

Thèse de l'Université Denis Diderot - Paris 7 (ED157) soutenue par

Nathalie Grall

le 30/09/2015:

**Directeur de thèse : Antoine Andremont**

## **Emergence, dissémination et contrôle de la résistance aux $\beta$ -lactamines dans le microbiote intestinal**

### **RESUME**

La résistance aux antibiotiques a atteint un niveau inquiétant dans un contexte de baisse constante de la mise sur le marché de nouvelles molécules. Le microbiote intestinal joue un rôle majeur dans l'émergence et la dissémination de cette résistance, mais les mécanismes impliqués ne sont pas tous élucidés. Dans ce travail de thèse, nous avons sommes concentrés sur l'impact des  $\beta$ -lactamines, classe d'antibiotique la plus couramment utilisée, sur ce microbiote. Nous nous sommes tout d'abord intéressés aux modifications du microbiote induites par l'imipénème, antibiotique de dernier recours, chez des patients multi-traités et au microbiote déjà altéré. Dans ces conditions, les altérations supplémentaires du microbiote sont difficile à mettre en évidence tant par culture que par métagénomique. Cet antibiotique, dont l'élimination fécale est certes faible, est pourtant reconnu comme un facteur de risque d'infection à bactéries résistantes. Ce travail montre les limites des méthodes actuelles de caractérisation des microbiotes, dont la sensibilité et la profondeur d'analyse restent à améliorer. Une autre question mal étudiée est la dissémination de la résistance en l'absence de pression de sélection. Nous avons étudié cela de façon quantitative dans des conditions naturelle, en piégeant de petits mammifères sauvages à diverses distances d'un point unique d'utilisation d'antibiotiques dans un village isolé de forêt amazonienne. Nos résultats ont montré que la résistance acquise aux  $\beta$ -lactamines ne dissémine pas dans la nature en l'absence de pression de sélection, ce qui représente une forte incitation à contrôler la diffusion des antibiotiques dans l'environnement. Enfin, nous avons montré qu'il était possible de minimiser l'impact des antibiotiques sur le microbiote intestinal, en inactivant par adsorption les résidus antibiotiques présents dans le colon. Cette stratégie a en effet permis de restaurer partiellement la résistance à la colonisation par une souche de *Klebsiella pneumoniae* résistante au céfotaxime chez des souris traitées par céfotaxime. Au total, notre travail a clarifié plusieurs aspects de l'impact des  $\beta$ -lactamines sur le microbiote intestinal et a ouvert une voie innovante de prévention de celui-ci, qui demande à être explorée plus avant.

**Mots clés :**  $\beta$ -lactamines, microbiote intestinal, résistance aux antibiotiques, pression de sélection, résistance à la colonisation

### **SUMMARY**

Antibiotic resistance has reached a worrying level in a context of continual decline in the marketing of new molecules. The intestinal microbiota plays a major role in the emergence and spread of resistance, but the mechanisms involved are not all understood. In the present work, we focused on the impact of  $\beta$ -lactams, the most commonly used class of antibiotic, on this microbiota. First we investigated the changes induced by imipenem, last-resort antibiotic, in the microbiota of multi-treated patients with an already altered microbiota. In these circumstances, additional changes of the microbiota are difficult to highlight, both by culture and metagenomics. This antibiotic, which have an admittedly low fecal excretion, is nonetheless recognized as a risk factor for infection with resistant bacteria. This work shows the limitations of current methods of microbiota characterization, whose sensitivity and depth of analysis need to be improved. Another poorly studied issue is the dissemination of resistance in the absence of selective pressure. We studied it quantitatively in natural conditions, by trapping small wild mammals

at various distances from a single point of antibiotic use in a remote village of the Amazonian forest. Our results showed that acquired resistance to  $\beta$ -lactams do not spread in the wild in the absence of selective pressure, which is a strong incentive to control the diffusion of antibiotics in the environment. Eventually, we showed that it was possible to minimize the impact of antibiotics on intestinal microbiota, by inactivating antibiotics residues in the colon by adsorption. Indeed this strategy has allowed to partially restore resistance to colonization by a cefotaxime-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae* in mice treated with cefotaxime. Overall, our work has clarified several aspects of the impact of  $\beta$ -lactams on intestinal microbiota and opened an innovative way to prevent this impact, which needs to be explored further.

**Key words:**  $\beta$ -lactams, intestinal microbiota, antibiotic resistance, selective pressure, colonization resistance