DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **05 juin 2023**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame DJERMOUN Zoulikha**

Titre de la thèse : *« Le plasmide RP4: de son utilisation comme outil antibactérien à l'étude de sa dynamique de transfert au sein de biofilm bactérien »*

Résumé

L'étude de la dynamique de conjugaison des plasmides conjugatifs chez les bactéries Gram-négatif est la thématique centrale de recherche de notre laboratoire et autour de laquelle s'est articulé mon projet de thèse. Mes travaux de recherche ont eu pour premier objectif de poursuivre nos études sur les TAPs, des systèmes CRISPR véhiculés par la machinerie de conjugaison du plasmide F dans les cellules receveuses du genre *Enterobacteriaceae*. Le plasmide RP4 est un plasmide de type IncP à large spectre d'hôte dont j'ai exploité la machinerie de conjugaison pour délivrer les systèmes TAPs chez diverses espèces bactériennes phylogénétiquement éloignées. Le second objectif de mes travaux a été d'apporter de véritables connaissances sur l'étendue et l'impact de la conjugaison dans les biofilms bactériens. Le biofilm est décrit dans la littérature comme un *hotspot* favorisant la conjugaison principalement en raison des contacts cellulaires propices qui existent dans sa structure. Les seules études qui ont essayé de démontrer expérimentalement que le biofilm permet d'augmenter les transferts par conjugaison n'apportent aucune données claires sur la dynamique de ces transferts qui ont lieu et comment le biofilm impacte ces transferts. Retrouvé au sein de nombreux environnements naturels, le plasmide RP4 a été le modèle plasmidique principal des études qui se sont intéressées à la conjugaison dans le biofilm. Malgré le fait qu'il ait été très utilisé, les mécanismes de transferts du plasmide RP4 sont très peu décrits. Le plasmide RP4 s'est donc révélé comme un modèle d'étude de la conjugaison très pertinent pour étudier sa dynamique de conjugaison au sein d'une population *E. coli* cultivées en 2D et au sein d'une population *E. coli* structurées en biofilm 3D. L'approche que nous avons utilisée pour cette étude repose sur un projet collaboratif entre notre laboratoire et celui du Dr Knut Drescher qui a permis de déployer des techniques de microscopie à fluorescence innovantes, développées par nos deux laboratoires et jusqu'ici jamais utilisées dans le contexte de l'étude de la conjugaison dans le biofilm.

Mes travaux ont apporté les premières images en temps réel du transfert du plasmide RP4 en 2D et de nouvelles données très intéressantes sur la chronologie de conversion de l'ADN en double brin dans la receveuse. Enfin, une approche totalement innovante a permis d'étudier la dynamique de conjugaison du plasmide RP4 dans le biofilm. Ces résultats constituent finalement la première étude qui décrit réellement

comment la conjugaison a lieu dans le biofilm et qui va au-delà en termes de compréhension sur cette dynamique grâce à l'approche 2D que nous avions mis en place. Nous démontrons que le biofilm ne semble pas être un *hotspot* pour le transfert du plasmide RP4 et que les facteurs de la matrice extracellulaire qui compose sa structure n'empêchent pas la dissémination du plasmide. Il s'agirait plutôt du stade de développement du biofilm qui va rendre possible l'accessibilité des donneurs à l'attachement aux zones de contact avec la surface, à proximité des cellules receveuses.