



UNIVERSITÉ  
CAEN  
NORMANDIE



**Intitulé du sujet de thèse : Etude du Métabolisme de la chondroïtine chez *Enterococcus faecalis***  
EMINENCE

**Mots clés : Sulfate de Chondroïtine, *Enterococcus faecalis*, polysaccharide lyase, virulence, PTS**

**Champs scientifiques : Biologie, Microbiologie**

**Description du sujet :**

**Objectif :** Mieux comprendre le lien entre le métabolisme et la virulence d'*Enterococcus faecalis*, notamment en caractérisant sa capacité à dégrader et utiliser le sulfate de chondroïtine comme source de carbone et d'énergie. Le projet présenté ici vise à caractériser l'enzyme HylB supposée être une enzyme ayant une activité de dégradation du sulfate de chondroïtine. Pour mener à bien ce projet il conviendra d'y associer l'étude et la caractérisation d'un transporteur PTS (PhosphoTransferase System) et d'un régulateur transcriptionnel.

**Contexte et stratégie d'étude :**

*Enterococcus faecalis* est une bactérie lactique Gram positive commensale de l'Homme et des animaux à sang chaud qui habite principalement et naturellement les surfaces muqueuses du tractus gastro-intestinal. Au cours des vingt dernières années, cette bactérie est apparue comme un agent pathogène clinique d'importance majeure responsable de nombreuses infections comprenant notamment des infections urinaires, intra abdominales ou des plaies, des bactériémies, des septicémies et des endocardites infectieuses. Ces infections sont souvent dues à la présence de biofilms sur les sites opératoires ou sur les cathéters urinaires. L'émergence de cette espèce en tant que pathogène est due en partie à sa résistance intrinsèque et acquise aux antibiotiques courants. Une étude de Santé Publique France publiée en 2018 a montré qu'*E. faecalis* était le 4<sup>ème</sup> micro-organisme le plus impliqué en tant qu'agent responsable de maladies dans les établissements de santé avec 6.5 % des cas recensés, derrière *Escherichia coli* (23,6 %), *Staphylococcus aureus* (13,8 %) mais devant *Pseudomonas aeruginosa* (6,3 %). Cette prépondérance est liée en partie à sa capacité à s'adapter à des environnements hostiles et rend le traitement de ces infections particulièrement difficile.

La compréhension des capacités d'invasion, d'adaptation, de colonisation et de survie de ces pathogènes opportunistes dans l'hôte représente donc un intérêt considérable pour le développement de nouveaux moyens de prévention de ces infections. En effet, parmi les stratégies développées par la bactérie, l'évasion immunitaire et l'utilisation de nutriments secondaires en l'absence de source de carbone préférée (souvent limitées chez l'hôte), semblent être des aspects essentiels et qui ont jusqu'à présent été beaucoup négligés.

Depuis de nombreuses années, le laboratoire CBSA (anciennement laboratoire U2RM) travaille sur ces aspects de consommation des nutriments, et en particulier des sources d'énergie utilisées par l'exploitation de sucres mobilisables à l'intérieur de l'hôte. Nous avons d'ailleurs montré lors de plusieurs études qu'un certain nombre de gènes impliqués dans l'utilisation d'une large gamme de polysaccharides était induit en condition d'infection. Ces résultats suggèrent que la recherche de sources de carbone chez l'hôte est une problématique importante pour la survie de la bactérie, sa persistance et donc son pouvoir pathogène.

Ainsi, chez *E. faecalis*, de nombreux travaux décrivent la présence de protéines de type glycosyl hydrolases ayant une activité liée à l'utilisation des glycosylations des protéines de l'hôte. La caractérisation des protéines EndoE, EfEnd018a et EfChi18A (chitinase) a été récemment réalisée chez *E. faecalis*, confirmant leur rôle dans la déglycosylation des protéines de l'hôte et leur utilisation comme source de carbone. Cependant, le rôle des polysaccharide lyases (PL) reste à confirmer. Deux PL sont référencées dans le génome d'*E. faecalis* (HylA et HylB). Ces protéines sont des adhésines protéiques appartenant à la famille MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) localisées à la surface de la bactérie. Lors de travaux initiés au laboratoire CBSA, nous avons montré que le gène *hylA* code pour une hyaluronidase. Cette enzyme est capable de dégrader les glycosaminoglycanes (GAG) et est impliquée dans la formation du biofilm et la virulence de la bactérie. Ce gène est sous le contrôle d'un régulateur transcriptionnel de la famille BglG du métabolisme du N-acétylglucosamine (GlcNAc). Ce régulateur transcriptionnel gouverne un régulon important (incluant potentiellement les protéines impliquées dans le transport et l'utilisation du GlcNAc, EndoE, HylB, EngEF). Enfin, la protéine HylB est considérée comme un facteur de virulence impliqué dans les endocardites.

Les GAG sont trouvés dans la matrice extracellulaire et représentent des potentielles sources de carbone pour les pathogènes. Les enzymes dégradant les GAG sont largement distribuées dans la nature et sont structurellement diversifiées selon qu'elles sont produites par des organismes eucaryotes ou procaryotes. Ces enzymes catalysent la dépolymérisation des GAG et sont classées selon leur mécanisme enzymatique en deux catégories, les hydrolases et les lyases. L'enzyme HylB appartient à la famille des PL de type 8. Cette famille est constituée d'enzymes bactériennes sécrétées et capables d'agir sur les GAG. L'analyse de la séquence protéique de cette enzyme montre qu'elle possède un motif de liaison au sulfate de chondroïtine ce qui laisse supposer une action de dégradation de ce GAG par *E. faecalis*.

Le sulfate de chondroïtine est l'un des GAG au même titre que l'acide hyaluronique, le kératane, les sulfates de dermatane et d'héparane. C'est un polysaccharide acide formé linéairement à partir de disaccharides répétés (motifs acide glucuronique et N-acétyl galactosamine-sulfate) et se retrouve dans le tissu conjonctif et cartilagineux. Les enzymes de dégradation sont nommées chondroïtinases et catalysent des réactions avec un degré extrêmement élevé de stéréospécificité, cette dernière dépendant non seulement de la nature des sucres qui les composent mais aussi de la position de la sulfatation. Notre hypothèse est que *E. faecalis* est capable de dégrader et de transporter les produits de dégradation de ce GAG sous la forme de tetra- ou disaccharide, ou bien d'unité d'acide glucuronique ou N-acétyl galactosamine-sulfate, et de les utiliser comme sources de carbone et d'énergie.

De nombreux pathogènes possèdent des activités enzymatiques de type chitinase ou hyaluronidase, mais le lien entre la présence de ces enzymes et la virulence demeure mal compris. Il est donc intéressant de caractériser fonctionnellement HylB afin de faire la lumière sur son rôle *in vivo*. Le projet EMINENCE proposé dans le cadre d'allocations établissement 2023, vise à mieux comprendre le processus infectieux d'*E. faecalis*, notamment en caractérisant une activité de type chondroïtinase et en mettant en évidence son lien potentiel avec la virulence de la bactérie. Le projet est proposé en continuité des travaux réalisés au laboratoire CBSA. Durant cette étude, il s'agira d'identifier les mécanismes de dégradation mis en place par la bactérie lui permettant d'utiliser des substrats issus du sulfate de chondroïtine comme potentielles sources de carbone et d'énergie lors de la colonisation.

**Financement :** Contrat doctoral établissement, sous réserve d'acceptation du financement.  
Durée : 01/09/2023-31/08/2026

**Laboratoire d'accueil :** Unité de recherche Communication Bactérienne et Stratégie Anti-infectieuses (UR CBSA), Université de Caen Normandie.

L'unité de recherche CBSA est issue de la fusion du Laboratoire de Microbiologie Signaux et Microenvironnement (LMSM) EA4312 (Université de Rouen Normandie) et de l'équipe Stress-Virulence de l'U2RM EA4655 (Université de Caen Normandie) et focalise ses travaux sur le Rôle de la communication et des signaux environnementaux dans l'adaptation, la réponse aux stress et la virulence bactériennes, et le développement de nouvelles stratégies anti-infectieuses. L'UR CBSA s'intéresse aux systèmes de perception et de transduction des signaux de stress et aux différents mécanismes de communication entre bactéries ou entre bactéries et hôte, conduisant à une réponse moléculaire concertée et à l'expression de leur virulence et de la résistance/tolérance aux antibiotiques. Ces processus sont explorés dans plusieurs modèles complémentaires d'interactions hôte-bactérie chez l'Homme et la plante. La compréhension des mécanismes moléculaires d'adaptation permettra d'évaluer les risques microbiologiques et de développer de nouvelles stratégies de lutte contre des bactéries pathogènes de l'Homme et des plantes.

**Profil recherché :**

Nous recherchons un·e candidat·e ayant obtenu un master dans le domaine de la microbiologie. Il·elle doit avoir de bonnes connaissances et compétences en microbiologie, biologie moléculaire et biochimie ainsi que de de bonnes qualités relationnelles et rédactionnelles.

**Modalités de candidature :**

Merci d'envoyer un CV, une lettre de motivation et les relevés de notes du master à :  
Nicolas Sauvageot nicolas.sauvageot@unicaen.fr et Cécile Muller cecile.muller@unicaen.fr

**Date limite de candidature :** 12/06/2023