

**Dynamique microbienne associée aux infections urinaires et respiratoires
DYNAMICURE (Ex GRAM 2.0 – EA2656)**

Etude des mécanismes de persistance chez les Enterocoques

Study of persistence mechanisms in Enterococci

Unité de recherche / Research Unit UMR 1311 INSERM Université de ROUEN

Sujet de thèse / Thesis subject

Les entérocoques sont des membres essentiels du microbiote intestinal. Ils sont dotés de propriétés qui leur confèrent la capacité à faire face aux défenses de l'hôte et de survivre dans le tractus intestinal. Ils peuvent toutefois apparaître comme des agents pathogènes inquiétants car présentent une certaine virulence associée à une résistance aux antibiotiques. Les rechutes d'infections urinaires ou d'endocardites dues aux entérocoques sont étroitement liées à la tolérance et/ou la persistance des cellules. La compréhension de la nature du phénomène impliqué est la clé pour résoudre ces problèmes de récurrence des infections dues à ces pathogènes. Le premier axe de ce projet consistera à déterminer les conditions expérimentales susceptibles de déclencher les mécanismes de tolérance/persistance chez *Enterococcus faecalis* et *E. faecium*. En parallèle, une approche génétique avec la mise au point d'outils moléculaires (plasmides répliquatifs) compatibles chez ces deux espèces sera entreprise. Cela permettra de visualiser et distinguer les cellules persistantes et tolérantes au sein de la population cellulaire à la suite de diverses conditions stressantes. Le deuxième axe, basé sur les conditions induisant la survie face aux antibiotiques, sera l'utilisation de méthodes dites « globales » comme la protéomique et la transcriptomique, pour identifier les acteurs clés de la persistance. Le rôle de ces gènes ainsi mis en évidence sera validé par la construction et la caractérisation de mutants ciblés. L'analyse de ces souches de délétion permettra de vérifier l'impact de la mutation dans la persistance ou la tolérance. Ce travail apportera des outils moléculaires pour étudier la tolérance et/ou la persistance aux antibiotiques chez les entérocoques. De plus, des informations seront obtenues quant aux conditions expérimentales qui déclenchent ces phénomènes de résistance aux traitements et qui jouent un rôle important dans les rechutes.

Enterococci are essential members of the gut microbiota. They are endowed with properties that give them the ability to overcome host defenses and survive into the intestinal tract. However, they can appear as worrying pathogens because they have virulence factors associated with antibiotic resistance. Relapses of urinary tract infections or endocarditis due to enterococci are closely linked to the tolerance and/or persistence of the cells. Understanding the nature of the phenomenon involved is the key to solving these problems of recurrence of infections due to these pathogens. The first axis of this project will consist in determining the experimental conditions likely to trigger tolerance/persistence mechanisms in *Enterococcus faecalis* and *E. faecium*. In parallel, a genetic approach with the development of molecular tools (replicating plasmids) compatible in these two species will be undertaken. This will visualize and distinguish between persistent and tolerant cells within the cell population following various stressful conditions. The second axis, based on the conditions inducing survival against antibiotics, will be the use of so-called "global" methods such as proteomics and transcriptomics, to identify the key players in persistence. The role of these genes thus highlighted will be validated by the construction and characterization of targeted mutants. The analysis of these deletion strains will make it possible to verify the impact of the mutation on persistence or tolerance. This work will provide molecular tools to study tolerance and/or persistence to antibiotics in enterococci. In addition, information will be obtained on the experimental conditions that trigger these phenomena of resistance to treatments and which play an important role in relapses.

Expérience et formation souhaitées / searched skills

Le candidat, titulaire d'un M2R, devra posséder une bonne expérience pratique dans les domaines de la microbiologie, de la biologie moléculaire et de la génétique bactérienne. La maîtrise des techniques de PCR, RT-qPCR, de clonage, de mutagenèse, d'extraction d'acides nucléiques est souhaitable. De plus, des connaissances en bioinformatique seraient un atout supplémentaire.

The applicant, holder of a M2R, must have good experience in the fields of microbiology, molecular biology, and bacterial genetics. Skills in PCR, RT-qPCR techniques, cloning, mutagenesis, and extraction of nucleic acids are desirable. In addition, knowledge in bioinformatics would be an additional advantage.

Contacts

Jean-Christophe GIARD

jean-christophe.giard@unicaen.fr

02 31 06 33 28