



Université Claude Bernard



Lyon 1

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **12 décembre 2019**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **VAUTRIN Florian**

Titre de la thèse : «*Milieux urbains et exposition aux Actinobactéries pathogènes : cas particulier des bassins d'infiltration*».



Résumé

En ville, les eaux pluviales sont collectées et dirigées vers des bassins d'infiltration. Elles amassent lors du ruissellement et du lessivage des sols et des toitures des polluants divers : hydrocarbures, matières organiques, métaux lourds. Ces particules accumulées à la surface des bassins d'infiltration forment une couche de sédiments urbains riches en polluants qui représentent une nouvelle niche écologique pour des bactéries pathogènes opportunistes. On retrouve des Actinobactéries pathogènes dont *Nocardia cyriacigeorgica*. Pour l'heure, les études réalisées sur cette espèce en terme de physiopathologie l'ont été uniquement sur des souches cliniques et ne prennent pas compte les isolats environnementaux. Les principaux objectifs de ces travaux de thèse étaient d'évaluer la biodiversité spatio-temporelle des Actinobactéries présentes dans les sédiments d'un bassin d'infiltration avec un focus sur les espèces pathogènes du genre *Nocardia*, mais également d'établir des liens phylogénétiques entre des souches isolées d'un environnement urbain et des souches provenant de patients français atteints de nocardiose, et ainsi déterminer la dangerosité de ces clones environnementaux. Trois campagnes d'échantillonnage ont été réalisées dans un bassin d'infiltration de l'Est lyonnais (Django-Reinhardt) au printemps, en été et en automne. La biodiversité des communautés d'Actinobactéries a été décrite pour la première fois par méthode de séquençage nouvelle génération à l'aide du marqueur *hsp65*. La diversité infraspécifique des isolats environnementaux de *N. cyriacigeorgica* provenant du bassin d'infiltration et de souches cliniques fournies par l'Observatoire Français des Nocardioses a été quantifiée par une analyse multiloci (*rrs-hsp65-sodA-secA1*). La virulence des deux souches modèles urbaine EML446 et clinique GUH-2 de *N. cyriacigeorgica* a été évaluée par génomique comparative en étudiant le contenu en gènes de virulence des deux génomes, puis par expérimentation animale sur modèle murin d'immunoparalysie transitoire CLP 30 %. Les résultats de ce travail mettent en évidence la variabilité de la diversité spatio-temporelle des espèces pathogènes et indigènes d'Actinobactéries dominées par environ 80 % de bactéries du genre *Mycobacterium* mais également de *Nocardia* dans les sédiments du bassin d'infiltration Django-Reinhardt. Le mercure, le cuivre et une forte humidité semblent favoriser le développement des espèces pathogènes. La souche urbaine EML446, n'appartenant pas au phylogroupe contenant la souche hautement pathogène GUH-2, présente tout de même un fort pouvoir pathogène sur modèle murin d'immunoparalysie transitoire à une dose de $1,0 \times 10^6$ UFC/souris ainsi que des contenus en gènes de virulence semblables. En conclusion, cette thèse a mis en évidence un risque microbiologique lié à la présence

de l'espèce pathogène *N. cyriacigeorgica* dans un environnement urbain pollué en lien avec la gestion des eaux pluviales. Elle ouvre ainsi des perspectives sur la réorganisation taxonomique de *N. cyriacigeorgica* et une potentielle scission en trois espèces distinctes, pouvant avoir un impact en terme de virulence ou d'antibiorésistance, mais également sur l'utilisation de nouveaux outils permettant l'identification fine aussi bien clinique que dans l'environnement d'isolats ou de communautés bactériennes de *Nocardia* par métabarcoding à l'aide du marqueur *hsp65* et par MALDI-ToF MS.

Mots clés : Bactéries pathogènes opportunistes ; Bassin d'infiltration ; Biodiversité ; Diversité infraspécifique ; Ecologie microbienne ; Hydrologie urbaine ; Métabarcoding *hsp65* ; Modèle murin d'immunoparalysie ; *Nocardia cyriacigeorgica* ; Pollution urbaine ; Virulence.