

Identification, par hybridation suppressive soustractive (SSH) et par microarray, de facteurs de virulence impliqués dans l'attachement initial et dans la spécificité d'hôte de souches entérohémorragiques d'*Escherichia coli* (EHEC) appartenant au séro groupe O26.

Bardiau M., Mainil J.

Faculté de Médecine Vétérinaire – Université de Liège – Sart-tilman, B43a – 4000 Liège

Les souches entérohémorragiques d'*Escherichia coli* (EHEC) sont des pathogènes émergents responsables de toxico-infections alimentaires et représentent un problème important en santé publique. Elles sont la cause majeure de diarrhées sanglantes et d'infections rénales aiguës caractérisées par la production de colites hémorragiques (HC) et du syndrome hémolytique urémique (HUS). L'infection est parfois fatale, en particulier chez les enfants et les personnes âgées.

Plusieurs sérogroupes EHEC (O26, O111, O118 par exemple) infectent également les veaux âgés de deux semaines à deux mois en causant des désordres digestifs. Il en résulte des pertes économiques importantes.

La pathogénie des EHEC se déroulent probablement en trois étapes : (1) un attachement initial via des adhésines particulières, (2) un attachement secondaire et une colonisation caractérisés par la production de lésions histologiques d'attachement et d'effacement et (3) la production de vérotoxines.

Les facteurs impliqués dans la spécificité d'hôte restent encore inconnus pour les souches EHEC. De tels facteurs pourraient être basés sur les protéines impliquées dans les étapes de colonisation. Les adhésines de ces souches (protéines responsables de l'attachement initial de la bactérie à l'intestin) sont des candidats potentiels mais ne sont pas encore complètement identifiés.

Le but de cette étude est d'identifier les facteurs impliqués dans l'attachement initial et dans la spécificité d'hôte des souches EHEC O26. Sur base de ces nouveaux facteurs, des outils diagnostiques supplémentaires pourront être développés.

L'identification des facteurs impliqués dans l'attachement initial et dans la spécificité d'hôte est basée sur deux techniques différentes : l'hybridation suppressive soustractive (SSH) et les microarray. La première technique va permettre la comparaison génomique d'une souche EHEC O26 pathogène bovine avec, d'une part, une souche EHEC O26 non-pathogène bovine et avec, d'autre part, une souche EHEC O26 pathogène humaine. Les fragments spécifiques ainsi trouvés seront clonés et séquencés. Deuxièmement, la technique des microarray va permettre de comparer les transcriptomes de souches EHEC O26 après, d'une part, croissance *in vitro* en milieu liquide et, d'autre part, au contact de cellules eucaryotes en culture.

Après avoir identifié ces fragments, ceux-ci seront comparés aux séquences disponibles dans les bases de données, les candidats présentant des similitudes de séquence avec des adhésines potentielles et avérées seront retenus. L'inactivation de ces candidats par mutagenèse permettra ensuite d'évaluer leur rôle dans la pathogénie par comparaison d'une souche mutée et de la souche parentale dans des tests d'adhésion sur cellule en culture. Finalement, la répartition de ces gènes dans une collection de souches *Escherichia coli* de pathotypes, de sérogroupes, d'hôtes différents sera établie par hybridation ADN-ADN sur colonies.

Bibliographie

1. Mainil J.G., Daube G. (2005) Verotoxigenic *Escherichia coli* from animals, humans and foods: who's who? *J. Appl. Microbiol.* **98**, 1332-1344.
2. Szalo I.M., Taminiau B., Goffaux F., Pirson V., McCappin J., Ball H.J., Mainil J.G. (2004) 2F3 Monoclonal antibody recognizes the O26 O-Antigen Moiety of the lipopolysaccharide of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strain 4276. *Clin.Diagn.Lab.Immunol* **11**, 532-537.
3. Nataro J.P., Kaper J.B. (1998) Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.* **11**(1), 142-201.
4. Winstanley C. (2002) Spot the difference: applications of subtractive hybridization to the study of bacterial pathogens. *J.Med.Microbiol.* **51**, 459-467.