



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **04 novembre 2022**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur BAGEL Arthur**

Titre de la thèse : « *Étude de l'adhésion des Escherichia coli producteurs de shiga toxines (STEC) aux globules gras du lait cru : Une clé dans la prévention du danger STEC dans la filière lait cru et fromage au lait cru ?* »

Résumé

Les *Escherichia coli* producteurs de shiga toxines (STEC), responsables d'épidémies de grande envergure, impliquent souvent des aliments contaminés consommés crus ou insuffisamment cuits, comme les fromages au lait cru, la viande et les végétaux. Les mesures d'hygiène instaurées du producteur jusqu'au consommateur diminuent le risque de contamination des produits donc d'infections à STEC, mais ne l'élimine pas entièrement. Ajouté à cela l'absence de traitement efficace contre les infections à STEC, l'intérêt du développement de nouvelles stratégies préventives et thérapeutiques contre ce pathogène est indéniable pour le maintien des filières et la santé des consommateurs.

Ce travail, soutenu par les professionnels de la filière laitière française, poursuit des travaux préalablement menés par l'équipe sur les propriétés anti-adhésives des globules gras du lait cru contre les STEC. La prévention de l'adhésion bactérienne est maintenant considérée comme une stratégie prometteuse pour réduire l'apparition des maladies infectieuses. Les objectifs de ce travail étaient (i) d'évaluer l'association des STEC aux globules gras du lait cru et la réduction du niveau des STEC dans le lait cru via l'élimination de la matière grasse et (ii) d'identifier la nature de l'association STEC-globules gras et les composants moléculaires des STEC impliqués dans l'association. Pour répondre au premier objectif, une approche basée sur une propriété naturelle du lait cru, le crémage, couplée à l'imagerie et à la spectrométrie de masse, a été développée. Pour répondre au second objectif, la mesure de propriétés physico-chimiques de souches STEC telle que l'hydrophobicité et les charges de surface ainsi que l'évaluation de l'adhésion des souches pour les protéines de la membrane des globules gras ont été entrepris. Afin d'évaluer l'importance de la diversité génétique et le sérotype des souches dans ce phénomène, la majeure partie des expérimentations a été réalisée sur une collection de 15 souches d'*E. coli* appartenant à plusieurs sérotypes responsables d'épidémies (O157:H7, O26:H11 et O103:H2).

Nos travaux ont démontré que toutes les souches STEC présentaient une affinité certaine pour les globules gras du lait cru, mais qu'elle différait selon les souches et le sérotype. Après avoir vérifié que les interactions aspécifiques étaient faiblement impliquées dans l'association STEC-globule gras, nous avons montré que les souches STEC O26:H11 et O103:H2 adhéraient davantage aux protéines de la membrane des globules gras, en comparaison avec les souches STEC O157:H7. Nous avons aussi démontré l'implication de protéines de surface des STEC dans leur association avec les globules gras. Par ailleurs, nous avons remarqué que la nature et la quantité des protéines exprimées par les souches étaient variables entre elles, ce qui pourrait expliquer les différences d'affinité observées entre les souches, pour les globules gras. Plus précisément, nous avons identifié par spectrométrie de masse, la flagelline et la porine OmpA associée à la fraction protéique de la membrane des globules gras. La caractérisation des souches STEC mutées pour ces

adhésines potentielles, a mis en lumière l'implication de la flagelline dans l'adhésion des STEC aux protéines de la membrane des globules gras.

L'étude de l'association bactéries-globules a très peu été étudiée du côté des bactéries. Pour la première fois, nous mettons en avant que l'adhésion STEC-globules gras semblerait impliquer une combinaison de couples récepteur/ligand, présents à la surface des STEC et ancrées dans la membrane des globules gras. Nous supposons que la spécificité du mécanisme proviendrait des différents épitopes reconnus par les STEC grâce aux différentes structures adhésives qu'elles expriment. L'identification complète des acteurs moléculaires fortement engagés dans l'association STEC-globule gras doit encore être approfondie.