

## **PRESENTATION DES TRAVAUX**

### **Rôle de l'îlot génomique *pks* dans la synthèse des sidérophores-microcines chez *Escherichia coli***

La souche *Escherichia coli* Nissle (Nissle) est administrée comme probiotique depuis plus d'un siècle sous l'appellation Mutaflor<sup>®</sup>. Son effet probiotique est en partie lié à son activité antagoniste contre des bactéries phylogénétiquement proches. Cependant, cette souche est également porteuse de l'îlot génomique *pks* à l'origine de la synthèse d'une génotoxine, la colibactine aux propriétés procarcinogènes.

Nous avons donc tenté de dissocier les activités génotoxiques et probiotiques de Nissle, afin de proposer une souche d'administration plus « sûre ». Nous avons déterminé, par l'étude de mutants de l'îlot *pks*, que seule la peptidase ClbP est indispensable à l'activité antagoniste de Nissle. Cette peptidase n'était connue que pour son rôle dans l'étape terminale de maturation de la précolibactine inactive en colibactine génotoxique. Le site catalytique de ClbP, essentiel à la maturation de la colibactine n'intervient pas dans l'activité antagoniste de Nissle, mais seulement sa partie C-terminale permettant son ancrage dans la membrane interne. Une souche Nissle portant une simple substitution d'acide aminé dans son site catalytique n'est donc plus génotoxique, mais conserve toutes ses propriétés antibactériennes.

De précédentes études ont montré que les sidérophores-microcines H47 et M (MccH47 et M) sont à l'origine de l'activité antagoniste de Nissle. Ce sont des peptides antimicrobiens constitués d'une entité peptidique couplée post-traductionnellement à un groupement dérivé d'un sidérophore, l'entérobactine. Nous avons montré que l'activité antagoniste ClbP-dépendante de Nissle est liée aux MccH47 et M. Par rapport au système génétique conduisant à la synthèse des sidérophores-microcines chez les souches *E. coli* H47, CA46 et CA58, l'îlot microcines de Nissle est tronqué. Nous avons montré que IroB, impliqué dans la synthèse de la salmochéline était indispensable à l'activité antagoniste de Nissle, probablement en assurant le rôle de son homologue manquant. Par une étude bio-informatique, nous avons déterminé que l'ensemble des souches de *E. coli* portant un îlot sidérophores-microcines tronqué possédait l'îlot *pks* et l'îlot salmochéline, ce qui renforce l'hypothèse d'une coévolution de ces systèmes.

Des publications ont montré la forte proportion de souches productrices de MccH47 et M parmi les souches de *E. coli* uropathogènes. Nous avons collecté plus de 200 souches de *E. coli* suite à des examens cyto-bactériologiques des urines pratiqués sur des patients adultes pris en charge aux urgences du CHU de Toulouse. L'analyse génétique de ces souches a permis de confirmer l'association systématique des entités îlot microcines tronqué – îlot *pks* – îlot salmochéline. La proportion des souches productrices de MccH47 et M est identique quel que soit le tableau clinique (pyélonéphrites, cystites ou bactériuries asymptomatiques), ce qui tendrait à prouver qu'il s'agit davantage d'un facteur permettant la colonisation de l'arbre urinaire à partir de la niche intestinale plutôt que d'un facteur de virulence dans l'arbre urinaire.

Si la recherche, et plus particulièrement la bio-ingénierie des microcine est actuellement en plein essor comme piste de nouveaux antibiotiques, aucun travail ne s'est intéressé à la fois la mécanistique des microcines, leur intrication avec d'autres facteurs de virulence et leurs impacts physiopathologiques éventuels.