

Rôle des phages Stx dans la diversité des souches d'*Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxine (STEC) O26:H11 isolées de produits alimentaires : étude du polymorphisme et de la mobilité des gènes *stx*¹

par Ludivine **Bonanno**

Jean Christophe **Augustin**². – *Escherichia coli* est une bactérie commune de la microflore intestinale de l'Homme et des animaux à sang chaud. Certaines souches sont responsables d'infections intestinales ou extra-intestinales. Les *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) peuvent être responsables d'infections graves et constituent à l'heure actuelle un des dangers bactériens transmis par les aliments majeurs dans les pays industrialisés. L'émergence de ces souches productrices de Shiga-toxines illustre le considérable potentiel évolutif et la versatilité de cette espèce bactérienne.

Les travaux de Ludivine Bonanno visent à mieux caractériser le risque lié à ces STEC et en particulier à élucider les mécanismes impliqués dans la circulation des gènes *stx* codants les principaux facteurs de pathogénicité.

La première partie du mémoire de thèse propose une revue de la littérature portant sur les *E. coli* pathogènes et plus spécifiquement sur l'épidémiologie et la virulence des STEC. Cette revue bibliographique s'attache en particulier à présenter les caractéristiques des bactériophages Stx, les mécanismes d'insertion dans le génome d'*E. coli* et d'induction de ces phages. Les méthodes de détection des STEC dans les aliments et la problématique des risques liés à la contamination des produits laitiers sont également abordées dans cette partie.

La deuxième partie de la thèse présente les résultats des travaux expérimentaux. Ces travaux ont débuté par une caractérisation génétique des souches d'*E. coli* de sérotype O26:H11 (majoritairement rencontrés dans les produits laitiers) producteurs de Shiga-toxines et des prophages Stx. L'étude de souches d'origine bovine, alimentaire et humaine a permis de mettre en évidence des différences quant aux sites d'insertion des gènes *stx* selon l'origine des souches pouvant ainsi expliquer en partie les différences de virulence observées entre les souches. Il a également été montré que les souches O26:H11 non virulentes car dépourvues de gènes *stx* (AEEC) étaient généralement dépourvues d'un autre phage rencontré fréquemment chez les souches STEC et dont le rôle dans la pathogénicité mériterait d'être exploré.

L'étude de la stabilité des phages Stx a mis en évidence une excision spontanée. Les expérimentations ont également évalué le niveau d'induction, spontanée ou en présence d'un agent inducteur, des phages Stx en fonction de leur origine. Ces résultats montrent que les variants hypervirulents Stx2 sont plus facilement inductibles que les phages Stx1.

Les travaux expérimentaux se sont enfin attachés à évaluer l'impact des procédés de transformation fromagère ou des protocoles analytiques de détection des STEC dans les aliments

¹ Thèse soutenue le 3 novembre 2015 devant l'Université Paris-Est, Spécialité Génie des aliments, Ecole Doctorale ABIÉS sous la direction de Frédéric Auvray, Anses, et Valérie Michel, Actalia Produits laitiers.

² Membre correspondant de l'Académie d'Agriculture de France. Enseignant-chercheur, École Nationale Vétérinaire d'Alfort.

sur l'induction des phages Stx. Les stress oxydatif et alcalin rencontrés lors des procédés de fabrication des fromages semblent favoriser de façon inégale l'induction. En revanche, les facteurs analytiques ne semblent pas entraîner cette induction.

Les travaux de Ludivine Bonanno ont contribué à accroître significativement les connaissances sur les caractéristiques des phages Stx rencontrés chez les souches STEC O26:H11. Les variants des gènes *stx* ont été caractérisés ainsi que les sites d'insertion des phages Stx et les niveaux d'induction de ces phages sur une large collection de souches bovines, alimentaires et humaines. Ces résultats ouvrent la voie à des travaux permettant de mieux caractériser la virulence et donc le risque lié à la présence de STEC dans les denrées alimentaires.

Au cours de sa thèse, Ludivine Bonanno a également montré son double intérêt pour une recherche très fondamentale tout en ne perdant pas de vue les applications opérationnelles. Elle a ainsi permis le transfert vers les entreprises des méthodes mises au point pendant ses travaux. Ce travail peut être cité en exemple de thèse CIFRE réussie.

Signalons enfin que la valorisation scientifique de ces travaux est d'excellente qualité puisqu'ils ont fait l'objet de deux publications dans le journal *Applied and Environmental Microbiology*, une troisième publication devrait être soumise à *Frontiers in Microbiology*. La qualité de ces travaux a également été reconnue par la Société Française de Microbiologie qui a attribué son Prix de thèse 2016 à Ludivine Bonanno.