougari F., Benmansour H., Kumanski S., Robert J., Fournier S., Lebreton G., Carbonne A., Cambau E.; CNR-MyRMA. **2021**. *Mycobacterium chimaera* Genomics With Regard to Epidemiological and Clinical Investigations Conducted for an Open Chest Postsurgical *Mycobacterium chimaera* Infection Outbreak. *Open Forum Infect Dis.* 8(6):ofab192.
- Publication 57** Alauzet C., Aujoulat F., Lozniewski A., Ben Brahim S., Domenjod C., Enault C., Lavigne J.P., Marchandin H. **2021**. A New Look at the Genus *Solobacterium*: A Retrospective Analysis of Twenty-Seven Cases of Infection Involving *S. moorei* and a Review of Sequence Databases and the Literature. *Microorganisms.* 9(6):1229.
- Publication 58** Novy E., Goury A., Thivilier C., Guillard T., Alauzet C. **2021**. Algorithm for rational use of Film Array Pneumonia Panel in bacterial coinfections of critically ill ventilated COVID-19 patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 101(3):115507.
- Publication 59** Lefèvre B., Hoen B., Goehringer F., Sime W.N., Aissa N., Alauzet C., Jeanmaire E., Hénard S., Filippetti L., Selton-Suty C., Agrinier N.; for AEPEI study group (Association pour l'Etude et la Prévention de l'Endocardite Infectieuse). **2021**. Antistaphylococcal penicillins vs. cefazolin in the treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infective endocarditis: a quasi-experimental monocentre study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 40(12):2605-2616.
- Publication 60** Lagneaux A.S., Hénard S., Diancourt L., Stein E., Perez P., Mathieu P., Alauzet C., Lozniewski A. **2021**. *Clostridium haemolyticum* Infection: A Cause of Hemolytic Anemia in a Patient with Bone Marrow Necrosis. *Microorganisms.* 9(8):1568.
- Publication 61** Chamarande J., Cunat L., Caillet C., Mathieu L., Duval J.F.L., Lozniewski A.,

Frippiat J.P., Alauzet C., Cailliez-Grimal C. **2021**. Surface Properties of *Parabacteroides distasonis* and Impacts of Stress-Induced Molecules on Its Surface Adhesion and Biofilm Formation Capacities. *Microorganisms*. 9(8):1602.

- Publication 62** Bouchez V., Guillot S., Landier A., Armatys N., Matczak S.; French pertussis microbiology study group, Toubiana J., Brisse S. **2021**. Evolution of *Bordetella pertussis* over a 23-year period in France, 1996 to 2018. *Euro Surveill*. 26(37):2001213.
- Publication 63** Tinévez C., Velardo F., Ranc A.G., Dubois D., Pailhoriès H., Codde C., Join-Lambert O., Gras E., Corvec S., Neuwirth C., Melenotte C., Dorel M., Lagneaux A.S., Pichon M., Doat V., Fournier D., Lemaigen A., Bouard L., Patoz P., Hery-Arnaud G., Lemaitre N., Couzigou C., Guillard T., Recalt E., Bille E., Belaroussi Y., Neau D., Cazanave C., Lehours P., Puges M.; Campylobacteremia study group. **2022**. Retrospective Multicentric Study on *Campylobacter* spp. Bacteremia in France: The Campylobacteremia Study. *Clin Infect Dis*. 10;75(4):702-709.
- Publication 64** Kherabi Y., Fréchet-Jachym M., Rioux C., Yazdanpanah Y., Méchaï F., Pourcher V., Robert J., Guglielmetti L.; MDR-TB Management Group. **2022**. Revised Definitions of Tuberculosis Resistance and Treatment Outcomes, France, 2006-2019. *Emerg Infect Dis*. 28(9):1796-1804.
- Publication 65** Chamarande J., Cunat L., Alauzet C., Cailliez-Grimal C. **2022**. *In Silico* Study of Cell Surface Structures of *Parabacteroides distasonis* Involved in Its Maintenance within the Gut Microbiota. *Int J Mol Sci*. 23(16):9411.
- Publication 66** Chamarande J., Cunat L., Pavlov N., Alauzet C., Cailliez-Grimal C. **2022**. *Parabacteroides distasonis* Properties Linked to the Selection of New Biotherapeutics. *Nutrients*. 14(19):4176.
- Publication 67** Plainvert C., Varon E., Viriot D., Kempf M.; French Regional Pneumococcal Observatories (ORP) network. **2022**. Invasive pneumococcal infections in France: Changes from 2009 to 2021 in antibiotic resistance and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* based on data from the French Regional Pneumococcal Observatories network. *Infect Dis Now*. 12:S2666-9919(22)00270-6.
- Publication 68** Pereyre S., Laurier-Nadalié C., Le Roy C., Guiraud J., Dolzy A., Hénin N., Gardette M., Bébéar C.; investigator group. **2022**. Prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in metropolitan and overseas France. *Sex Transm Infect*. 5:sextrans-2022-055466.
- Publication 69** Nicolau-Guillaumet N., Muggeo A., Moussalih S., de Champs C., Lozniewski A., Alauzet C., Guillard T. **2022**. An upgraded version of carbapenem inactivation method to detect *Bacteroides fragilis* carbapenemase. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 105(2):115857.
- Publication 70** Farfour E., d'Epenoux L.R., Muggeo A., Alauzet C., Crémet L., Moussalih S., Roux A., de Verdière S.C., Bosphore A., Corvec S., Guillard T., Vasse M. **2023**. *In vitro* susceptibility of nonfermenting Gram-negative rods to meropenem-vaborbactam and delafloxacin. *Future Microbiol*. 18:117-126.
- Publication 71** Eimer J., Fréchet-Jachym M., Le Dû D, Caumes E., El-Helali N., Marigot-

Outtandy D., Mechai F., Peytavin G., Pourcher V., Rioux C., Yazdanpanah Y., Robert J., Guglielmetti L.; **LZDM group**. 2023. Association Between Increased Linezolid Plasma Concentrations and the Development of Severe Toxicity in Multidrug-Resistant Tuberculosis Treatment. *Clin Infect Dis*. 76(3):e947-e956.

- Publication 72** Ambrosioni J., Hernández-Meneses M., Durante-Mangoni E., Tattevin P., Olaison L., Freiburger T., Hurley J., Hannan M.M., Chu V., Hoen B., Moreno A., Cuervo G., Llopis J., Miró J.M.; **International Collaboration for Endocarditis (ICE) Investigators**. 2023. Epidemiological Changes and Improvement in Outcomes of Infective Endocarditis in Europe in the Twenty-First Century: An International Collaboration on Endocarditis (ICE) Prospective Cohort Study (2000-2012). *Infect Dis Ther*. 12(4):1083-1101.
- Publication 73** Guillouzouic A., Gaudart A., Tessier E., Risso K., Hamdad F., **Alauzet C.**, Vaillant P., Koebel .C, Kassegne L., Chenouard R., Abgueguen P., Le Brun C., Jamard S., Lecomte R., Lefebvre M., Bémer P. 2023. Xpert MTB/RIF Ultra Trace Results: Decision Support for the Treatment of Extrapulmonary Tuberculosis in Low TB Burden Countries. *J Clin Med*. 12(9):3148.
- Publication 74** Pichon M., Cremniter J., Burucoa C.; **COVAP Study group**. French national epidemiology of bacterial superinfections in ventilator-associated pneumonia in patients infected with COVID-19: the COVAP study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 22(1):50.
- Publication 75** Bucy L., Erpelding M.L., Boursier C., Lefevre B., **Alauzet C.**, Liu Y., Chevalier E., Huttin O., Agrinier N., Selton-Suty C., Goehringer F.; AEPEI study group (Association pour l'Étude et la Prévention de l'Endocardite Infectieuse). Real world experience of therapeutic monitoring of medically treated prosthetic valve infective endocarditis by 18F-FDG-PET/CT. *J Nucl Cardiol*. 2023 Jul 31. Epub ahead of print.

Publications nationales

- Publication N1:** Lagier J. C., Letranchant L., Selton-Suty C., Nloga J., Aissa N., **Alauzet C.**, Carteaux J. P., May T., Doco-Lecompte T. 2008. Bactériémies et endocardites à *Staphylococcus aureus*. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*. 57:71-77.
- Publication N2:** Mailles A., **Alauzet C.**, Mock M., Garin-Bastuji B., Veran Y. 2010. Cas groupés de charbon cutané humain en Moselle – Décembre 2008. Saint-Maurice (Fra) : Institut de veille sanitaire, février 2010, (www.invs.sante.fr).
- Publication N3:** **Alauzet C.** 2017. Microbiote intestinal, dysbiose et pathologies. Correspondances en Onco-Hématologie - Vol. XII - n° 3 – pg 119-124.
- Publication N4:** Selton-Suty C, Goehringer F, Venner C, Thivilier C, Huttin O, Hoen B; **membres de l'Endocarditis Team du CHU de Nancy**. 2019. Complications and prognosis of infective endocarditis. *Presse Med*. 48(5):532-538.
- Publication N5:** **Alauzet C.** 2020. Modulation du microbiote intestinal : vers une médecine personnalisée. Newsletter Octobre 2020. Société Française de Microbiologie.

Synthèse des publications en fonction du rang d'auteur

Journal	Impact Factor 2021	Catégorie	Rang d'auteur					Total
			1er	2ème	Avant-dernier	Dernier	Autres	
JAMA	157,375	A					2	2
JAMA Intern Med	44,424	A					1	1
Intensive Care Med	41,787	A			1		1	2
Circulation	39,918	A					1	1
Eur Heart J	35,855	A					1	1
J Am Coll Cardiol	27,206	A					1	1
Eurosurv	21,286	A					1	1
Clin Infect Dis	20,999	A					4	4
Emerg Infect Dis	16,126	A					1	1
J Clin Virol	14,481	A		1				1
Clin Microbiol Infect	13,31	A					1	1
J Clin Microbiol	11,677	B	1	1	4		2	8
Crit Care Med	9,296	B					1	1
Stem Cell Res Ther	8,079	B					1	1
J Infect Dis	7,759	B		1				1
J Clin Periodontol	7,478	A					1	1
Heart	7,369	B					1	1
Ann Clin Microbiol Antimicrob	6,781	B					1	1
Nutrients	6,706	B			1			1
Int J Mol Sci	6,208	B	1		1			2
Infect Dis Ther	6,119	C					1	1
J Am Heart Assoc	6,107	C					1	1
Antimicrob Agents Chemother	5,938	B	1	1	1		1	4
Infect Dis (Lond)	5,838	C		1				1
J Antimicrob Chemother	5,758	B	1					1
J Immunol	5,426	C					1	1
Eur J Clin Microbiol Infect Dis	5,103	C					1	1
Sci Rep	4,996	C	1					1
J Clin Med	4,964	C					1	1
Microorganisms	4,926	C	1		2			3
Int J Environ Res Public Health	4,614	B			1			1
Open Forum Infect Dis	4,433	C					1	1
Sex Transm Infect	4,199	D					1	1
Syst Appl Microbiol	4,064	C	1					1
Int J Cardiol	4,039	C					1	1
J Nucl Cardiol	3,872	C					1	1
PlosONE	3,752	C					2	2
Future Microbiol	3,553	D	1				1	2
Shock	3,533	B					2	2

J Med Microbiol	3,196	D					1	1
Rev Pneumol Clin	3,149	D					1	1
Diagn Microbiol Infect Dis	2,983	D				1	1	2
Anaerobe	2,837	D		2	2			4
Int J Syst Evol Microbiol	2,689	E	1		1			2
J Microbiol Methods	2,622	D				1		1
Medicine (Baltimore)	1,817	D					2	2
Ann Cardiol Angeiol (Paris)	0,302	E					1	1
Intensive Care Med Exp	NC	NC					1	1
Infect Dis Now	NC	NC					1	1
Total			9	7	14	2	44	76

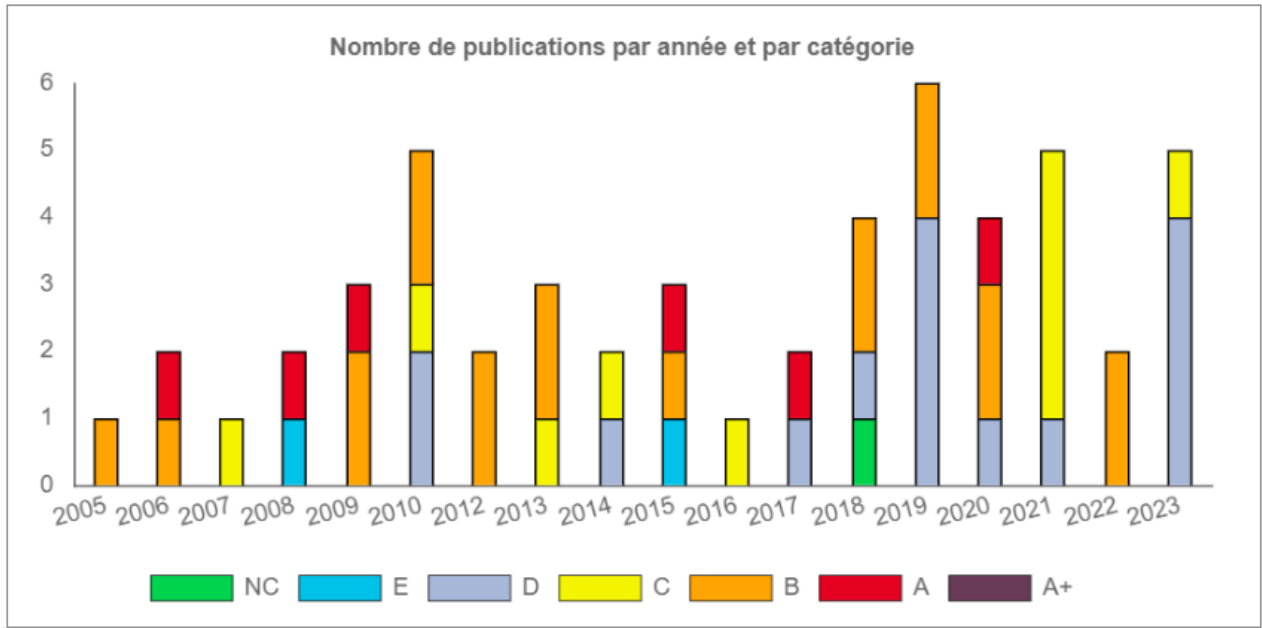
Index h = 26 (Web of Sciences 26/01/2024).

Nombre total de citations = 2275 (Web of Sciences 26/01/2024).

Nombre de points SIGAPS 2023 : 626.

Répartition des points SIGAPS par catégorie et par année

Période : 2005 - 2023										
Année	Total	A+	A	B	C	D	E	NC	Score	Score Frac.
2005	1	0	0	1	0	0	0	0	12	0.71
2006	2	0	1	1	0	0	0	0	36	1.91
2007	1	0	0	0	1	0	0	0	16	0.94
2008	2	0	1	0	0	0	1	0	18	0.99
2009	3	0	1	2	0	0	0	0	38	2.27
2010	5	0	0	2	1	2	0	0	73	4.52
2011	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2012	2	0	0	2	0	0	0	0	18	1.17
2013	3	0	0	2	1	0	0	0	40	2.19
2014	2	0	0	0	1	1	0	0	25	1.30
2015	3	0	1	1	0	0	1	0	30	1.50
2016	1	0	0	0	1	0	0	0	12	0.67
2017	2	0	1	0	0	1	0	0	41	2.28
2018	4	0	0	2	0	1	0	1	43	2.51
2019	6	0	0	2	0	4	0	0	69	4.38
2020	4	0	1	2	0	1	0	0	59	3.18
2021	5	0	0	0	4	1	0	0	56	3.11
2022	2	0	0	2	0	0	0	0	18	1.35
2023	5	0	0	0	1	4	0	0	22	1.05
Total	53	0	6	19	10	15	2	1	626	36.01



LISTE DES PRESENTATIONS ORALES SUR INVITATION

Dans la liste suivante, mon nom apparaît en gras et souligné. Les noms des étudiants que j'ai encadrés sont soulignés.

Présentation internationale

- **Alauzet C.**, Mory F., Lozniewski A. Glycopeptide resistance: focus on anaerobe and vancomycin-resistant enterococci. Institute of Medical Microbiology and Hygiene, University of Saarland Hospital, Homburg, Allemagne, novembre 2006.

Présentation nationale

- **Alauzet C.**, Tronel H., Lozniewski A. Place de la biologie moléculaire dans le dépistage des entérocoques résistants aux glycopeptides. XVI^{èmes} Journées Régionales d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales. Nancy, juin 2008.
- **Alauzet C.** Microbiote intestinal & axe intestin cerveau. XIII^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, octobre 2017.
- **Alauzet C.** Microbiote intestinal, dysbiose et pathologies humaines. Journées. 11^{èmes} Journées d'Actualités Physiopathologiques de Strasbourg. Strasbourg, décembre 2018.
- **Alauzet C.** Microbiote intestinal, diversité et facteurs modulant sa composition. 28^{èmes} Journées Régionales de Prévention des Infections Associées aux Soins du Grand-Est. Nancy, octobre 2021.

LISTE DES PRESENTATIONS ORALES SANS INVITATION

Présentations internationales

- Selton-Suty C., Alla F., Letranchant L., Duhoux F., **Alauzet C.**, May T., Juilliere Y., Hoen B., Carteaux J. P., Doco-Lecompte T. Clinical and microbiological features of multivalvular infective endocarditis. ISCVID 2009. 10th International Symposium on Modern Concepts in Endocarditis and Cardiovascular Infections, Napoli, Italie, avril 2009.
- Derive M., Bouazza Y., Massin F., **Alauzet C.**, Lévy B., Bollaert P.E., Gibot S. Soluble TLT-1 is a naturally occurring TREM-1 inhibitor and protects mice from hyperresponsiveness and death during sepsis. The Sepsis 2010 International Symposium. Paris, septembre 2010.
- Gibot S., Boufenzler A., Bouazza Y., Groubatch F., **Alauzet C.**, Barraud D., Bollaert P.E., Leroy P., Tran N., Derive M. Effects of a TREM-like transcript-1 derived peptide during septic shock in pigs. International Sepsis Forum 2012. Paris, novembre 2012.

Présentations nationales

- **Alauzet C.**, Mory F., Lemée L., Dhalluin A., Carlier J. P., Pons J. L., Lozniewski A. Sensibilité diminuée à la vancomycine chez *Clostridium hastiforme* (*Tissierella praeacuta*). Journées Anaérobies, Société Française de Microbiologie Clinique. Lille, juin 2006.
- Grare M., **Alauzet C.**, Aissa N., De Poli C., Lozniewski A. Gestion d'une épidémie à entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) : choix d'un milieu chromogène sélectif pour la

- détection du portage fécal d'ERG à partir d'écouvillons rectaux. 27^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris, décembre 2007.
- **Alauzet C.**, Mory F., Teyssier C., **Hallage H.**, Carlier J. P., Grollier G., Lozniewski A. Résistance au métronidazole des bactéries du genre *Prevotella* et description d'un nouveau gène *nim* chez *Prevotella baroniae*. V^{ème} Journée Claude Huriet de la Recherche Médicale. Nancy, décembre 2009.
 - Derive M., Bouazza Y., Massin F., **Alauzet C.**, Lévy B., Gibot S. Les MDSCs (Myeloid-derived suppressor cells): une nouvelle approche thérapeutique dans le traitement du sepsis expérimental? SRLF 2010. Congrès de la Société de Réanimation de Langue Française 2010. Paris, janvier 2010.
 - Véran Y., **Oddoux O.**, Guyot-Caquelin P., Cinquetti G., Couderc A., **Alauzet C.** Charbon cutané en Moselle : trois cas. Journée de la Société Française de Dermatologie. Paris, mars 2010.
 - Derive M., Bouazza Y., Massin F., **Alauzet C.**, Lévy B., Bollaert P. E., Gibot S. TLT-1 est un inhibiteur naturel de TREM-1 et favorise la survie au cours du sepsis expérimental. SRLF 2011. Congrès de la Société de Réanimation de Langue Française 2011. Paris, janvier 2011.
 - Derive M., Sennoun N., Bouazza Y., Massin F., **Alauzet C.**, Bollaert P. E., Gibot S. TLT-1 inhibe TREM-1 par compétition avec son ligand endogène et possède un rôle majeur au cours du sepsis expérimental chez la souris. SRLF 2012. Congrès de la Société de Réanimation de Langue Française 2012. Paris, janvier 2012.
 - **Hénard S.**, Nilius D., Rabaud C., Von Muller L., Frippiat J.P., Lozniewski A., **Alauzet C.** Évaluation de l'impact du stress chronique sur la diversité du microbiote intestinal murin. IX^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Lille, février 2013.
 - Ferrand J., Hochard H., Girard V., Saccomani M. C., Monnin V., **Alauzet C.**, Lozniewski A. Comparison of VITEK®MS and MALDI Biotyper for identification of *Actinomycetaceae*. XI^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, mars 2015.
 - **Alauzet C.**, Ferrand J., Hénard S., Kimmoun A., Mathieu P., Tronel H., Perez P., Charmillon A., Bouvet P., Rabaud C., Levy B., Aissa N., Lozniewski A. Anémie hémolytique à *Clostridium haemolyticum* : premier cas chez l'homme. XII^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, mars 2016.
 - Cailliez-Grimal C., Frippiat J.P., Cunat L., Busby-Venner H., Agrinier N., Wack M., Lozniewski A., **Alauzet C.** Stress chronique et microbiote intestinal dans un modèle murin de modification de la gravité. XIII^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, octobre 2017.
 - Cunat L., **Pottier V.**, Caillet C., Mathieu L., Lozniewski A., **Alauzet C.**, Cailliez-Grimal C. Microbiote intestinal : propriétés de surface et d'adhésion de *Parabacteroides distasonis*. XIV^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, octobre 2018.
 - **Watry H.**, André M., Jaffré J., Laurain C., Jeanmaire E., Veziris N., **Alauzet C.** Mycobactériose digestive à *Mycobacterium genavense*. Groupe de travail MycoMed de la Société Française de Microbiologie. Paris, novembre 2018.
 - **Manteaux A.E.**, Bonnet I., Watry H., Morel F., Jeanmaire E., Sougakoff W., Lozniewski A., Aubry A., **Alauzet C.** Tuberculose MDR : quelle approche utiliser pour détecter les souches portant des mutations en dehors de la région RRDR ? XV^{ème} Journées de Mycobactériologie de Langue Française. Montpellier, septembre 2020.

- Le Brun C. , Guet-Revillet H., Peuchant O , Gaudart A., Koebel C., Piau C., **Alauzet C.**, Hamdad F., Bador J., Martin C., Canis F., Vachée A., Amara M., Beauruelle C., Brehin C., Ricco L., Bemmer P., Lanotte P., Carvalho Schneider C., Maakaroun-Vermesse Z., Guillouzouic A. pour le réseau MYCOMED. Adénites à mycobactéries atypiques chez l'enfant : épidémiologie et stratégie de prise en charge en France durant la dernière décennie. XVème Journées de Mycobactériologie de Langue Française. Montpellier, septembre 2020.
- Bachir M., Guglielmetti L., Tunesi S., Chiesi S., Martinez V., Schramm F., Langris H., Jaffré J., Billard-Pomares T., Lemaitre N., Robert J. **pour le groupe AZAY-Mycobactéries.** Tuberculose monorésistante à l'isoniazide en France: caractéristiques et prise en charge. RICAI 2019
- Lefèvre B., Goehringer F., Hoen B., Ngueyon Sime W., Aissa N., **Alauzet C.**, Selton-Suty C., Agrinier N. (Cl)oxacilline *versus* céfazoline pour le traitement des endocardites infectieuses à *Staphylococcus aureus* sensibles à la méthicilline : une étude quasi-expérimentale. 21^{èmes} Journées Nationales d'Infectiologie (JNI). Poitiers, septembre 2020. (publiée dans Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 50, Issue 6, Supplement, September 2020, Page S1)
- Jeannot K., **Alauzet C.**, Boyer P., Cattoen C., Corvec S., Dubois V., Mérens A., Guillard T., Lavigne J., Naas T., Longshaw C., Santerre Henriksen A. Activité du céfidérocol sur les bacilles à Gram négatif français. 41^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris, décembre 2021.

LISTE DES COMMUNICATIONS AFFICHÉES

Dans la liste suivante, mon nom apparaît en gras et souligné. Les noms des étudiants que j'ai encadrés sont soulignés.

Communications internationales

- **Alauzet C.**, Lemée L., Dhalluin A., Carlier J. P., Lozniewski A., Pons J. L., Mory F. Low-level resistance in *Clostridium hastiforme* and its relatives. ClostPath International Meeting 2006. 5th International Meeting on the Molecular Biology and Pathogenesis of the *Clostridia*. Nottingham, Angleterre, juin 2006.
- **Alauzet C.**, Marchandin H., Teyssier C., Gouby A., Counil F., Lozniewski A., Jumas-Bilak E. Acetic acid bacteria : food engineers emerging as opportunistic pathogens. IUMS 2008. Meetings of the three divisions of the International Union of Microbiological Societies. Istanbul, Turquie, août 2008.
- **Alauzet C.**, Lozniewski A., Mory F., Marchandin H., Jumas-Bilak E. Phylotaxonomy of human and environmental isolates belonging to *Tissierella* group. BioMicroWorld 2009. III International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology. Lisboa, Portugal, décembre 2009.
- Selton-Suty C., Alla F., Letranchant L., Duhoux F., **Alauzet C.**, May T., Juilliere Y., Hoen B., Carteaux J. P., Doco-Lecompte T. Clinical and microbiological features of multivalvular infective endocarditis. ISCVID 2009. 10th International Symposium on Modern Concepts in Endocarditis

and Cardiovascular Infections, Napoli, Italie, avril 2009 (publiée dans l'*International Journal of Antimicrobial Agents*, 33:iS28).

- Doco-Lecompte T., Lagier J., Aissa N., Freysz L., Letranchant L., **Alauzet C.**, Alla F., Julliere Y., May T. Risk factors for infective endocarditis in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia : a teaching hospital experience. ISCVID 2009. 10th International Symposium on Modern Concepts in Endocarditis and Cardiovascular Infections, Napoli, Italie, avril 2009 (publiée dans l'*International Journal of Antimicrobial Agents*, 33:iS2-S3).
- Derive M., Bouazza Y., Massin F., **Alauzet C.**, Lévy B., Bollaert P.E., Gibot S. Soluble TLT-1 is a naturally occurring TREM-1 inhibitor and protects mice from hyperresponsiveness and death during sepsis. The Sepsis 2010 International Symposium. Paris, septembre 2010.
- **Alauzet C.**, Brezillon C., Oddoux O., Puyhardy J.M., Mock M., Lozniewski A. Real-time PCR diagnosis of three related-cases of human anthrax in France. 110th General Meeting of the American Society for Microbiology. San Diego, USA, mai 2010.
- Gibot S., Boufenger A., Bouazza Y., Groubatch F., **Alauzet C.**, Barraud D., Bollaert P.E., Leroy P., Tran N., Derive M. Effects of a TREM-like transcript-1 derived peptide during septic shock in pigs. International Sepsis Forum 2012. Paris, novembre 2012 (prix Best Poster Award).
- Berger S., Laurain C., Larcher C., Lozniewski A., **Alauzet C.** Comparison of four commercial real-time PCR assays for detection of Mycobacterium tuberculosis complex, associated or not to detection of anti-tuberculosis drug-resistance genes. ECCMID 2015. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Copenhagen, avril 2015.
- Pereyre S., Hénin N., Dolzy A., Guiraud J., Laurier-Nadalié C., Gardette M., Bébéar C., and **investigator group**. Evaluation of commercial customized plates for *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis* antimicrobial susceptibility testing and determination of resistance prevalence in France in 2020. ECCMID 2022. 32nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Lisbon, avril 2022.

Communications nationales

- Gibot S., Massin F., **Alauzet C.**, Bollaert P. E., Lévy B. Modulation de la signalisation par TREM-1 dans un modèle de pneumopathie chez le rat. SRLF 2006. Congrès de la Société de Réanimation de Langue Française 2006. Paris, janvier 2006.
- Gibot S., Massin F., **Alauzet C.**, Bollaert P. E., Lévy B. L'administration *in vivo* de TREM-1 siRNA est délétère chez la souris septique. SRLF 2006. Congrès de la Société de Réanimation de Langue Française 2006. Paris, janvier 2006.
- Gibot S., Massin F., **Alauzet C.**, Bollaert P. E., Lévy B. Modulation *in vitro* de la signalisation par TREM-1 : effets génomiques et fonctionnels. SRLF 2006. Congrès de la Société de Réanimation de Langue Française 2006. Paris, janvier 2006.
- **Alauzet C.**, Hallage H., Lozniewski A., Mory F. Activité *in vitro* du métronidazole et de 12 autres antibiotiques sur *Prevotella* spp. 27^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris, décembre 2007.
- Hadou T., Lohmann C., Rabaud C., **Alauzet C.**, Dauphin I., Lozniewski A. Importance de l'hémoculture dans le diagnostic des méningococcémies atypiques: à propos de deux cas. 27^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris, décembre 2007.

- Derive M., Bouazza Y., Massin F., **Alauzet C.**, Lévy B., Bollaert P.E., Gibot S. TLT-1 est un inhibiteur naturel de TREM-1 et favorise la survie au cours du sepsis expérimental. VI^{ème} Journée Claude Huriet de la Recherche Médicale. Nancy, décembre 2010.
- Derive M., Bouazza Y., **Alauzet C.**, Bollaert P. E., Gibot S. Rôle des ‘Myeloid-Derived Suppressor cells’ au cours du sepsis expérimental chez la souris. SRLF 2012. Congrès de la Société de Réanimation de Langue Française 2012. Paris, janvier 2012.
- Ferrand J., Lozniewski A., Legrand-Frossi C., Fripiat J. P., Merlin C., **Alauzet C.** Mise en place d’un protocole de détection de transfert de gènes au sein du microbiote intestinal dans un modèle murin. JRBM 2013. 8^{ème} Journée de la Recherche Biomédicale. Nancy, mai 2013.
- Laurain C., Berger S., Larcher C., Girardier F., Lozniewski A., **Alauzet C.** Comparaison des performances de quatre coffrets de PCR pour la détection du complexe tuberculeux associée ou non à la recherche de gènes de résistance aux antituberculeux. 13^{ème} Journées de Mycobactériologie de Langue Française. Dijon, octobre 2014.
- Berger S., Desroches J., Lozniewski A., **Alauzet C.** Comparaison des performances de six coffrets de PCR pour la détection d’agents impliqués dans les pneumopathies atypiques communautaires. 34^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris, décembre 2014.
- Laurain C., Le Brun C., Larcher C., Derelle J., Vaillant P., Lozniewski A., **Alauzet C.** *Mycobacterium tuberculosis* et mutations du gène codant l’antigène MPT64 : à propos d’un cas. 4^{ème} Conférence du Mycoclub. Marseille, mai 2015.
- Laurain C., Vaillant P., May T., Dailloux M., Lozniewski A., **Alauzet C.** Vingt ans de tuberculose au CHRU de Nancy : quelle(s) évolution(s) depuis 1995 ? 35^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris, décembre 2015.
- **Alauzet C.**, Berger S., Jean-Pierre H., Dubreuil L., Jumas-Bilak E., Lozniewski A., Marchandin H. *nimH*, nouveau gène de résistance au métronidazole chez *Bacteroides fragilis*. XII^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, mars 2016.
- Koehler M., Goehringer F., Clément E., **Alauzet C.**, Diguio N., Ducret A., Rol L., Burtin C., Forin J., Florentin A., Schvoerer E., Rabaud C. Démarche collaborative de préparation à l’accueil d’un potentiel patient lors de l’épidémie de Maladie à Virus Ebola. XXVII^{ème} Congrès de la Société Française d’Hygiène Hospitalière. Nantes, juin 2016.
- Cailliez-Grimal C., Cunat L., Lanfumey L., Agrinier N., Wack M., Lozniewski A., Fripiat J.P., **Alauzet C.** Le *Chronic Unpredictable Stress* a des impacts significatifs sur le microbiote intestinal murin. XIV^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, octobre 2018.
- Corbel A., Cailloux P., De Saint Hilaire T., Lozniewski A., **Alauzet C.** *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica* et infection du site opératoire : nouvel agent d’infection nosocomiale ? XIV^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, octobre 2018.
- Carlier T., Cunat L., Lozniewski A., **Alauzet C.**, Cailliez-Grimal C. Adaptation de la méthode vapeur/PBS turbidité à l’étude de l’adhésion des bactéries anaérobies. MICROBES, XV^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, octobre 2019.

- Verstraete E., Hologne E., Cunat L., Lozniewski A., Rubio M.T., Alauzet C. Mise en place d'une qPCR pour l'analyse du microbiote intestinal des patients greffés de cellules souches hématopoïétiques. MICROBES, XV^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, octobre 2019.
- Laugel E. Berger S., Laurain C., Pereyre S., de Barbeyrac B., Bébéar C., Lozniewski A., Alauzet C. Trois ans d'utilisation du système Panther® (Hologic) pour la détection des IST d'origine bactérienne au CHRU de Nancy. MICROBES, XV^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie. Paris, octobre 2019.
- Cunat L., Carlier T., Caillet C., Mathieu L., Soares A., Lozniewski A., Alauzet C., Cailliez-Grimal C. Microbiote intestinal : propriétés de surface et d'adhésion de *Parabacteroides distasonis*. 9^{ème} Colloque Réseau National Biofilm. Nancy, décembre 2019.
- Watry H., Manteaux A.E., Lefevre B., Vaillant P., Laurain C., Lozniewski A., Alauzet C. Epidémiologie de la tuberculose au CHRU de Nancy (période 2015-2019). XV^{ème} Journées de Mycobactériologie de Langue Française. Montpellier, septembre 2020.
- Chiesi S., Guglielmetti L., Bachir M., Aubry A., Veziris N., Lemaitre N., Robert J. **for the AZAY-Mycobacteria group.** Are French large cities at risk for tuberculosis drug resistance? 39^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris, décembre 2019.
- Chamarande J., D'Agostino M., Cunat L., Machouart M., Alauzet C., Debourgogne A., Cailliez-Grimal C. Application of the steam-based washing methods to anaerobic bacteria and fungi biofilms. 16^{ème} congrès national de la SFM, MICROBES, Nantes, octobre 2021.
- Chamarande J., Cunat L., Alauzet C., Cailliez-Grimal C. *In silico* study of cell surface structures of *Parabacteroides distasonis* involved in its maintain within the gut microbiota and its potential pathogenicity. 17^{ème} congrès national de la SFM, MICROBES, Montpellier, octobre 2022.
- Mulot M., Alauzet C., Manteaux A.E., Vaillant P., Cailloux P., Lozniewski A., Hamdad F. Tuberculose osseuse au CHU de Nancy : étude rétrospective de 34 cas. 42^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris, décembre 2022.

RAYONNEMENT SCIENTIFIQUE

Expertise reconnue concernant les bactéries anaérobies

Au niveau national, j'ai été sollicitée pour co-rédiger le chapitre concernant les bactéries anaérobies dans un projet de référentiel de Bactériologie à l'attention des internes de biologie (actuellement en cours sous l'égide de la SFM). Par ailleurs, Mérieux Université m'a récemment demandée d'être formatrice dans le cadre d'une session annuelle de formation continue de 3 jours concernant l'«Isolement et identification des bactéries anaérobies strictes». J'ai également participé à la mise à jour d'un traité EMC de Biologie médicale portant sur les bactéries anaérobies à Gram négatif qui est actuellement en cours de publication.

Au niveau international, on m'a proposée de co-rédiger 3 chapitres de livre concernant des taxons anaérobies dans des livres majeurs de taxonomie bactérienne (Prokaryotes et Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria). J'ai été invitée par l'Université du Saarland à parler de la résistance aux glycopeptides chez les bactéries anaérobies. J'ai également été invitée à reviewer des articles de recherche concernant des espèces anaérobies dans des journaux tels que Clinical Microbiology and Infection (IF₂₀₂₁=13.31) ou Journal of Antimicrobial Agents (IF₂₀₂₁=5.758). Enfin, j'ai été sollicitée en 2022 à rejoindre l'European Study Group on Anaerobic Infections (ESGAI), groupe de travail de l'European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Je n'ai pu répondre positivement à cette sollicitation par manque de temps disponible pour ce type d'activité.

Expertise reconnue concernant les microbiotes

Au niveau national, j'ai été invitée à intervenir sur la thématique du microbiote intestinal au congrès de la SFM en 2017, aux Journées d'Actualités Physiopathologiques de Strasbourg en 2018 ainsi qu'aux Journées Régionales de Prévention des Infections Associées aux Soins du Grand-Est en 2021. On m'a également demandé de rédiger une revue dans le journal Onco-Hématologie en 2017 ainsi qu'un éditorial sur le site internet de la SFM en 2020. Enfin, j'ai été à plusieurs reprises modératrice de sessions concernant le microbiote lors des congrès de la SFM et cela fait 5 ans que l'on me reconduit au sein du conseil scientifique de ce congrès.

Par ailleurs, j'ai été contactée en 2021 par les Pr Geneviève Héry-Arnaud et Christophe Burucoa pour participer, avec 12 autres microbiologistes français, à la création d'un groupe de travail sur les microbiotes et la métagénomique clinique. Ce groupe de travail a pour objectif d'émettre des recommandations nationales concernant la métagénomique utilisée dans le diagnostic microbiologique ainsi que son application à l'analyse des microbiotes à des fins médicales. Le groupe a ainsi rédigé un chapitre du référentiel national de microbiologie (REMIC 7, 2022) concernant la métagénomique. Nous souhaitons à moyen terme proposer une version en ligne du REMIC «à la sauce» métagénomique, c'est-à-dire proposer une approche du séquençage haut débit pour les grands syndromes infectieux.

Au niveau international, j'ai été invitée à reviewer des articles de recherche portant sur le microbiote intestinal dans des journaux tels que Gut Microbes (IF₂₀₂₁=12.2) ou Life (IF₂₀₂₁=3.251). Ces trois dernières années, j'ai été très souvent sollicitée pour reviewer des articles portant sur les microbiotes mais j'ai quasi systématiquement refusé ces propositions par manque de temps disponible pour ce type d'activité.

PROJET DE RECHERCHE

ETUDE DE L'IMPACT D'UN STRESS CHRONIQUE SUR LA DISSEMINATION DES GENES DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES AU SEIN DU MICROBIOTE INTESTINAL

Lutter contre la résistance aux antibiotiques et sa dissémination vont représenter un des plus grands défis de l'humanité dans les années à venir (**Figure 19**). En effet, les scénarios les plus alarmants prédisent que les infections impliquant des bactéries antibiorésistantes deviendront la première cause de mortalité à l'horizon 2050 (10 millions de morts annuelles en prévision) (21). Cette résistance touche toutes les bactéries, qu'elles soient commensales ou pathogènes, et est déjà responsable de taux de mortalité alarmants (14).

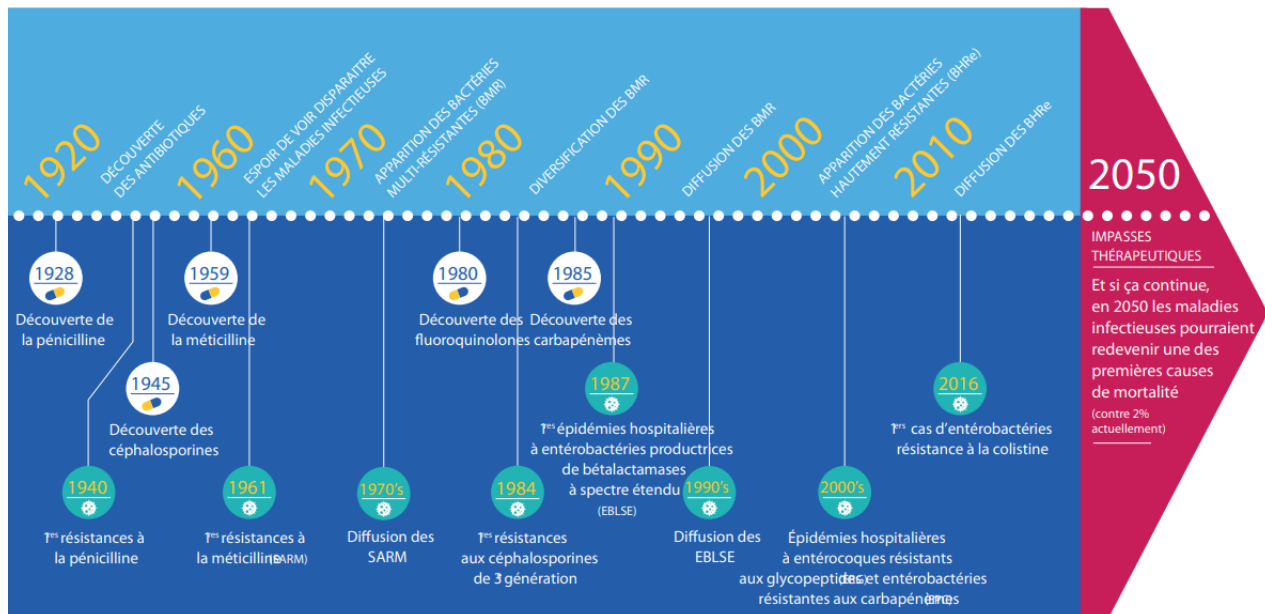


Figure 19. De la surconsommation d'antibiotiques à l'impasse thérapeutique [Données Santé Publique France 2022].

Ces bactéries résistantes sont retrouvées chez l'humain et l'animal mais aussi dans les écosystèmes qui lui sont connectés (denrées alimentaires d'origine animale, effluents, eau). Une coordination entre les différents acteurs et secteurs concernés, en santé humaine, animale et environnementale (concept d'une « seule santé » ou « One Health ») est nécessaire pour proposer des stratégies efficaces de lutte contre ce fléau (9).

L'émergence de l'antibiorésistance est liée d'une part à la consommation et la surconsommation d'antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire, et d'autre part à la capacité des bactéries à s'adapter à cette pression de sélection par différents mécanismes. En effet, les génomes bactériens vont évoluer sous pression antibiotique par le biais de mutations ou par l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques (ARGs). Ces transferts horizontaux de gènes (HGT) se font principalement par conjugaison, transduction, transformation ou par le biais de vésicules membranaires (**Figure 20**) (18).

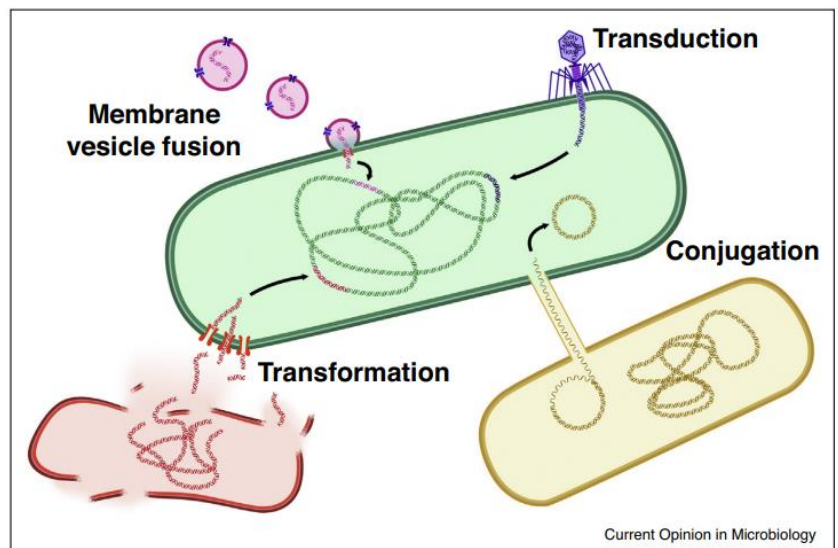
Quel rôle peut avoir le microbiote intestinal dans la dissémination des ARGs ?

Le MI humain et animal représente à la fois un réservoir majeur de gènes d'ARGs ainsi qu'un environnement *a priori* extrêmement favorable à la dissémination de cette résistance. En effet, il

offre un flux continu de nutriments ainsi qu'une température constante à un grand nombre d'espèces bactériennes diverses, et finalement une forte promiscuité favorisant ainsi les HGT entre elles (15,16,31,35). Parmi les éléments génétiques mobiles (EGM) pouvant être transférés entre ces bactéries, certains sont porteurs d'ARGs et il a été démontré que l'intestin représentait un important réservoir de tels gènes (18,24,25,30). La forte augmentation de prévalence des gènes *tetQ* et *ermF* observée entre les années 1970 et 1990 chez *Bacteroides* sp. suggérait déjà l'importance des transferts génétiques au sein du microbiote intestinal (29). Le fait que l'on retrouve ces gènes chez des patients n'ayant pas d'antécédents récents d'antibiothérapie montre que ceux-ci peuvent se maintenir une fois acquis, même en l'absence de pression de sélection.

Figure 20. Mécanismes de transfert horizontal de gènes (ADN chromosomique ou extra-chromosomique).

Transformation : des bactéries physiologiquement compétentes peuvent récupérer de l'ADN nu dans l'environnement. **Fusion de vésicules membranaires :** vésicules sphériques (20-250 nm) lipidiques pouvant transporter de l'ADN d'une bactérie à l'autre. **Transduction :** transfert du matériel génétique par l'intermédiaire d'un bactériophage. **Conjugaison :** transfert de matériel génétique via un pilus conjugatif (18).



Les principaux paramètres connus pour influencer les transferts génétiques sont la température, l'organisation du milieu (biofilm ou agrégats), les espèces bactériennes donneuses et receveuses, le type d'EGM, et certains antibiotiques (3,16,35). En effet, à chaque antibiothérapie par voie orale, les bactéries du MI subissent une pression de sélection qui va non seulement sélectionner les espèces résistantes mais également, dans certains cas, induire le transfert des ARGs entre bactéries. Il est connu que des concentrations sub-inhibitrices d'antibiotiques sont capables d'induire, *in vitro* et *in vivo*, l'activité de certains éléments génétiques mobiles (EGM) impliqués dans le transfert d'ADN entre bactéries dont les ARGs (28). Mais les antibiotiques ne sont pas les seuls inducteurs des transferts de gènes.

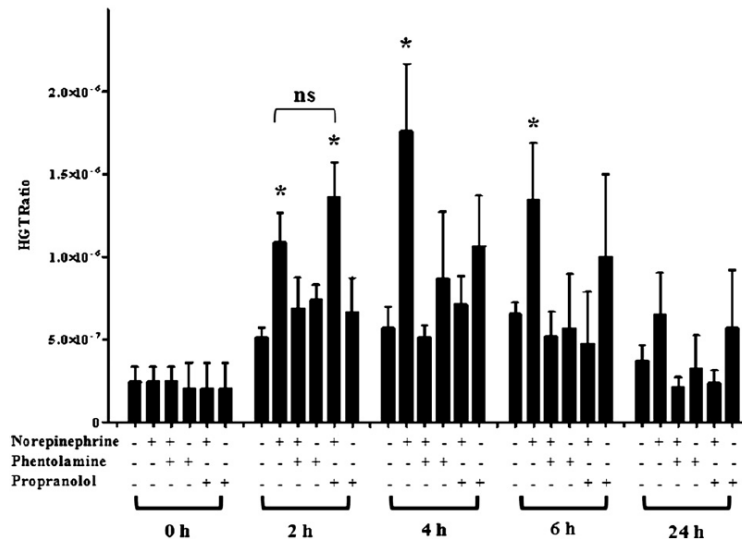
Comment est-ce que le stress pourrait influencer la fréquence des HGT ?

En cas d'un **stress de l'hôte**, les bactéries constituant le microbiote vont se retrouver au contact de concentrations croissantes de marqueurs de stress (catécholamines, glucocorticoïdes) qui, libérés dans la lumière intestinale, vont avoir des effets notamment sur leur croissance ou leur virulence (1,7,17). **Il a aussi été montré *in vitro* que les catécholamines pouvaient directement stimuler la conjugaison plasmidique entre deux souches d'entérobactéries.** Peterson *et al.* ont en effet démontré pour la première fois que la noradrénaline stimulait le transfert d'un plasmide conjugatif d'une souche clinique de *Salmonella enterica* Typhimurium vers un *Escherichia coli* en milieu de culture. Cet effet est inhibé par l'ajout dans le milieu de culture d'antagonistes des récepteurs adrénergiques (**Figure 21**).

Le récepteur potentiellement impliqué dans cette réponse aux catécholamines a été caractérisé chez les entérobactéries (QseC) mais il semblerait que d'autres voies de communication

interdomaine existent puisque les effets des catécholamines ont également été observés dans diverses espèces de *Bacteroidetes* sans que les mécanismes soient à ce jour élucidés (7).

Figure 21. Fréquences de conjugaison entre *Salmonella* 5678 et *E. coli* C600N en présence de noradrénaline avec ou sans phentolamine (antagoniste α -adrénergique) ou propranolol (antagoniste β -adrénergique). * indique une augmentation significative ($p \leq 0.05$) ; ns indique une différence non significative (23).



Il est donc parfaitement envisageable que **le stress puisse être un élément majeur la dissémination des ARGs au sein du réservoir intestinal humain ou animal**, et ce, dans un contexte mondial préoccupant quant à l'expansion considérable des bactéries multi-résistantes. Cette hypothèse n'a pour le moment **jamais été confirmée *in vivo*** et c'est pour cela que nous souhaitons maintenant explorer la possibilité qu'un stress de l'hôte impacte le type et la fréquence des transferts d'ARGs dans l'intestin.

Comment évaluer la fréquence des transferts d'ARGs au sein du MI ?

Le transfert de gènes a longtemps été étudié *in vitro* en utilisant des milieux liquides, à partir de souches pures. Cette approche, où tous les paramètres sont contrôlés (composition des milieux, température, durée de contact ...) est relativement réductrice, dans la mesure où elle ne rend pas compte de la complexité des communautés microbiennes et des conditions environnementales naturelles. Bien que plus difficiles à mettre en œuvre, les modèles animaux reflètent mieux la diversité et la complexité de l'environnement intestinal. Les expérimentations les plus répandues sont effectuées sur les rongeurs dont le tractus intestinal partage des caractères communs avec l'intestin humain (26). Il peut s'agir d'animaux axéniques ou gnotobiotiques ou, plus rarement, avec un microbiote natif. Les expériences proposées consistent à inoculer l'animal avec des bactéries donneuses et receveuses génétiquement proches, et de rechercher les receveuses (transconjugants) dans les contenus intestinaux et les fèces. Cette approche reste également restrictive car elle limite les possibilités d'HGT à l'espèce receveuse. Il semble donc plus intéressant d'étudier les possibilités de transferts d'ARGs vers l'ensemble du microbiote de l'animal. Cette étude ne peut se faire par une approche culturale seule. En effet, la fraction de bactéries cultivables n'est pas représentative de la population bactérienne réelle et il est bien connu que différents stress environnementaux peuvent induire un état physiologique dit "viable mais non cultivable" (5).

D'autres approches, notamment basées sur la qPCR ou sur l'utilisation de protéines fluorescentes comme la green fluorescent protein (GFP), ont été dans un second temps envisagées afin de suivre des transferts plasmidiques *in situ* principalement dans des prélèvements environnementaux (boues, sol, eau) (Figure 22) (2,5,32).

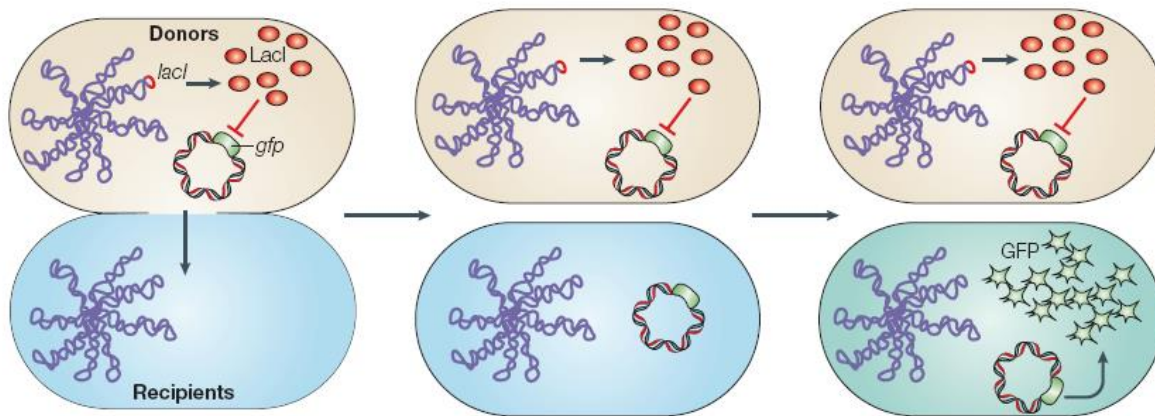


Figure 22. Principe du transfert d'un plasmide étiqueté avec une cassette contenant le gène de la GFP placé sous le contrôle du promoteur *Plac* (32). La bactérie donneuse exprimant le répresseur LacI, le promoteur *Plac* reste inactif et la cellule ne produit pas de GFP. En cas de transfert du plasmide vers une bactérie receveuse, qui ne possède pas de répresseur, l'expression du gène GFP sera détectable en microscopie à épifluorescence.

Nous avons donc envisagé d'utiliser ces approches dans un modèle murin, ce qui, à l'heure actuelle, n'a jamais été réalisé en utilisant le MI natif comme réservoir de bactéries receveuses. La première difficulté d'un tel modèle est de détecter, via des approches sensibles et fiables, des événements rares, sans *a priori*, au sein de l'écosystème complexe qu'est le MI, dont la majorité des membres sont non-cultivables. Un autre problème inhérent à un modèle *in vivo* mettant en jeu un microbiote natif réside dans l'effet de barrière. Il est cependant possible de le contourner en administrant certains antibiotiques qui baissent l'abondance de certaines sous-populations indigènes, libérant ainsi une niche pour l'implantation de la souche bactérienne inoculée (12).

Projet de recherche à court terme : mise en place d'un modèle murin de suivi des HGT dans le MI murin

La mise au point d'un modèle murin permettant de suivre au cours du temps les HGT au sein du microbiote murin natif a été réfléchi en collaboration avec le Dr Christophe Merlin (LCPME, UMR CNRS 7564). Ce dernier a mis au point une méthode permettant d'étudier la persistance et la dissémination d'un plasmide (pB10) porteur de multiples gènes de résistance aux antibiotiques au sein d'écosystèmes environnementaux (20). Nous avons comme objectif de transposer ce modèle au microbiote murin en conservant l'EGM étudié et en ajoutant un autre type d'EGM.

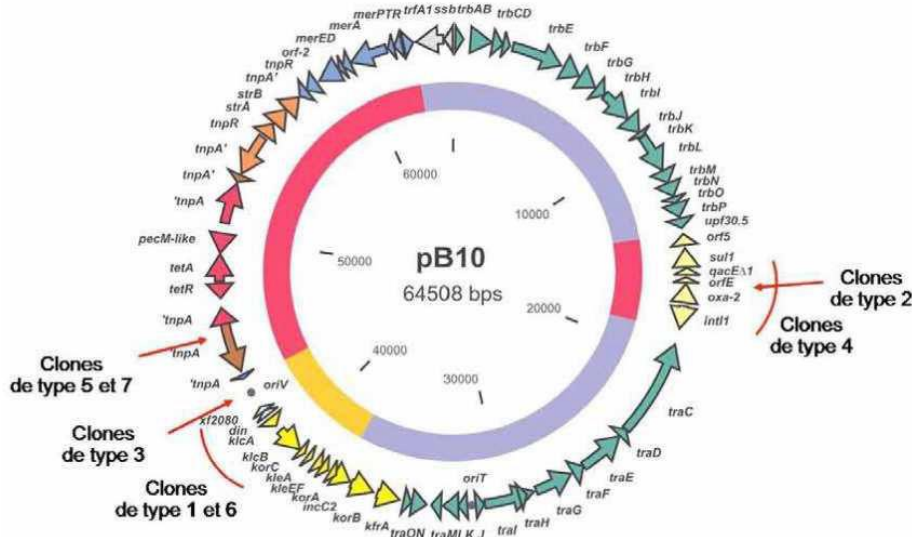
Choix des EGM porteurs d'ARGs

Dans un premier temps, nous testerons les capacités de transfert d'un EGM naturel présentant de bonnes capacités de transfert, le **plasmide pB10 (Figure 23)**, déjà utilisé par le LCPME et possédant de nombreux avantages compatibles avec notre modèle murin :

- il s'agit d'un plasmide naturel de 64,5 kb isolé de boues de station d'épuration. Par conséquent, il pourrait provenir d'un hôte bactérien originaire de matière fécale ;
- il appartient à la famille des plasmides à large spectre d'hôte IncP-1 et se transfère par conjugaison avec une grande efficacité (plus de 80% de transfert en croisement biparental) ;
- la connaissance de sa séquence donne accès à des approches expérimentales mettant en jeu de la biologie moléculaire et le LCPME a identifié une région spécifique permettant la détection de pB10 par qPCR (5) ;

- ce plasmide a été modifié en insérant soit un gène codant pour la Green Fluorescent Protein (GFP) soit un gène codant pour la Red Fluorescent Protein (RFP) permettant sa détection en cytométrie en flux (5,11).

Figure 23. Structure génétique du plasmide pB10 (d'après 27). Les gènes sont représentés par des flèches indiquant le sens de la transcription. Le code couleur utilisé identifie les gènes impliqués dans une même fonction ou structure. La localisation des insertions du mini-Tn5-*gfp* sur la structure du plasmide est indiquée par des flèches rouges. Le clone de type 1 est utilisé pour cette étude.



Dans un second temps, nous évaluerons le transfert d'une second EGM modèle, le **transposon intégratif et conjugatif Tn916**, dont le transfert est connu comme étant inductible à concentration sub-inhibitrice de tétracycline. Ceci permettra notamment de comparer les effet sélectif (haute dose) et stimulateur (basse dose) d'une antibiothérapie à la tétracycline et, une fois encore, de relativiser les effets du stress par rapport à des paramètres reconnus comme majeurs dans le contexte du transfert de l'antibiorésistance.

Choix des souches bactériennes donneuses utilisées

Les transferts du plasmide pB10 ou du Tn916 entre bactéries de la flore intestinale sont évalués en inoculant aux animaux des bactéries non pathogènes. Les souches bactériennes suivantes, déjà construites ou à finaliser, ont été choisies en raison de leur capacité à coloniser le MI, mais aussi de la disponibilité de marquage permettant leur détection/quantification :

- ***E. coli* DH5a** portant le plasmide conjugatif à large spectre d'hôte pB10::*gfp*. Cette souche va représenter une bactérie donneuse issue de la **flore transitoirement présente dans le MI** car elle n'a pas la capacité de s'implanter dans l'intestin (8). Elle possède des marquages génétiques spécifiques au niveau du chromosome et du plasmide permettant sa détection et sa quantification en qPCR. Elle possède un gène de fluorescence (GFP) plasmidique et devra être marquée chromosomiquement avec un gène de RFP pour permettre sa détection en cytométrie en flux ainsi que la détection des transconjugants. Les outils génétiques pour un tel marquage sont déjà disponibles et maîtrisé au LCPME.
- ***E. coli* Δ*fli*** portant d'une part l'intégration chromosomique *gfp* et d'autre part le plasmide pB10::*rfp*. Cette souche correspond à un mutant de la souche non pathogène MG1655 par délétion des gènes *fliE-fliR*. Cette mutation est responsable d'une perte de mobilité associée à une meilleure capacité à coloniser le MI (13). Cette souche représentera donc une bactérie donneuse de la **flore résidente du MI**. Son marquage moléculaire plasmidique est le même que précédemment et nous avons identifié une région unique sur son chromosome permettant sa détection et sa quantification en qPCR. Elle possède également des marquages fluorescents

spécifiques au niveau du chromosome et du plasmide permettant sa détection et sa quantification en cytométrie en flux.

- *Enterococcus faecalis* V583 *glnA* portant l'élément intégratif et conjugatif Tn916. Cette souche présente une délétion dans le gène *glnA* codant la Glutamine synthétase, mutation qui la rend auxotrophe pour la L-glutamine (33). Cette délétion spécifique ainsi que le marquage génétique de Tn916 permettent leur détection et leur quantification par qPCR. Son marquage fluorescent devra être réalisé. De plus, sa capacité d'implantation dans le MI murin devra être préalablement testée.

Modèle animal de détection des transferts d'ARGs

Des souris C57BL/6 mâles avec MI natif seront utilisées au sein de l'Animalerie du Campus Biologie Santé (ACBS) de l'Université de Lorraine. Elles seront élevées dans des cages individuelles dans des armoires ventilées au sein de la zone EOPS (Exempt d'Organisme Pathogène Spécifique). Toutes les expérimentations animales seront conduites dans le respect de la réglementation. Cette étape expérimentale d'optimisation de la détection/quantification des HGT avec les souches donneuses déjà construites a fait l'objet d'une saisine acceptée par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (sous le numéro APAFIS #42666-2023051714239022). Il a par ailleurs reçu un avis favorable du comité d'éthique en expérimentation animale n°066.

Nous allons inoculer par gavage 200 µl d'une suspension contenant la bactérie donneuse (10^9 UFC) à 12 souris. Pour limiter l'effet barrière du microbiote intestinal, nous allons traiter la moitié de ces souris avec de la streptomycine (0.5 g/L) administrée via l'eau de boisson (**Figure 24**). Les fèces de chaque souris seront récupérées à J-2, J1, J2, J3, J5, J10, J15 et J21 du gavage afin d'évaluer : i) **la persistance de la souche donneuse dans le MI** murin au cours du temps, ii) évaluer **l'impact de la streptomycine sur l'implantation** de la bactérie donneuse dans le MI murin, et iii) **quantifier l'EGM et identifier les éventuels HGT**.

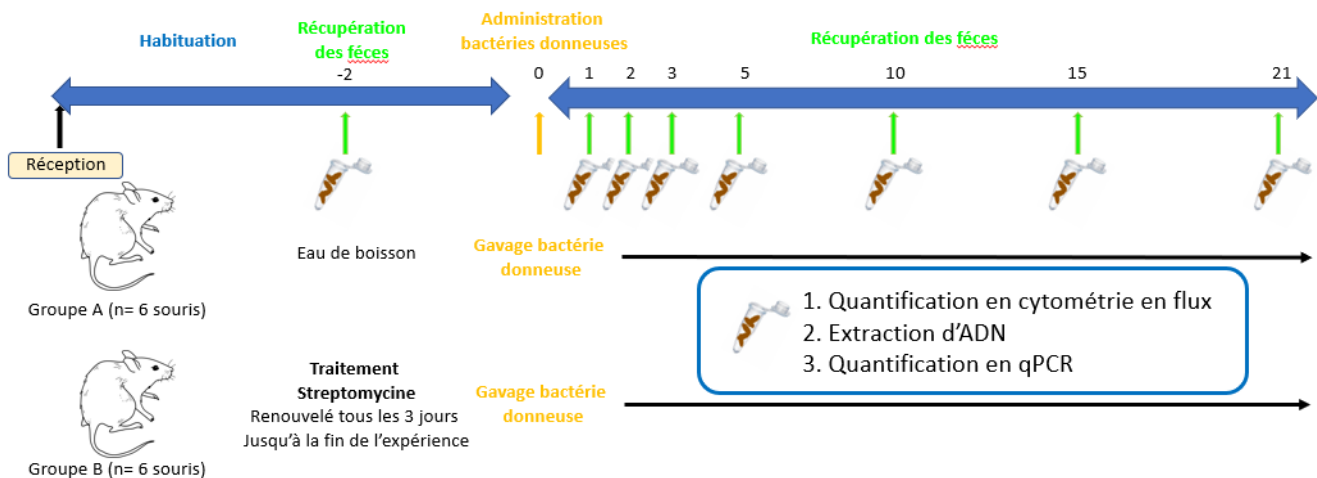


Figure 24. Phase de validation de l'implantation de la souche bactérienne donneuse au sein du microbiote intestinal murin en présence ou non de streptomycine.

Détection des EGM par l'approche de cytométrie en flux

Les manipulations seront réalisées sur la plateforme UMS2008/US40 IBSLOR de l'Université de Lorraine. Cette approche de cytométrie en flux permet de détecter des bactéries

porteuses du plasmide pB10::*gfp* ou pB10::*rfp* directement dans les fèces de souris, et a déjà été testée dans une collaboration antérieure SIMPA/LCPME (12). Au cours de ces premiers tests, nous avons réussi à détecter et quantifier de façon fiable le plasmide pB10 de la souche DH5 α dans les fèces de souris (**Figure 25**). Les résultats obtenus, confirmés en qPCR (cf § suivant), montrent bien une disparition de l'EGM et donc de la donneuse à partir du 5^{ème} jour suivant l'inoculation et donc une absence d'implantation de l'*E. coli* DH5 α .

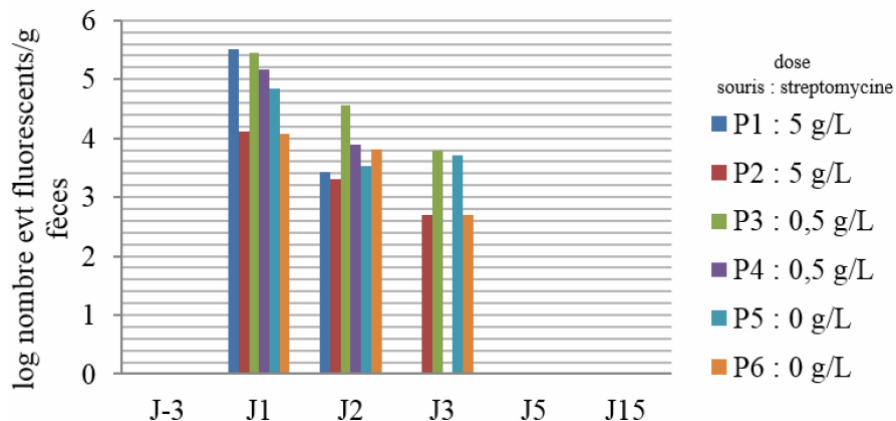


Figure 25. Suivi du nombre d'évènements fluorescents par gramme de fèces à différents jours après inoculation d'*E. coli* DH5 α pB10::*gfp* (cytomètre en flux FACSCalibur).

Nous avons également réussi à quantifier le marquage chromosomique (GFP) de la souche *E. coli* Δ *fli* pB10::*rfp* et avons observé une persistance de la donneuse à J15 dans le MI murin. Ceci confirme une capacité d'implantation d'*E. coli* Δ *fli* dans le MI murin. Cependant, le marquage plasmidique par la RFP n'avait pu être détecté à l'époque, très probablement en lien avec la longueur d'onde du laser Argon du FACSCalibur qui n'était pas adaptée au fluorophore utilisé.

Dans le cadre du M2 de Safa Ben Brahim réalisé en 2023, nous venons de confirmer que le changement de cytomètre (utilisation du cytomètre Celesta de l'IBSLOR) permet bien de détecter le pB10::*rfp*. Nous sommes en train d'optimiser les étapes de détection de la souche d'*E. coli* Δ *fli* marquée chromosomiquement et plasmidiquement qui sera ainsi utilisée dans l'approche expérimentale de validation de la détection/quantification des HGT (cf § précédent). La cytométrie en flux nous permettra de quantifier dans les fèces murines à la fois les donneuses (présentant le double marquage chromosomique et plasmidique) des transconjugants (marquage plasmidique seul). L'utilisation d'un cytomètre trieur nous permettra ensuite de séparer les bactéries en fonction de leur fluorescence, récupérant ainsi les transconjugants qui seront alors identifiés taxonomiquement par séquençage de leur ADN ribosomique 16S.

Détection des EGM par l'approche de qPCR

L'extraction et la purification de l'ADN bactérien à partir des fèces murines seront réalisées selon un protocole préalablement optimisé [Publication 26]. L'abondance de la souche donneuse et de son EGM sera quantifiée par qPCR. Il s'agit d'utiliser des jeux d'amorces/sondes spécifiques du chromosome de la bactérie donneuse et de son EGM pour une quantification par qPCR à partir d'extraits d'ADN totaux de communauté. En se basant sur le principe que le nombre de copies d'un EGM donné est constant pour une souche donnée, le ratio EGM/donneuse reste stable dans le temps à moins qu'un ou plusieurs évènements de transferts n'aient eu lieu (le transfert conjugal est un mécanisme répliatif). Cette approche a déjà été utilisée pour explorer le transfert du

plasmide pB10 à partir d'*E. coli* DH5 α dans des boues de stations d'épuration, des lisiers, des sédiments de rivières et a déjà été adaptée au modèle souris dans notre laboratoire avec succès (5,12). Ces premiers résultats ont conforté ceux obtenus en cytométrie en flux : i) absence d'implantation de la souche *E. coli* DH5 α (**Figure 26**), ii) persistance de la souche *E. coli* Δ *fli* dans le MI à J15. En comparaison à la cytométrie, l'approche de qPCR a montré qu'il n'y avait pas d'augmentation du ratio entre le nombre de copies de plasmide pB10 et le nombre de copies du chromosome de la donneuse Δ *fli*, ceci suggérant une absence de transfert du plasmide dans les conditions employées.

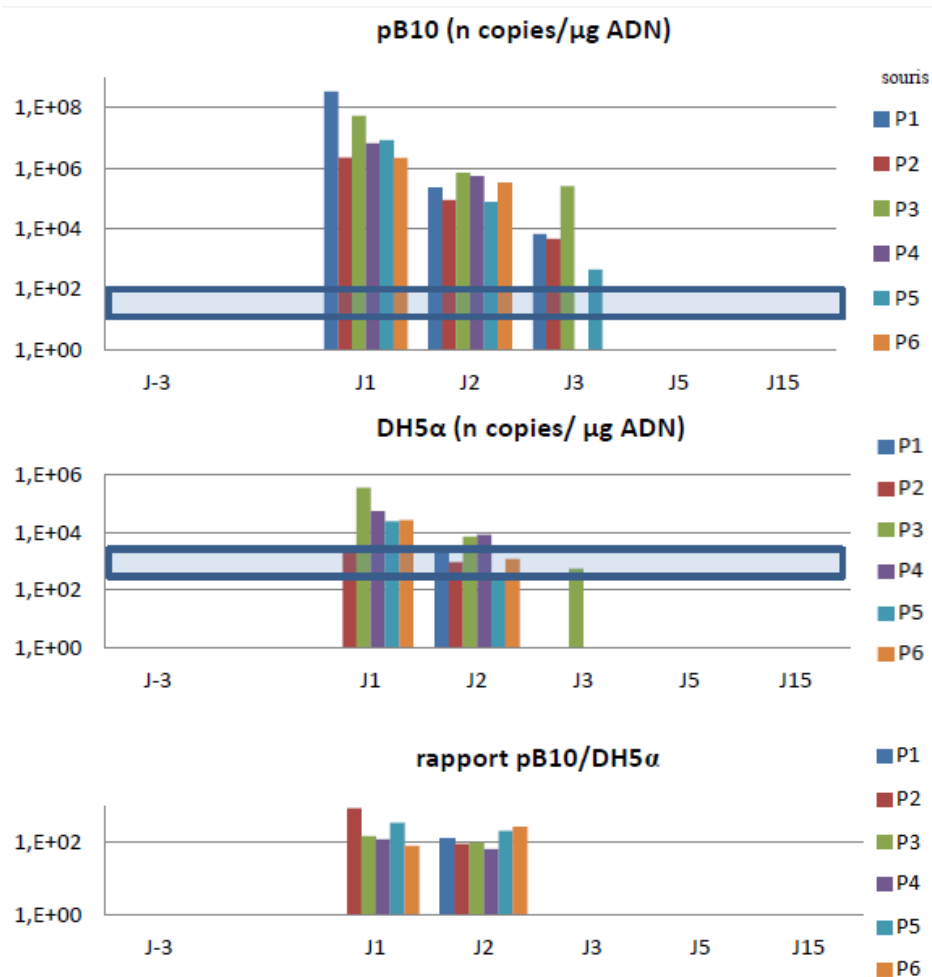


Figure 26. Evolution des quantités de plasmides pB10 et de bactéries DH5 α par qPCR et du ratio de ces deux quantités, dans des ADN totaux de fèces de souris inoculées (P1 à P6). Chaque point représente une moyenne de 2 valeurs (un échantillon analysé en duplicat en qPCR). La zone bleue définie sur les graphiques correspond à la zone d'incertitude de détection (perte de proportionnalité entre le nombre de copies d'ADN cible réellement présentes et le nombre de copies détectées par qPCR).

Ces résultats préliminaires montrent que la détection *a minima* des bactéries donneuses est possible par les deux approches utilisées (qPCR et cytométrie en flux), chacune apportant des réponses différentes, suggérant l'intérêt d'utiliser ces 2 approches en parallèle. Ils confirment qu'après inoculation par voie orale, le plasmide et sa bactérie vectrice restent détectables dans les fèces pendant 2-3 jours pour la souche DH5 α alors qu'ils persistent dans le MI pour la souche Δ *fli*. Pour le moment, les paramètres utilisés n'ont pas permis de détecter de transfert du plasmide pB10 vers les bactéries indigènes et les expériences prévues permettront de tester d'autres paramètres.

Nous avons par ailleurs pour objectif de comparer les performances de la qPCR à celles de la PCR digitale (ddPCR) dans la quantification des événements rares dans le MI murin afin d'évaluer si cette dernière approche ne pourrait pas être plus informative.

L'optimisation d'un tel modèle permettra pour la première fois d'explorer la faisabilité d'un modèle expérimental de détection des transferts de gènes vers l'ensemble du microbiote intestinal murin, et non pas en se limitant à un type de bactéries receveuses ou à des modèles murins gnotobiotiques. L'objectif à moyen terme est d'utiliser ce modèle animal optimisé afin d'évaluer l'impact d'un stress chronique sur les événements de transfert génétique dans le microbiote intestinal, en s'intéressant plus particulièrement à la dissémination des ARGs.

Modèle animal de stress

Nous souhaitons utiliser le modèle de stress socio-environnemental chronique modéré CUMS que nous avons déjà testé lors d'une collaboration avec l'équipe INSERM U1266, Université de Paris [Publication 53]. Il consiste en un enchaînement durant 3 semaines de différents stress de façon aléatoire, afin de limiter l'habituation des animaux, selon un schéma bien défini par le protocole de Pardon *et al.* (**Tableau 2**) (22).

Tableau 2. Protocole des différents stress appliqués dans le cadre du CUMS

	Matin (1 heure)	Après midi (2 heures)	Nuit
	10h=>11h	13h30=>15h30	18h à 8h
Lundi		Inclinaison de la cage (2h)	Inversion de cage
Mardi	Confinement (de 1h)	Cohabitation (2h)	Inclinaison de la cage
Mercredi	Eclairage nocturne		Litière humide
Jeudi	Boite sans litière (1h)	Cohabitation (2h)	Privation de nourriture
Vendredi	Confinement (1h)	Inclinaison de la cage (2h)	
Week end	Inversion du cycle d'éclairage		

Ce modèle murin mime une répétition de contrariétés de la vie quotidienne, correspondant à un état de stress chronique d'intensité faible à modérée chez l'humain. Il a été développé et est utilisé par de nombreuses équipes pour évaluer l'impact du stress sur des fonctions physiologiques ou proposer des contre-mesures à l'anxiété et/ou la dépression.

Une première étape d'implantation du modèle CUMS par l'UR 7300 au sein de l'animalerie est en cours. Comme dans le modèle précédent, nous utiliserons des souris C57BL/6 mâles âgées de 8 semaines, avec MI natif. Elles seront élevées dans des cages individuelles dans des armoires ventilées au sein de la zone EOPS de l'ACBS. Nous testerons 4 groupes de 12 souris (**Figure 27**). Cette approche expérimentale nous permettra d'une part de valider que le protocole appliqué aux souris génère bien un stress significativement quantifiable par des tests comportementaux, et d'autre part si l'administration de streptomycine (utilisée pour libérer une niche écologique dans l'intestin pour favoriser l'implantation de la souche bactérienne donneuse) impacte le comportement des souris, et pourrait donc venir biaiser les résultats.

Toutes les expérimentations animales seront conduites dans le respect de la réglementation et ce projet a déjà fait l'objet d'une saisine acceptée par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et

de la Recherche (sous le numéro APAFIS #36066-2022041915367986). Il a par ailleurs reçu un avis favorable du comité d'éthique en expérimentation animale n°066.

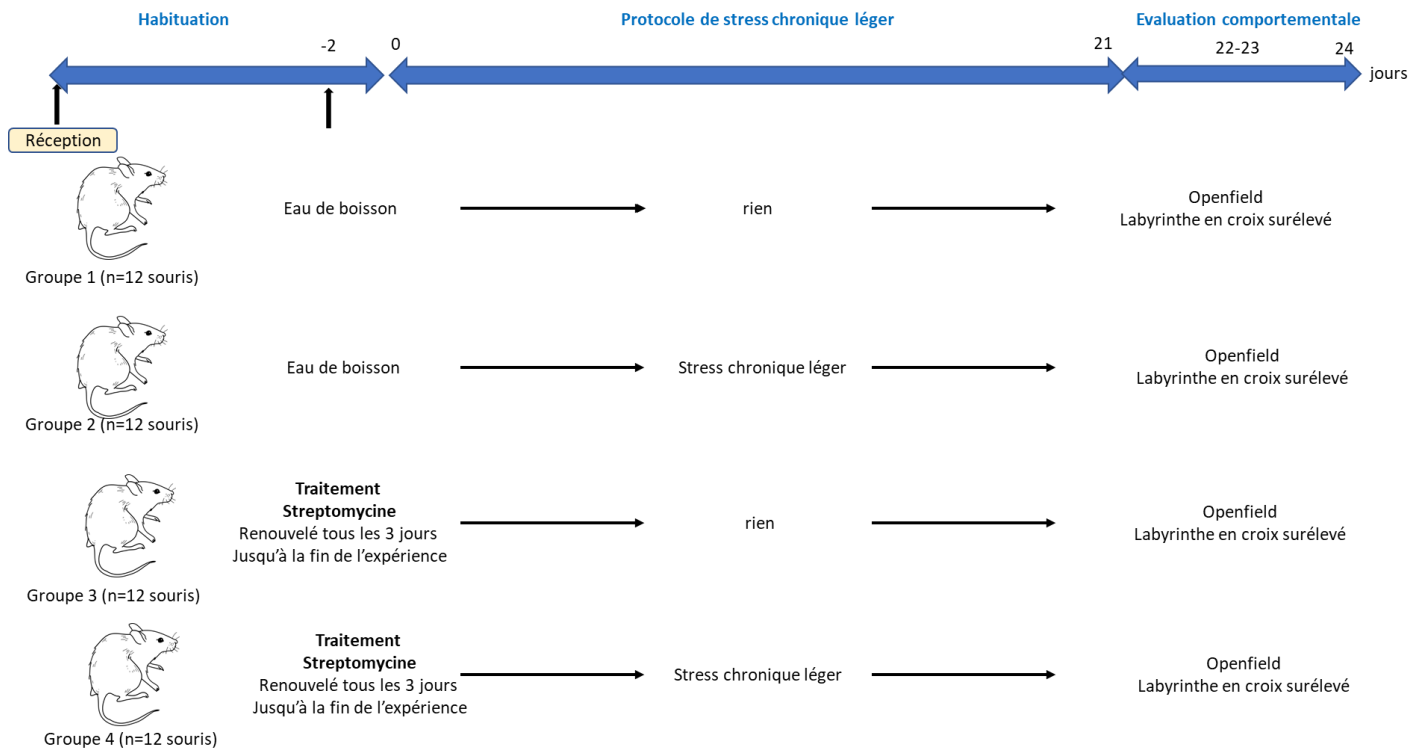


Figure 27. Protocole de validation des effets de la procédure de stress chronique modéré et de l'innocuité de la streptomycine sur la réponse au stress.

Evaluation de l'impact du CUMS et de la streptomycine sur le MI

Afin de valider notre modèle, nous évaluerons également différents paramètres illustrant la composition du MI afin d'évaluer d'une part si l'on retrouve bien les modifications de microbiote déjà décrites [Publication 53], et d'autre part, si l'utilisation de streptomycine vient modifier de façon significative l'équilibre du MI. Pour cela, nous évaluerons pour chaque souris (N=48) la charge bactérienne (nombre de copies d'ADNr 16S par gramme de fèces) ainsi que l'abondance relative fécale des 2 phyla intestinaux majeurs (*Firmicutes* et *Bacteroidetes*) par qPCR, à J-2 ainsi qu'à J21 du CUMS, selon des protocoles déjà en place au laboratoire [Publications 26, 48 et 53].

Projet de recherche à moyen terme : évaluation de l'impact du stress sur la dissémination de l'antibiorésistance

Ce projet, et donc l'axe que je porte au sein de l'unité concernant l'évaluation de l'impact d'un stress de l'hôte sur la dissémination de la résistance aux antibiotiques au sein du microbiote, fait partie du projet global du laboratoire et a été affiché dans le projet de l'UR 7300 présenté à l'hCERES lors de la campagne 2022-2023.

Une fois le modèle de détection des HGT au sein du microbiote intestinal optimisé et le modèle CUMS validé, nous appliquerons ce stress aux souris inoculées avec les différentes souches porteuses d'EGM :

- *E. coli* DH5 α (RFP chromosomique + pB10::*gfp*) représentant une donneuse d'un EGM naturel présentant de bonnes capacités de transfert à partir du microbiote transitoire
- *E. coli* Δ *fli* (GFP chromosomique + pB10::*rfp*) représentant une donneuse d'un EGM naturel présentant de bonnes capacités de transfert à partir du microbiote résident
- *Enterococcus faecalis* V583 (Δ *glnA* + Tn916) représentant une donneuse d'un EGM dont le transfert est inducible à concentration sub-inhibitrice de tétracycline.

Le protocole expérimental envisagé est présenté dans la **Figure 28**, en faisant varier la souche donneuse. Les techniques utilisées pour détecter et quantifier les donneuses et les transconjugants seront les mêmes que celles présentées précédemment (qPCR ou ddPCR et cytométrie en flux). Un cytomètre Trieur Astrios est disponible sur la plateforme IBSLOR du Campus Biologie Santé. Une approche d'identification des transconjugants par EPIC-PCR (Emulsion Paired Isolation and Concatenation PCR) pourra également être envisagée en cas d'échec du tri par cytométrie.

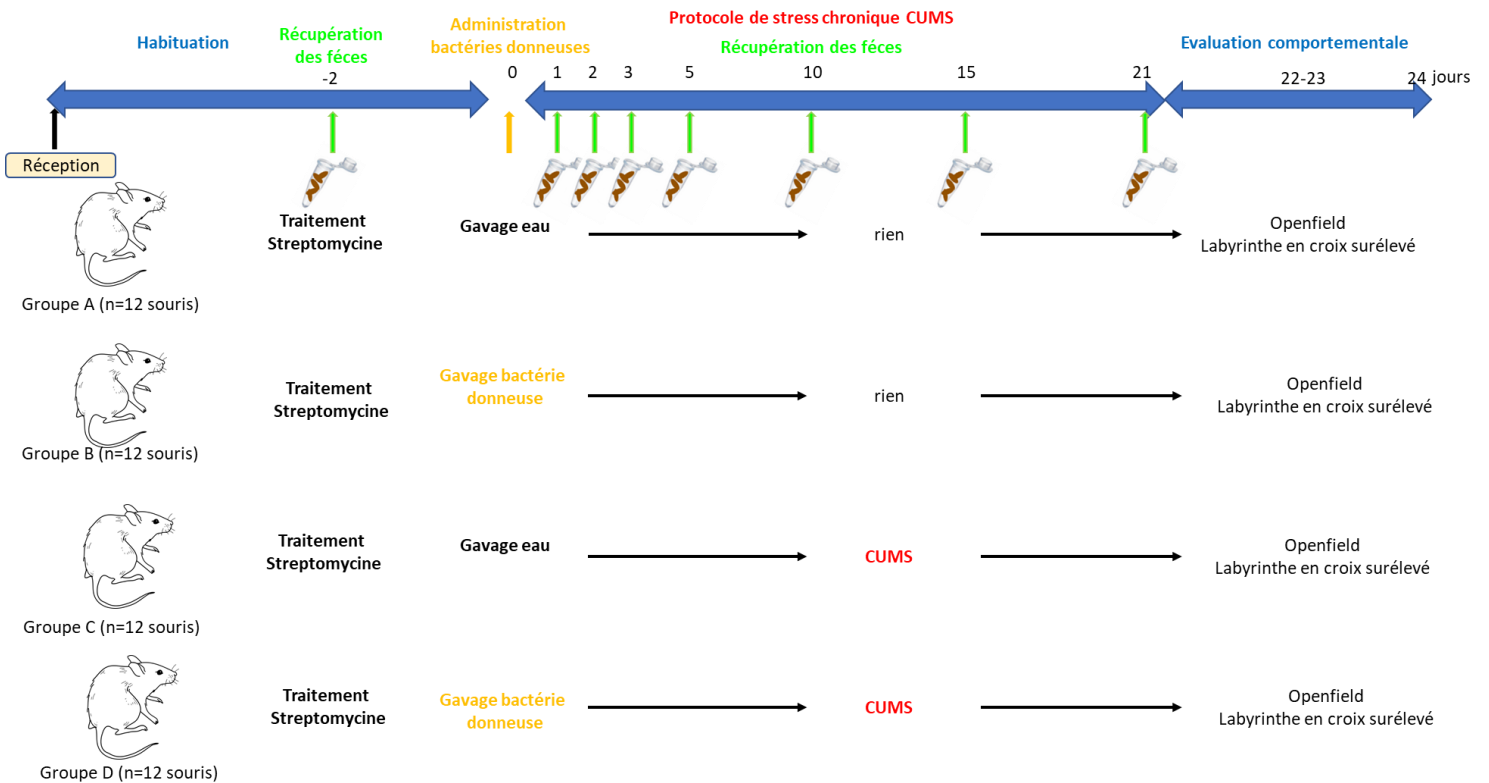


Figure 28. Protocole d'évaluation des effets de la procédure de stress chronique CUMS sur le transfert d'ARGs au sein du microbiote intestinal murin.

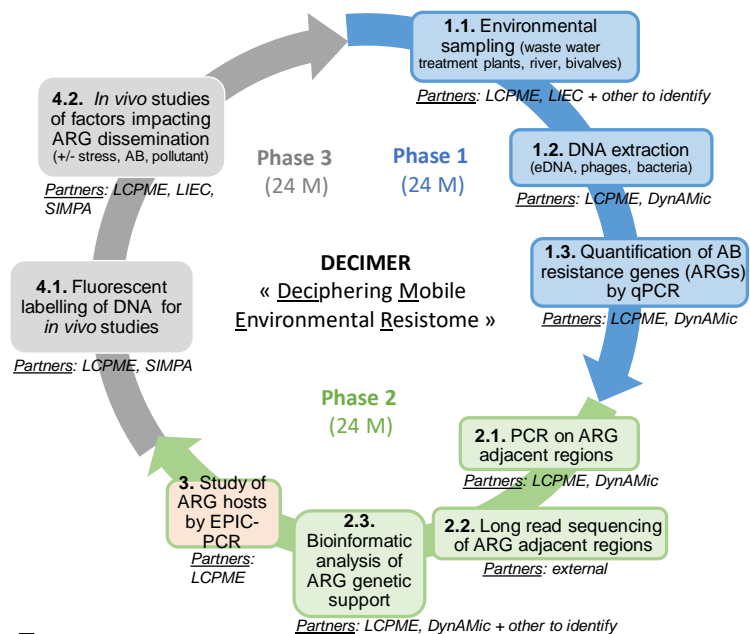
Par ailleurs, les modifications de composition du MI liées au stress ou à la pression de sélection antibiotique peuvent également venir impacter les HGT. Nous évaluerons donc en parallèle la composition du MI des souris, stressées ou non, soumises à l'antibiotique ou non, par une approche de metabarcoding par séquençage haut débit des gènes de l'ARN ribosomique 16S.

Ces expérimentations feront l'objet d'au moins un projet de thèse d'Université qui s'articulera autour de trois questions complémentaires : **i) dans quelle mesure la déstabilisation du MI par le stress de l'hôte favorise les événements de transferts d'ARGs ?**, **ii) quelle est la contribution de la nature de la souche bactérienne véhiculant l'EGM vecteur d'antibiorésistance dans ces phénomènes d'HGT ?**, et **iii) comment se positionne l'effet « stress de l'hôte » par rapport à une pression de sélection antibiotique sur la fréquence des HGT ?**

Pour mener à bien ce projet, nous présenterons plusieurs demandes de bourses, notamment auprès de l'Université de Lorraine, dans le cadre des différents appels d'offres paraissant chaque année. Nous avons d'ores et déjà un financement de thèse prévu sous la forme d'un poste d'Assistant Hospitalo-Universitaire au sein du service de Microbiologie du Pr Lozniewski pour Safa Ben Brahim qui débiterait sa thèse en 2024-2025.

Par ailleurs, notre projet s'inscrit dans les enjeux globaux de la santé au XXI^e siècle, y compris l'approche systémique « One Health » si l'on considère que l'intestin est à la fois le réacteur qui promeut l'adaptation bactérienne aux antibiotiques mais aussi le réservoir principal qui contamine l'environnement. Il pose la question de **l'effet du stress de l'hôte sur la dissémination de l'antibiorésistance dans le MI, effet qui sera comparé à des paramètres connus pour influencer les HGT (stimulation et sélection par antibiotiques, EGM, nature de la souche donneuse)**. C'est dans le cadre de cette approche « One Health » que nous participons depuis 2019 à une réflexion locale collective sur le développement et l'évaluation de stratégies de lutte contre la résistance aux antibiotiques et sa dissémination. Cette réflexion a amené un collectif de 15 Unités de recherche lorraines, dont l'UR 7300, rattachées à 8 pôles scientifiques de l'UL à proposer une structuration de nos efforts de recherche.

Cette structuration nous a mené à présenter un projet commun impliquant l'ensemble des partenaires dont les objectifs principaux seraient d'une part d'évaluer l'occurrence des ARGs posant problème en thérapeutique humaine dans l'eau et d'identifier les différents vecteurs de leur dissémination ainsi que leurs hôtes bactériens, et d'autre part d'identifier les facteurs environnementaux participant à la dissémination des ARGs dans des modèles *in vivo/in situ* (**Figure 29**). Il s'agit du projet IMPACT LUE AntiBioRésistance qui est actuellement en cours d'expertise.



F

Figure 29. Schématisation des différentes phases et tâches du projet DECIMER ainsi que de l'implication des différents partenaires.

Notre modèle de détection des HGT au sein du microbiote murin prend toute sa place au sein de ce projet. Nous avons d'ores et déjà obtenu le financement d'un stage de M2 afin de réaliser une première étape de l'expérimentation animale.

Nous avons également répondu à l'Appel à Projets Contrats Doctoraux 2024 du Pôle BMS afin d'obtenir un financement de thèse sur ce projet.

Projet de recherche à long terme : étude mécanistique des voies impliquées dans la stimulation des transferts d'ARGs induite par le stress et évaluation de contre-mesures

L'émergence et la dissémination des ARGs sont des phénomènes inéluctables, liés à l'évolution des bactéries sous la pression antibiotique. Cependant, le mésusage des antibiotiques, associé à un tarissement des innovations dans la découverte de nouvelles molécules, pourrait nous faire basculer à plus ou moins long terme dans un monde se rapprochant de l'ère pré-antibiotique (34). La compréhension des mécanismes d'émergence et de dissémination des résistances aux antibiotiques chez les bactéries impliquées en pathologie humaine nécessite de caractériser le réservoir commensal de résistance ainsi que l'impact de facteurs extérieurs tels que le stress de l'hôte sur la diffusion des marqueurs de cette résistance.

Dans le cas où une stimulation des HGT liée au stress est observée, nous envisagerons à long terme de caractériser les voies impliquées. Pour cela, je souhaiterai mettre en place d'autres modèles murins qui nous permettraient d'explorer les voies de signalisation du stress en utilisant par exemples des antagonistes α 2-adrénergiques, tels que la mirtazapine ou la miansérine. D'autres approches génomique et/ou fonctionnelles seront également à prévoir pour identifier le récepteur adrénergique. En plus du récepteur QseC et apparentés décrit chez les entérobactéries, deux nouveaux récepteurs adrénergiques putatifs viennent d'être identifiés chez *Cutibacterium acnes* et chez *E. faecalis* (6).

Ces pistes de recherche envisagées s'inscrivent en partie dans le cadre de ma mobilité. J'envisage celle-ci au sein du centre de recherche irlandais APC Microbiome Ireland de l'Université de Cork. Il s'agit d'un centre trans-disciplinaire qui est un des grands centres mondiaux reconnus dans la recherche sur le microbiote et son influence sur la santé de l'hôte. Je suis particulièrement intéressée par les travaux de John Cryan, Siobhain O'Mahony et Timothy Dinan sur les interactions stress/microbiote intestinal au sein de l'axe intestin-cerveau. Depuis plusieurs années, leurs travaux sont précurseurs et ils ont notamment montré récemment qu'un agoniste du récepteur β 3-adrénergique améliorait l'hypersensibilité viscérale induite par le stress chez le rat (10). Je souhaiterai mettre en place une collaboration avec eux pour tester l'impact du stress sur les HGT dans d'autres modèles de rongeurs, notamment le stress de séparation maternelle qui représente un modèle d'"early-life stress" qui impacte non seulement le microbiote intestinal mais aussi le système immunitaire et est associé à l'âge adulte au développement de certaines pathologies inflammatoires (19).

L'obtention de mon HDR ainsi que la validation de ma mobilité me permettront de postuler sur un poste de PU-PH au laboratoire de bactériologie du CHRU de Nancy et de l'Université de Lorraine, poste qui se retrouvera vacant suite au départ en retraite du Pr Alain Lozniewski en 2028.

Ces données permettront d'apporter un éclairage sur le rôle des facteurs liés au stress dans l'adaptation et l'évolution de l'écosystème digestif et notamment la mobilisation des ARGs au sein du réservoir intestinal, ouvrant ainsi de nouvelles pistes de réflexion quant à la lutte contre la résistance aux antibiotiques.

Il serait en effet envisageable d'utiliser ces différents modèles pour valider l'utilisation d'approches dites psychobiotiques (4) en lien avec l'alimentation ou la prise de probiotiques pour moduler l'impact du stress sur l'axe intestin-cerveau et indirectement sur la dissémination des ARGs.

Bibliographie du projet de recherche expérimentale

1. Akcali A, Huck O, Buduneli N, Davideau JL, Köse T, Tenenbaum H. Exposure of *Porphyromonas gingivalis* to cortisol increases bacterial growth. *Arch Oral Biol.* 2014 Jan;59(1):30-4.
2. Aminov RI. Horizontal gene exchange in environmental microbiota. *Front Microbiol.* 2011 Jul 26;2:158.
3. Baltazar M, Bourgeois-Nicolaos N, Larroude M, Couet W, Uwajenezza S, Doucet-Populaire F, Ploy MC, Da Re S. Activation of class 1 integron integrase is promoted in the intestinal environment. *PLoS Genet.* 2022 Apr 28;18(4):e1010177.
4. Berding K, Bastiaanssen TFS, Moloney GM, Boscaini S, Strain CR, Anesi A, Long-Smith C, Mattivi F, Stanton C, Clarke G, Dinan TG, Cryan JF. Feed your microbes to deal with stress: a psychobiotic diet impacts microbial stability and perceived stress in a healthy adult population. *Mol Psychiatry.* 2023 Feb;28(2):601-610.
5. Bonot S. Persistance et dissémination du plasmide pB10, vecteur de gènes de résistance aux antibiotiques, dans des biomasses issues de stations d'épuration d'eaux usées urbaines. Thèse de l'Université de Lorraine, Nancy. 2010.
6. Boukerb AM, Cambronel M, Rodrigues S, Mesguida O, Knowlton R, Feuilloley MGJ, Zommiti M, Connil N. Inter-Kingdom Signaling of Stress Hormones: Sensing, Transport and Modulation of Bacterial Physiology. *Front Microbiol.* 2021 Oct 6;12:690942.
7. Boyanova L. Stress hormone epinephrine (adrenaline) and norepinephrine (noradrenaline) effects on the anaerobic bacteria. *Anaerobe.* 2017 Apr;44:13-19.
8. Chart H, Smith HR, La Ragione RM, Woodward MJ. An investigation into the pathogenic properties of *Escherichia coli* strains BLR, BL21, DH5alpha and EQ1. *J Appl Microbiol.* 2000 Dec;89(6):1048-58.
9. Collineau L, Bourély C, Rousset L, Berger-Carbonne A, Ploy MC, Pulcini C, Colomb-Cotinat M. Towards One Health surveillance of antibiotic resistance: characterisation and mapping of existing programmes in humans, animals, food and the environment in France, 2021. *Euro Surveill.* 2023 Jun;28(22):2200804.
10. Collins JM, Hyland NP, Clarke G, Fitzgerald P, Julio-Pieper M, Bulmer DC, Dinan TG, Cryan JF, O'Mahony SM. Beta 3-adrenoceptor agonism ameliorates early-life stress-induced visceral hypersensitivity in male rats. *J Neurochem.* 2023 Mar 12.
11. Scornec H, Bellanger X, Guilletoau H, Groshenry G, Merlin C. Inducibility of Tn916 conjugative transfer in *Enterococcus faecalis* by subinhibitory concentrations of ribosome-targeting antibiotics. *J Antimicrob Chemother.* 2017 Oct 1;72(10):2722-2728.
12. De Gelder L, Vandecasteele FP, Brown CJ, Forney LJ, Top EM. Plasmid donor affects host range of promiscuous IncP-1beta plasmid pB10 in an activated-sludge microbial community. *Appl Environ Microbiol.* 2005 Sep;71(9):5309-17.
13. Duda-Ferrand J. Mise en place d'un protocole de détection de transfert d'un plasmide au sein du microbiote intestinal murin. Thèse de médecine. Université de Lorraine. 2013.
14. Gauger EJ, Leatham MP, Mercado-Lubo R, Laux DC, Conway T, Cohen PS. Role of motility and the *flhDC* Operon in *Escherichia coli* MG1655 colonization of the mouse intestine. *Infect Immun.* 2007 Jul;75(7):3315-24.
15. GBD 2019 Meningitis Antimicrobial Resistance Collaborators. Global, regional, and national burden of meningitis and its aetiologies, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Neurol.* 2023 Aug;22(8):685-711.
16. Lerner A, Matthias T, Aminov R. Potential Effects of Horizontal Gene Exchange in the Human Gut. *Front Immunol.* 2017 Nov 27;8:1630.
17. Liu W, Huang Y, Zhang H, Liu Z, Huan Q, Xiao X, Wang Z. Factors and Mechanisms Influencing Conjugation In Vivo in the Gastrointestinal Tract Environment: A Review. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar 21;24(6):5919.
18. Lyte M. Microbial endocrinology: Host-microbiota neuroendocrine interactions influencing brain and behavior. *Gut Microbes.* 2014 May-Jun;5(3):381-9.
19. McInnes RS, McCallum GE, Lamberte LE, van Schaik W. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human gut microbiome. *Curr Opin Microbiol.* 2020 Feb;53:35-43.
20. McVey Neufeld KA, Strain CR, Pusceddu MM, Waworuntu RV, Manurung S, Gross G, Moloney G, Hoban AE, Murphy K, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF, O'Mahony SM. *Lactobacillus rhamnosus* GG soluble mediators ameliorate early life stress-induced visceral hypersensitivity and changes

- in spinal cord gene expression. *Neuronal Signal*. 2020 Nov 23;4(4):NS20200007.
21. Merlin C, Bonot S, Courtois S, Block JC. Persistence and dissemination of the multiple-antibiotic-resistance plasmid pB10 in the microbial communities of wastewater sludge microcosms. *Water Res*. 2011 Apr;45(9):2897-905.
 22. O'Neill J. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. *J. Review on Antimicrobial Resistance*. 2014.
 23. Pardon MC, Pérez-Díaz F, Joubert C, Cohen-Salmon C. Influence of a chronic ultramild stress procedure on decision-making in mice. *J Psychiatry Neurosci*. 2000 Mar;25(2):167-77.
 24. Peterson G, Kumar A, Gart E, Narayanan S. Catecholamines increase conjugative gene transfer between enteric bacteria. *Microb Pathog*. 2011 Jul-Aug;51(1-2):1-8.
 25. Ruppé E, Ghoulane A, Tap J, Pons N, Alvarez AS, Maziers N, Cuesta T, Hernando-Amado S, Clares I, Martínez JL, Coque TM, Baquero F, Lanza VF, Máiz L, Goulenok T, de Lastours V, Amor N, Fantin B, Wieder I, Andreumont A, van Schaik W, Rogers M, Zhang X, Willems RJJ, de Brevern AG, Batto JM, Blottière HM, Léonard P, Lédard V, Letur A, Levenez F, Weiszer K, Haimet F, Doré J, Kennedy SP, Ehrlich SD. Prediction of the intestinal resistome by a three-dimensional structure-based method. *Nat Microbiol*. 2019 Jan;4(1):112-123.
 26. Salyers AA, Gupta A, Wang Y. Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends Microbiol*. 2004 Sep;12(9):412-6.
 27. Schjørring S, Krogfelt KA. Assessment of bacterial antibiotic resistance transfer in the gut. *Int J Microbiol*. 2011;2011:312956.
 28. Schlüter A, Heuer H, Szczepanowski R, Forney LJ, Thomas CM, Pühler A, Top EM. The 64 508 bp IncP-1beta antibiotic multiresistance plasmid pB10 isolated from a waste-water treatment plant provides evidence for recombination between members of different branches of the IncP-1beta group. *Microbiology (Reading)*. 2003 Nov;149(Pt 11):3139-3153.
 29. Shoemaker NB, Vlamakis H, Hayes K, Salyers AA. Evidence for extensive resistance gene transfer among *Bacteroides* spp. and among *Bacteroides* and other genera in the human colon. *Appl Environ Microbiol*. 2001 Feb;67(2):561-8.
 30. Sommer MOA, Dantas G, Church GM. Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora. *Science*. 2009 Aug 28;325(5944):1128-1131.
 31. Sommer MO, Dantas G. Antibiotics and the resistant microbiome. *Curr Opin Microbiol*. 2011 Oct;14(5):556-63.
 32. Sørensen SJ, Bailey M, Hansen LH, Kroer N, Wuertz S. Studying plasmid horizontal transfer in situ: a critical review. *Nat Rev Microbiol*. 2005 Sep;3(9):700-10.
 33. Veith N, Solheim M, van Grinsven KW, Olivier BG, Levering J, Grosseholz R, Hugenholtz J, Holo H, Nes I, Teusink B, Kummer U. Using a genome-scale metabolic model of *Enterococcus faecalis* V583 to assess amino acid uptake and its impact on central metabolism. *Appl Environ Microbiol*. 2015 Mar;81(5):1622-33.
 34. Woegerbauer M, Bellanger X, Merlin C. Cell-Free DNA: An Underestimated Source of Antibiotic Resistance Gene Dissemination at the Interface Between Human Activities and Downstream Environments in the Context of Wastewater Reuse. *Front Microbiol*. 2020 Apr 21;11:671.
 35. Zeng X, Lin J. Factors influencing horizontal gene transfer in the intestine. *Anim Health Res Rev*. 2017 Dec;18(2):153-159.



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE

BioSE



Impact du stress de l'hôte sur la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques au sein du microbiote intestinal

Corentine ALAUZET

La lutte contre l'émergence et la dissémination des résistances aux antibiotiques représente un des plus grands défis de l'humanité pour les années à venir. En effet, les scénarios les plus alarmants prédisent que les infections impliquant des bactéries résistantes aux antibiotiques deviendront la première cause de mortalité à l'horizon 2050. Le microbiote intestinal humain et animal représente à la fois un réservoir majeur de gènes de résistance aux antibiotiques ainsi qu'un environnement a priori extrêmement favorable à la dissémination de cette résistance. Sur la base de résultats obtenus *in vitro*, il a été suggéré que des molécules de stress présentes dans l'intestin, les catécholamines, pourraient augmenter la fréquence de conjugaison inter-bactérienne et de ce fait les transferts de gènes de résistance aux antibiotiques au sein du microbiote intestinal. Nos objectifs sont donc dans un premier temps de mettre en place un modèle murin innovant permettant de détecter et quantifier des événements de transferts plasmidiques au sein du microbiote intestinal natif afin, dans un second temps, d'évaluer *in vivo* l'impact d'un stress chronique sur la fréquence de ces transferts. Les voies moléculaires impliquées seront alors ensuite explorées. Les résultats obtenus permettront de mieux comprendre les mécanismes d'émergence et de dissémination des résistances aux antibiotiques chez les bactéries impliquées en pathologie humaine et d'envisager des contremesures à cette dissémination.

According to recent predictions, controlling the dissemination of antibiotic resistance may become one of the biggest health challenges faced by mankind in the coming years. Worse case scenarios are already predicting 10 million annual deaths on earth by 2050 because of our inability to treat bacterial infectious diseases that were formerly curable. Interestingly, the gut microbiota represents a major reservoir of antibiotic resistance genes as well as an extremely favorable environment for horizontal gene transfers between bacteria. An *in vitro* study has shown that stress mediators released in the intestinal lumen, such as norepinephrine, stimulate the transfer of a conjugative plasmid between enterobacteria, participating to the dissemination of antibiotic resistance. The difficulty of evaluating this phenomenon *in vivo* within the microbiota lies mainly in the ability to detect all the resistance gene transfer events that can occur in this complex ecosystem. Our project is to develop a model for detecting and quantifying such transfers in the native murine gut that could be used to evaluate the influence of chronic stress on their frequency. Molecular pathways involved will be then explored. The results obtained will lead to a better understanding of the mechanisms of emergence and dissemination of antibiotic resistance in bacteria involved in human pathology, as well as consider countermeasures against the stress-induced dissemination.