

## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **13 décembre 2024**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame Eva PEYRACHE**

Titre de la thèse : Développements analytiques en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse pour le diagnostic des infections bactériennes

### Résumé



Les bactéries impliquées dans les septicémies mettent en place des mécanismes de résistance aux antibiotiques très variés. Chaque heure perdue à identifier ces mécanismes diminue fortement les chances de survie du malade. L'élaboration de méthodes analytiques rapides, efficaces et robustes est primordiale pour le diagnostic des infections bactériennes afin de pouvoir offrir dès que possible le traitement approprié à chaque patient. Les enjeux de cette thèse concernent l'application de la protéomique bottom-up pour l'analyse des biomolécules associées à l'antibiorésistance. Le premier grand axe de recherche de cette thèse a été le développement de méthodes analytiques ciblées en spectrométrie de masse à basse résolution avec le mode d'acquisition Multiple Reaction Monitoring pour l'identification de marqueurs spécifiques aux bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE). Ces enzymes sont de plus en plus retrouvées dans le cadre du sepsis et induisent un degré élevé de résistance aux antibiotiques. L'étude a été centrée sur « TEM » et « SHV », deux bêta-lactamases qui peuvent présenter une résistance à plus ou moins large spectre selon les mutations mises en jeu dans leur chaîne protéique. La capacité de la méthode à discriminer les variants de TEM et SHV à activité de BLSE a été validée lors de l'analyse de 530 hémocultures d'entérobactéries. Le deuxième axe de recherche a été d'évaluer l'intérêt de la spectrométrie de masse à haute résolution pour le diagnostic des infections bactériennes du sang. L'accessibilité du mode d'acquisition Sequential Window Acquisition of all Theoretical fragment ion spectra à une application en routine a été étudiée via le développement d'un logiciel automatisé retraçant les données complexes issues de ce mode d'acquisition non ciblé. Cette méthode a ensuite été utilisée pour identifier les mécanismes responsables de la résistance aux antibiotiques observés chez 40 souches d'entérobactéries et a été comparée à des approches en protéomique ciblées.

**Mots-clés :** Spectrométrie de masse, Protéomique, LC-MS/MS, Septicémies, Antibiorésistance, Bêta-lactamases,