

---

## BACTERIES ALIMENTAIRES ET STRESS DIGESTIF

---

Les travaux de cette thèse ayant étudié plus en détail la réponse au stress digestif de deux bactéries, la réponse spécifique au stress eucaryote ne sera pas abordée.

### 4.1. Réponse générale au stress des bactéries

La réponse générale au stress des bactéries leur permet de survivre, dans un environnement dans lequel des facteurs clés liés à leur homéostasie sont fluctuants. En effet, la température, le pH, le potentiel redox, le pH, la présence de molécules toxiques, la présence/absence d'oxygène, la disponibilité des nutriments, entres autres, sont sujets à des variations ayant un impact parfois négatif sur les cellules et celles-ci doivent s'adapter (Requeno et al., 2012).

Cette réponse générale est au cœur d'un système de perception de l'environnement, de circulation de l'information au sein de la cellule, ainsi que de la réponse proprement dite, mise en place pour rétablir un équilibre perturbé. Un stress n'arrivant que rarement seul, ces mécanismes de « sensing » et de réponse interagissent les uns avec les autres.

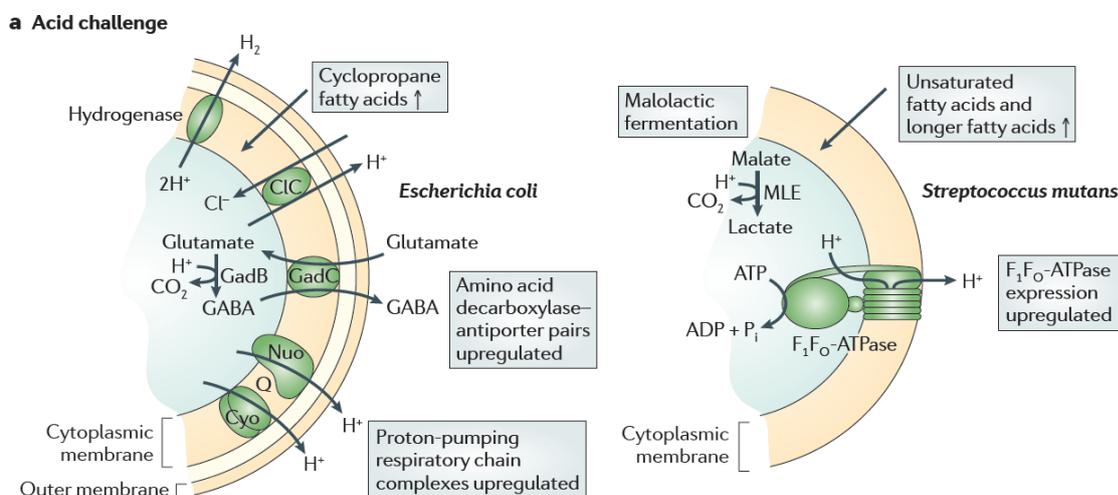
Parmi les systèmes les plus importants chez les bactéries, on peut citer la famille des « heat-shock proteines » telles que DnaK, GroEL et GroES et leur contrôle par le facteur sigma 32, les « cold-shock proteins », les enzymes luttant contre le stress oxydant telles que la catalase (Kat), ou la superoxide dismutase (Sod) (Farr et al.1991). La liste de ces protéines, impliquées dans la détection, la réparation et l'éventuelle dégradation des protéines, acides nucléiques ou autres molécules devenues non-fonctionnelles suite à un stress cellulaire, n'est pas exhaustive.

Les travaux de cette thèse s'intéressent à la réponse aux stress rencontrés dans l'estomac, liés en majeure partie au stress acide, ainsi que les stress rencontrés dans le duodénum, liés en majeure partie à la présence de sels biliaires ; les deux prochaines sections aborderont donc les mécanismes généraux décrits à l'heure actuelle concernant ces deux stress majeurs rencontrés par les bactéries lors de leur passage dans le tractus digestif.

## 4.2. Réponse au stress acide rencontré dans l'estomac

Le stress acide rencontré au sein du tractus digestif est matérialisé par le passage au sein de l'estomac. Comme nous l'avons vu dans la section 2.2.1, le pH peut atteindre des valeurs extrêmes comprises entre 4,5 et 2 au cours de la digestion. Ces conditions sont extrêmement sévères pour les micro-organismes, surtout pour les bactéries d'affinage dont le pH de croissance se situe autour de la neutralité, voire légèrement basique (Bockelman et al. 2002).

Afin de limiter l'acidification du milieu intracellulaire, divers mécanismes ont été décrits. La revue de Krulwich et al. (2011) offre une excellente synthèse de ce qu'à la fois les bactéries à Gram-positif et les bactéries à Gram-négatif peuvent mettre en place pour excréter des protons ou activer des voies métaboliques contribuant à les consommer. La Figure 18 représente l'adaptation du métabolisme d'*Escherichia coli* et de *Streptococcus mutans* à un stress acide. Il apparaît clairement que certaines voies telles que le métabolisme des acides aminés (voie du glutamate), la chaîne respiratoire (Nuo, Cyo,  $F_1F_0$ -ATP synthase) ou encore la fermentation malolactique, sont détournées de leur fonction première afin de permettre une gestion du stress acide, soit par la consommation de protons, soit par leur excrétion directe.



**Figure 18 : Exemple d'adaptation de bactéries « neutrophiles » afin de répondre à un stress acide. Adapté de Krulwich et al (2011).**

GABA :  $\gamma$ -aminobutyrate ; GadC : glutamate/ Acide  $\gamma$ -aminobutyrate antiporteur ; GadB glutamate decarboxylase- $\beta$  ; Cyo : cytochrome bo ; MLE : malolactic enzyme ;  $F_1F_0$ -ATPase :  $F_1F_0$ -ATP synthase ; Nuo : NADH-ubiquinone oxidoreductase.

La sur-expression d'enzymes impliquées dans la consommation des protons cytoplasmiques telles que les hydrogénases et les décarboxylases, fait aussi partie des mécanismes de réponse (Kannan et al., 2008 ; Slonczewski et al. 2009). Le métabolisme de l'urée a aussi été démontré comme clé dans l'adaptation aux conditions acides extrêmes telles que celle rencontrées dans l'estomac. La bactérie responsable de certains ulcères gastriques, *Helicobacter pylori*, utilise la capacité de l'uréase à produire de l'ammoniaque et du bicarbonate pour maintenir un pH aux alentours de 6 dans son espace périplasmique alors que les conditions extérieures avoisinent pH 2 (Bauerfeind et al., 1997). Les bactéries peuvent aussi transporter les protons vers le milieu extracellulaire, soit sous forme de dihydrogène par l'intermédiaire d'hydrogénases (Nogushi et al., 2010), soit par l'intermédiaire de transporteurs de cations (symport et/ou antiport) (Hunte et al. 2005).

En plus de mécanismes de réponse à proprement parler, le « sensing » des variations du pH intracellulaire, ainsi que la régulation de ces mécanismes, sont des phénomènes importants. Certains facteurs sigma dont le  $\sigma^B$  ou encore les systèmes à deux composantes (histidine-kinase associée à la membrane couplée à un régulateur cytoplasmique), ont été respectivement décrits chez *Bacillus subtilis* et *Listeria monocytogenes*, comme fortement impliqués dans la réponse au stress acide (Akbar et al., 2001 ; Cotter et al., 1999). La réponse au stress acide étant complexe et assez documentée, nous nous arrêterons ici concernant sa description. Les travaux de cette thèse n'ont en effet pas pour objectif l'étude approfondie de la mécanistique de cette réponse.

### **4.3. Réponse au stress biliaire rencontré dans le duodénum**

La structure des sels biliaires a été abordée dans la section 2.3.1. La réponse à leur exposition chez les bactéries a été très bien décrite dans la revue de Begley et al. (2005). Malgré les 10 ans écoulés depuis cette synthèse, elle reste d'actualité, les mécanismes de réponse au stress biliaire étant encore relativement peu connus. Ces sels biliaires peuvent endommager les membranes des cellules bactériennes, causer des dommages à l'ADN et à l'ARN, une fois rentrés dans le cytoplasme ou encore provoquer un stress oxydatif (Begley et al., 2002 ; Bernstein et al., 1999). En effet, les sels biliaires non-conjugués (fortement hydrophobes) peuvent diffuser passivement à travers la membrane. Les sels biliaires conjugués sont ionisés au pH physiologique et ne rentrent dans la cellule que si un transporteur peut les prendre en charge (Begley et al., 2005).

Les bactéries présentes dans le tractus digestif sont attendues comme résistantes, à des degrés variables, aux sels biliaires. En effet, ces bactéries doivent toutes supporter une concentration minimale en sels biliaires. Cependant, certaines souches de *Salmonella typhimurium* peuvent aller jusqu'à coloniser la vésicule biliaire, dans laquelle la bile est stockée et donc très concentrée (Prouty et al., 2002). L'adaptation à cette présence de sels biliaires est assez difficile à généraliser puisqu'elle semble très différente d'une espèce à l'autre, voire au sein d'une même espèce (souche-dépendance) (Begley et al., 2005). Chez les bactéries à Gram-négatif, le lipopolysaccharide (LPS) semble impliqué dans certaines formes de résistance (Prouty et al., 2002). Les systèmes de pompes à efflux appartenant à la famille des « Multi-Drug Resistance » protéines sont cités chez les bactéries à Gram-négatif (ex. EmrAB, et AcrAB chez *E. coli* et *S. typhimurium*) (Lacroix et al. 1996, Begley et al. 2005). La « bile salt hydrolase », enzyme capable de déconjuguer les sels biliaires et de limiter leur toxicité tout en facilitant leur export de la cellule, a été décrite chez des lactobacilles probiotiques (Ramasamy et al. 2009). Toujours chez les bactéries à Gram-positif, Leverrier et al. (2003) ont mis en évidence la capacité de certaines souches de *Propionibacterium freudenreichii* à réagir au stress biliaire en sur-exprimant certaines protéines impliquées dans la transduction du signal et la réponse générale au stress. Il est intéressant de noter que les travaux de Leverrier et al. (2003) ainsi que ceux de Flahaut et al. (1996) (concernant, quant à eux, *Enterococcus faecalis*), ont montré qu'une exposition préalable à un stress acide ne protégeait pas nécessairement d'un stress biliaire ultérieur – *i.e.* pas de « cross-adaptation » –, voire, pouvait conduire à une sensibilisation du micro-organisme.

D'une manière générale, la résistance de micro-organismes pathogènes ou probiotiques a été évaluée en cultivant ces micro-organismes dans des milieux contenant des sels biliaires et en analysant la survie de certaines souches « locus-disruptées » pour certaines fonctions (exemple de *L. monocytogenes* chez Begley et al., 2002), mais la compréhension des mécanismes sous-tendant cette résistance restent mal-connus.