

## **Titre : Étude de la dynamique temporelle du microbiote digestif des bovins domestiques pour la compréhension du portage de clones d'*Escherichia coli* pathogènes et résistants aux antibiotiques**

**Résumé:** Les usages antibiotiques chez les bovins domestiques combinés à l'immense diversité et plasticité génomique de l'espèce *Escherichia coli* multiplient les contextes favorables à l'émergence au sein du microbiote digestif bovin de souches productrices de toxines de Shiga (STEC) et de souches résistantes aux antibiotiques. Cependant, la grande variété des systèmes d'élevage complique notre compréhension du risque sanitaire global que ces populations bactériennes représentent. Dans ce travail, nous avons eu recours à deux modèles bovins pour comprendre le contexte écologique et génomique de la dynamique de portage fécal des STEC et des souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques au sein de leur réservoir.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux populations commensales d'*E. coli* de vaches adultes en l'absence d'exposition antibiotique, dans une zone rurale au Zimbabwe, où l'impact des activités humaines sur le microbiote intestinal des bovins était aussi faible que possible. Nous avons mis en évidence des populations commensales d'*E. coli* multiclonales et spécifiques de leur hôte, avec un taux de rotation des clones dominants similaire entre les vaches et une taille de population stable sur une courte période de temps. Des STEC et des clones résistants aux antibiotiques ont été détectés de manière transitoire. Dans un second temps, nous avons étudié le microbiote fécal de veaux de boucherie en élevage intensif dans des fermes d'engraissement en Bretagne. Dès leur plus jeune âge, ces veaux reçoivent par voie orale, et sur de longues périodes, des traitements antibiotiques polychimiques. Dans une première étude, nous avons mis en évidence une transformation de leur microbiote fécal, avec une augmentation de la diversité intra-veau au cours de l'engraissement et un phénomène de convergence accélérée lors du premier mois. Un effet des antibiotiques a été observé sur la diversité intra-veau mais était limité dans le temps, ce qui suggère une résilience forte du microbiote fécal aux antibiotiques. Chez ces veaux, la taille de la population d'*E. coli* était impactée par la dose de lactose et atteignait un maximum lors du deuxième mois de l'engraissement, avec une influence des antibiotiques sur sa dynamique temporelle. Dans une seconde étude, nous avons montré que les veaux étaient colonisés par divers clones d'*E. coli* producteurs de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) et multi-résistants, dont la persistance du portage semblait liée à l'antibiothérapie au début de l'engraissement et à leur capacité de diffusion au sein d'une ferme.

Les résultats de ces travaux montrent l'existence de plusieurs dynamiques des populations commensales bactériennes à différents niveaux de granularité. L'exposition prolongée aux antibiotiques des veaux de boucherie en début d'engraissement suivie d'une expansion de la niche écologique des *E. coli* commensaux a induit une colonisation massive et persistante de celle-ci par des clones producteurs de BLSE. Des clones STEC multi-résistants et producteurs de BLSE ont été retrouvés chez les veaux de boucherie. L'un de ces clones est un pathovar hybride émergent, responsable de syndromes hémolytiques et urémiques associés à des septicémies chez l'homme.

**Mots clefs :** bovin, microbiote fécal, *Escherichia coli* commensaux, résistance aux antibiotiques, *E. coli* producteurs de toxines de Shiga

**Title: Study of temporal dynamics of gut microbiota in cattle to understand carriage of pathogenic and antibiotic resistant *Escherichia coli* clones**

**Abstract:** Antibiotic usages in cattle combined with the huge diversity and genomic plasticity of the *Escherichia coli* bacteria enhance the emergence of Shiga toxin producing *E. coli* (STEC) and antibiotic resistant *E. coli* within bovine gut microbiota. The diversity of cattle farming complicates our global understanding of these significant public health burdens. In the present work, we focused on two cattle models to study the ecological and genomic contexts of STEC and *E. coli* resistant strains carriage dynamics.

First, we investigated the temporal pattern of commensal *E. coli* populations in cows reared without antibiotic exposure, in a rural zone in Zimbabwe, in a short timeframe. In this area, impacts of human activities on bovine gut microbiota were limited. We showed that the structure of these *E. coli* populations was multiclonal and specific to their host, with a clonal turnover similar between cows. Population sizes were stable over time. STEC and antibiotic resistant *E. coli* were detected transiently. Second, we studied the dynamics of fecal microbiota of veal calves in intensive farming in Britain, France. From an early age, they received antibiotics orally and over long periods. In a first study, we showed that fecal microbiota underwent shifts with an increase of intra-calf diversity and convergent temporal dynamics in the first month. Antibiotics effect was observed on the intra-calf diversity, but was limited in time, suggesting a high resilience of fecal microbiota to antibiotics. In these calves, *E. coli* population size was impacted by the variations of lactose doses they received, with a maximum reached in the second month of fattening. Antibiotics also had a likely effect on *E. coli* population dynamics. In a second study, we showed that most of these calves were colonized by different extended spectrum  $\beta$  lactamases producing *E. coli* (ESBL *E. coli*). Their persistence was impacted by the use of antibiotics at the start of fattening and their abilities to diffuse within a farm.

Taken together, these results show the existence of several dynamics at different levels of granularity of the fecal microbiota of cattle. Extended exposition to antibiotics at the start of fattening followed by expansion of the ecological niche of *E. coli* in veal calves induced a massive and persistent colonization of *E. coli* populations by ESBL-producing clones. Multiresistant and ESBL-producing STEC were found in veal calves. One of these clones was an emergent hybrid pathotype associated with uremic and hemolytic syndrome and septicemia in humans.

**Key words:** cattle, fecal microbiota, commensal *Escherichia coli*, antibiotic resistance, Shiga toxin producing *E. coli*.