



UNIL | Université de Lausanne

Faculté de biologie
et de médecine

Soutenance de thèse

Madame Paddy Gibson

Master Of Science
University of Canterbury, Nouvelle-Zélande

Soutiendra en vue de l'obtention du grade de
Doctorat ès sciences de la vie (PhD)
de l'Université de Lausanne

sa thèse intitulée :

Drivers and consequences of amoxicillin resistance in the opportunistic human pathogen *Streptococcus pneumoniae*

Directeur·trice de thèse :

Monsieur le Professeur
Jan-Willem Veening

Cette soutenance aura lieu

**Vendredi 1^{er} juillet 2022
à 16h00**

Amphithéâtre, Biophore, quartier UNIL-Sorge, 1015 Lausanne

L'entrée est publique

Prof. Niko GELDNER
Directeur de l'École Doctorale

17.06.22

Causes et conséquences de la résistance à l'amoxicilline chez le pathogène humain opportuniste *Streptococcus pneumoniae*

Paddy S. Gibson, Département de Microbiologie Fundamentale

Streptococcus pneumoniae (le pneumocoque) est une bactérie en forme de ballon de rugby qui est colonisée naturellement le nasopharynx humain. Toutefois, si elle en a l'occasion, elle peut se déplacer vers les poumons ou l'oreille moyenne, entraînant une pneumonie ou une otite moyenne. Dans les cas les plus graves, la bactérie se propage dans la circulation sanguine, entraînant des infections invasives telles que la septicémie ou la méningite. L'Organisation mondiale de la santé a classé *S. pneumoniae* parmi les 12 agents pathogènes prioritaires en raison du nombre élevé d'infections dans le monde et du risque croissant de résistance aux antibiotiques.

Les infections causées par le pneumocoque sont généralement traitées par des antibiotiques β -lactamines à large spectre tels que l'amoxicilline (AMX), couramment commercialisée sous le nom d'Augmentin. Elle inhibe la croissance bactérienne en se liant aux protéines de liaison de la pénicilline (PBP), bloquant ainsi une étape essentielle de la synthèse de la paroi cellulaire. La paroi cellulaire est une structure essentielle pour une cellule bactérienne, qui l'aide à résister à la pression osmotique. Sa synthèse est une séquence d'événements étroitement chorégraphiés, de nombreuses protéines agissant de concert au bon moment pour construire la structure parfaite. Le blocage de l'une de ces étapes déséquilibre tout l'équilibre, bloquant la synthèse.

S. pneumoniae développe une résistance aux antibiotiques β -lactam par des modifications importantes des sites actifs des enzymes cibles. Pour l'AMX, la résistance a été associée à des modifications d'au moins trois de ses six PBP, ainsi que de plusieurs déterminants non PBP. Ces mutations sont acquises par transformation naturelle, où le pneumocoque prend de l'ADN dans son environnement et le recombine dans son chromosome. Dans le chapitre 2 de cette thèse, nous avons exploré le développement de la résistance à l'AMX chez le pneumocoque, et déterminé que les composants essentiels de la résistance à l'AMX sont *pbp2x*, *pbp2b*, *murM* et *pbp1a*, acquis dans cet ordre.

Dans le chapitre 3, nous avons utilisé la lyse induite par AMX en combinaison avec un criblage létal synthétique à l'échelle du génome pour identifier BeaU, une protéine membranaire non caractérisée auparavant. Les *S. pneumoniae* mutés pour *beaU* se lysent plus tôt en phase stationnaire et présentent une sensibilité accrue aux antibiotiques β -lactamines. Nous avons démontré que ces phénotypes sont dépendants de LytA, et que cette association implique probablement un rôle de BeaU dans la construction de la structure finale de la paroi cellulaire qui affecte indirectement l'activité de LytA.

La capacité d'une cellule à détecter le stress, et à y répondre de manière appropriée, est essentielle pour atténuer les effets d'un traitement antibiotique. Le pneumocoque possède un système spécifique pour la détection du stress de la paroi cellulaire, appelé CiaRH. Dans le chapitre 5, nous avons examiné le rôle des mutations CiaH hyperactives dans la diminution de la sensibilité à l'AMX. En utilisant une sélection antibiotique de faible niveau, nous avons montré pour la première fois que l'AMX peut également sélectionner des mutations ponctuelles dans le *ciaH* et avons confirmé que les substitutions qui en résultent augmentent l'expression du gène dépendant du CiaRH. En utilisant la répression CRISPRi, nous avons identifié au moins quatre membres du régulon qui peuvent être impliqués dans la modification de la cellule pour mieux tolérer le stress de la paroi cellulaire induit par l'AMX.

Dans cette thèse, nous avons exploré la manière dont les cellules pneumococciques répondent au traitement par AMX, à la fois en étudiant le mécanisme et l'évolution de la résistance, et en identifiant de nouvelles protéines, ou de nouveaux rôles pour les protéines connues dans la réponse à l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire. La compréhension de la réponse cellulaire à des traitements médicamenteux spécifiques est essentielle pour le développement de programmes thérapeutiques appropriés, afin de conserver les antibiotiques actuels pour une utilisation future.