

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **08 juillet 2025**

Nom de famille et prénom de l'auteur. e : **Madame Charline DEBRUYNE**

Titre de la thèse : Etude d'une niche intracellulaire de souches cliniques d'*Acinetobacter baumannii*

Résumé



Acinetobacter baumannii est une bactérie opportuniste de type coccobacille Gram négative responsable d'infections nosocomiales, particulièrement dans les services de soins intensifs. Le milieu hospitalier est propice au développement et au maintien de *A. baumannii* qui est tolérante en milieu de stress (dessiccation, surfaces sèches, pauvre en nutriment) en formant notamment des biofilms. Des infections variées chez des patients affaiblis lui sont attribuées. Les infections dues à *A. baumannii* sont un véritable problème de santé publique à cause de l'émergence de souches multirésistantes aux antibiotiques, dont la colistine utilisée en dernier recours. C'est pourquoi l'Organisation Mondiale pour la Santé l'a classée sur la liste critique des pathogènes nécessitant le développement de nouveaux antibiotiques. De plus, certaines épidémies hospitalières récentes font état de souches avec une mortalité et une persistance accrues. Une nouvelle capacité d'invasion et de multiplication dans différents types cellulaires humains et in vivo chez la souris a été démontrée pour certaines souches cliniques, y compris dans notre laboratoire. En effet, à l'aide d'un screen high content six souches cliniques ont été associées à ce phénotype, incluant la souche ABC141 qui présente un phénotype exacerbé. Cette capacité à survivre et se multiplier intracellulairement pour une bactérie normalement extracellulaire pourrait participer à accroître la virulence de *A. baumannii* et entraver le traitement antibiotique. C'est pourquoi ce

projet de thèse concerne l'étude de la souche ABC141 pour mieux comprendre les mécanismes liés à ce nouveau phénotype de virulence. Les objectifs étaient de caractériser les mécanismes permettant la multiplication intracellulaire de l'ABC141 tout en établissant la réponse de l'hôte. En utilisant des approches microscopiques, notamment de live imaging, nous avons identifié la cinétique intracellulaire de l'ABC141 qui utilise la voie endocytaire pour établir sa vacuole tout en évitant la fusion avec les lysosomes dégradatifs. De manière intéressante, la souche ABC141 est capable de sortir des cellules sans en provoquer la lyse et recommencer un cycle d'infection. D'autre part, la capacité d'invasion et de multiplication dépend de la phase exponentielle de croissance. Un séquençage d'ARN comparant l'expression génétique des bactéries en phase exponentielle de croissance et en phase stationnaire a permis d'identifier le système translocase TatABC comme important pour l'adhésion aux cellules eucaryotes. De plus, pour déterminer plus spécifiquement les gènes bactériens et cellulaires impliqués dans cette phase intracellulaire, une étude transcriptomique, dite RNAseq Dual, a été réalisée. Cette analyse a permis d'identifier une importante modification de l'expression des gènes bactériens. Nous avons décidé d'étudier le rôle des récepteurs de zinc, ZnuD et ZnuD2, qui ne semble pas impliqué dans l'adhésion cellulaire, l'invasion et la multiplication. Le rôle des systèmes de sécrétion de type I et II a aussi été exploré avec un rôle respectif dans la multiplication et dans l'invasion. Finalement, le côté cellulaire n'a que peu de gènes dont l'expression est modifiée par l'infection à l'ABC141. Cependant, une réponse de type hypoxie est observée de manière indépendante à HIF1 α et sans déplétion détectable d'oxygène pendant l'infection. Cela est associé à un recrutement de mitochondries au niveau de la vacuole intracellulaire. Cette étude a permis de découvrir de nouvelles fonctions pour différents facteurs de virulence d'*A. baumannii* dans l'adhésion, l'invasion et la multiplication intracellulaire pour la souche clinique ABC141, et de définir une réponse atypique de l'hôte face à cette souche intracellulaire. Cette caractérisation de nouveaux mécanismes de virulence contribue au futur développement de nouvelles stratégies antimicrobiennes.

Mots-clés :

Interaction hôte
pathogène, *Acinetobacter*
baumannii, Intracellulaire, Facteurs de
virulence