

# Zwalczanie szczepów opornych na antybiotyki przy użyciu plazmidów antybakteryjnych o ukierunkowanym działaniu

## Control of antibiotic-resistant strains using targeted antibacterial plasmids

Anna Marzec – Grządziel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, [agrzadziel@iung.pulawy.pl](mailto:agrzadziel@iung.pulawy.pl)

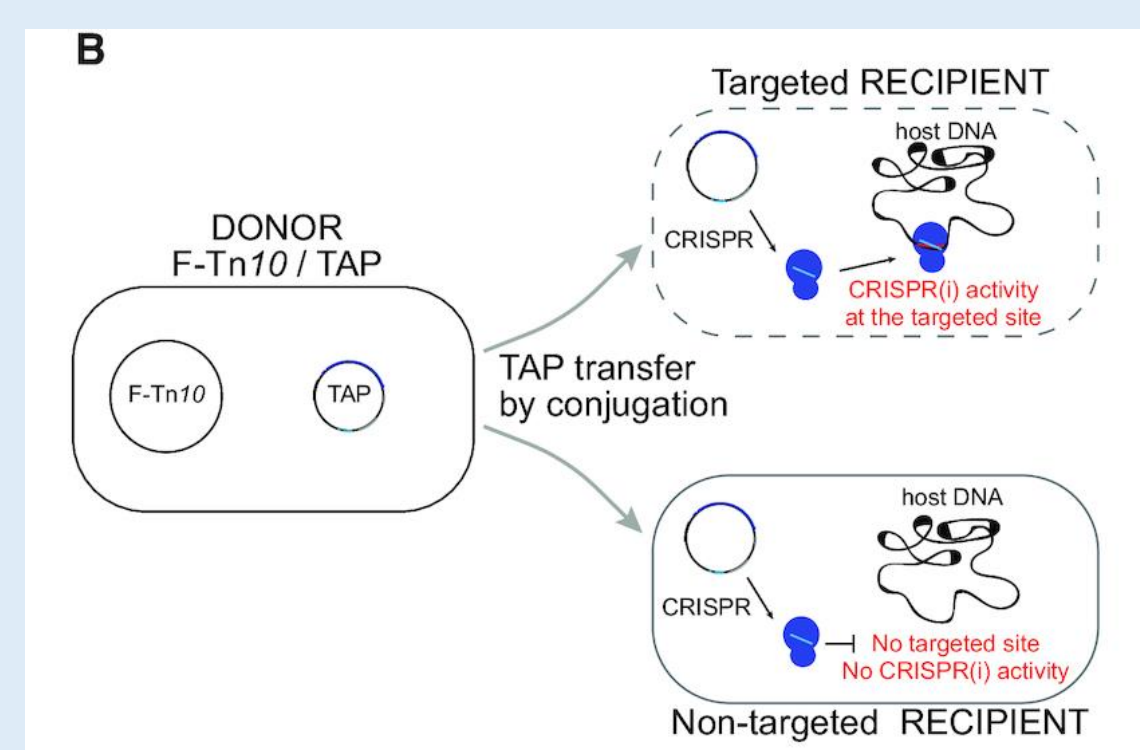
Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki [2021/03/Y/NZ7/00123] oraz JPIAMR-ACTION GA no 963864

This research was co-funded in whole or in part by National Science Centre [2021/03/Y/NZ7/00123] and JPIAMR-ACTION GA no 963864



Globalne rozprzestrzenianie się oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (AMR) wśród bakterii patogennych jest uznawane za jeden z największych problemów w dziedzinie zdrowia publicznego i staje się priorytetem badawczym w mikrobiologii. Oporność na leki wzrasta wykładniczo dla niektórych organizmów bakteryjnych i staje się głównym zagrożeniem dla zdrowia ludzkiego na całym świecie. Infekcje lekooporne są obecnie odpowiedzialne za ~700 000 zgonów każdego roku. Jeśli nie zostaną podjęte żadne działania, liczba ta może wzrosnąć do 10 milionów do 2050 roku. W związku z tym faktem władze krajowe i międzynarodowe podkreślają potrzebę wyprowadzenia szerokiego, skoordynowanego podejścia do opracowania nowych strategii antybakteryjnych w celu walki z bakteriami lekoopornymi w wielu sektorach, takich jak zdrowie ludzi i zwierząt, rolnictwo i środowisko (tj. główne wyzwanie „One health”)

Innowacyjna strategia STARS-TAP opiera się na zastosowaniu plazmidów TAP (Targeted-Antibacterial-Plasmids), które wykorzystują koniugację DNA w celu dostarczenia systemów CRISPR/Cas wywierających aktywność antybakteryjną na specyficznym ukierunkowanym szczepie AMR (Ryc.1). *In vitro* wykazano, że TAP mogą selektywnie zabijać szczepy AMR poprzez celowanie w chromosom lub przywracać wrażliwość szczepów na antybiotyki poprzez celowanie w plazmidy lekooporności, bez wpływu na inne szczepy obecne w populacji bakterii.



Ryc.1 Schemat strategii TAPs [1]

W projekcie, planujemy opracowanie bibliotek TAP skierowanych przeciwko wielu klinicznie i środowiskowo istotnym szczepom AMR lub przeciwko specyficznym genom AMR nadającym oporność na beta-laktamy (głównie karbapenemy). Ocenimy zdolność TAPs do specyficznego eliminacji szczepów AMR ze ścieków szpitalnych oraz mikrobioty jelitowej zwierząt. Zajmiemy się również rozprzestrzenianiem się TAPs i ich zdolnością do eliminacji szczepów AMR w ryzosferze roślin oraz glebie. Ta niezbadana i wszechstronna strategia antybakteryjna może być obiecującym podejściem uzupełniającym antybiotykoterapię, w profilaktyce ludzi i zwierząt zakażonych lub skolonizowanych szczepami AMR, a nawet w celu uniknięcia rozprzestrzeniania się AMR w zantropogenizowanych zbiornikach środowiskowych, takich jak gleby rolnicze i ścieki.

### Zespół IUNG-PIB odpowiada za:

Izolacja DNA z próbek glebowych (analiza metatranskryptomyczna)  
Izolacja RNA z próbek glebowych (analiza metatranskryptomyczna)  
Analiza bioinformatyczna  
Analiza BIOLOG próbek glebowych

Członkowie konsorcjum:

#### Christian Lesterlin

Centre National de la Recherche Scientifique, France (Koordynator)



#### Pierre Bogaerts

UCL – Université Catholique de Louvain, Belgium



#### Gregory Jubelin

French National Research Institute for Agriculture, Food and Environment, France



#### Anna Marzec-Grządziel

Institute of Soil Science and Plant Cultivation, Poland



#### William Couet

French National Institute of Health and Medical Research, France



The global spread of antimicrobial resistance (AMR) among pathogenic bacteria is considered one of the biggest public health problems and is becoming a research priority in microbiology. Drug resistance is increasing exponentially for some bacterial organisms and is becoming a major threat to human health worldwide. Drug-resistant infections are currently responsible for ~700,000 deaths each year. If no action is taken, this number could rise to 10 million by 2050. In light of this fact, national and international authorities are emphasizing the need to derive a broad, coordinated approach to develop new antibacterial strategies to combat drug-resistant bacteria in many sectors, such as human and animal health, agriculture and the environment (i.e., the "One Health" major challenge)

The innovative STARS-TAP strategy is based on the use of Targeted-Antibacterial-Plasmids (TAPs), which use DNA conjugation to deliver CRISPR/Cas systems that exert antibacterial activity against specifically targeted AMR strains (Fig.1). *In vitro*, it has been shown that TAPs can selectively kill AMR strains by targeting the chromosome or restore the strains' sensitivity to antibiotics by targeting drug resistance plasmids, without affecting other strains present in the bacterial population.

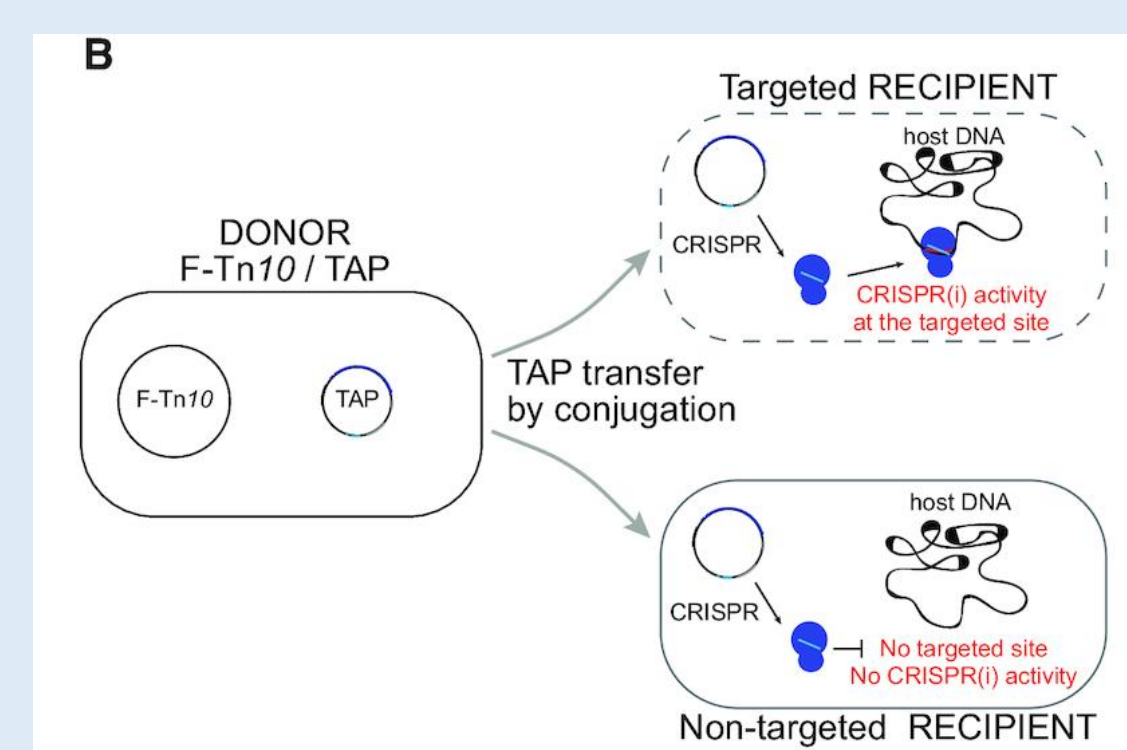


Fig.1 TAPs strategy diagram [1]

In this project, we plan to develop TAP libraries targeting multiple clinically and environmentally relevant AMR strains or against specific AMR genes conferring resistance to beta-lactams (mainly carbapenems). We will evaluate the ability of TAPs to specifically eliminate AMR strains from hospital wastewater and the gut microbiota of animals. We will also address the spread of TAPs and their ability to eliminate AMR strains in the rhizosphere of plants and soil. This unexplored and versatile antibacterial strategy may be a promising approach to complement antibiotic therapy, in the prevention of humans and animals infected or colonized with AMR strains, and even to avoid the spread of AMR in anthropogenized environmental reservoirs such as agricultural soils and wastewater.

### The IUNG-PIB team is responsible for:

Isolation of DNA from soil samples (metatranscriptomic analysis)  
Isolation of RNA from soil samples (metatranscriptomic analysis)  
Bioinformatics analysis  
BIOLOG analysis of soil samples

Consortium team:

#### Christian Lesterlin

Centre National de la Recherche Scientifique, France (Coordinator)



#### Pierre Bogaerts

UCL – Université Catholique de Louvain, Belgium



#### Gregory Jubelin

French National Research Institute for Agriculture, Food and Environment, France



#### Anna Marzec-Grządziel

Institute of Soil Science and Plant Cultivation, Poland



#### William Couet

French National Institute of Health and Medical Research, France

