



Responsable : Michèle MOCK ([mmock@pasteur.fr](mailto:mmock@pasteur.fr))

## Résumé

*Bacillus anthracis* est l'agent de la maladie du charbon. La virulence de *B. anthracis* nécessite simultanément la synthèse de toxines et la formation d'une capsule. Les recherches portent sur : la structure et le mode d'action cellulaire des toxines, leur rôle dans la pathogénèse, la contribution des structures de surface de la spore et de la bactérie dans l'interaction de ce pathogène avec l'hôte. Dans le domaine de la vaccination anti-charbonneuse, une composition vaccinale efficace, à usage humain, a été mise au point. Les mécanismes de protection impliqués sont analysés.

## Rapport d'activité

### La surface de la spore (Patricia Sylvestre - Michèle Mock)

La spore est à la fois la forme de persistance de *B. anthracis* dans l'environnement et la forme infectante qui enclenche l'infection après germination dans l'hôte. La structure la plus externe de la spore, l'exosporium, et son rôle dans l'interaction précoce avec l'hôte ainsi que sa contribution éventuelle dans l'immunoprotection sont analysés. Une glycoprotéine, appelée BclA (pour *B. acillus collagen-like*), constituante de l'exosporium, a été caractérisée. Sa région centrale présente une forte similitude avec le collagène mammifère. BclA est le composant structural des filaments situés à la surface de l'exosporium. L'étude du rôle de BclA est poursuivie par l'analyse des propriétés de mutants dépourvus de cette structure filamenteuse.

### Toxines de *Bacillus anthracis* — Approches vaccinales et thérapeutiques (Alex Piris Gimenez — Pierre Goossens - Michèle Mock)

*Bacillus anthracis* produit deux toxines composées de trois protéines : la toxine létale (PA + LF) et la toxine œdémogène (PA + EF). PA (antigène protecteur) joue un rôle-clé dans la pathogénèse, il est le composant commun qui permet de fixer et de délivrer EF (facteur œdémogène) et LF (facteur léthal) dans les cellules eucaryotes cibles. EF est une adényl cyclase calmoduline-dépendante et LF, une métalloprotéase qui agit spécifiquement sur la famille des MAPK Kinases. Les structures tridimensionnelles de PA, EF et LF sont connues et montrent une organisation en domaines fonctionnels. Des inhibiteurs spécifiques de l'activité enzymatique de LF ont été trouvés et nous apportons notre concours pour tester leur intérêt thérapeutique au cours de l'infection.

Des souches de *B. anthracis* produisant la protéine PA mutée dans ses différents domaines fonctionnels ont été construites. L'étude de leurs propriétés *in vivo* indique une corrélation entre les étapes du mode d'action cellulaire des toxines et le processus infectieux. Une souche isogénique de la souche vaccinale vétérinaire Sterne, produisant les protéines LF et EF génétiquement détoxifiées, confère une protection totale contre une épreuve létale chez l'animal de laboratoire.

Par ailleurs, nous développons un projet d'amélioration du vaccin à usage humain. En effet, celui mis au point dans les années 60, basé sur l'immunité envers les toxines via PA, est peu satisfaisant. Notre travail montre que l'adjonction de spores inactivées à PA augmente considérablement l'efficacité protectrice de ce vaccin, la rapprochant de celle du vaccin vivant. D'après les tests d'efficacité déjà réalisés, cette formule vaccinale offre des perspectives pour l'amélioration de la vaccination humaine. L'analyse des mécanismes de protection induits par ce protocole de vaccination est réalisée. Nous avons ainsi développé un modèle d'infection cutanée chez la souris de façon à caractériser, d'une part l'infection, localement, au niveau du site infecté, et d'autre part les mécanismes de dissémination à distance vers le/les ganglion(s) drainant(s) et dans l'organisme en son entier. La comparaison de ces événements chez l'hôte naïf et chez l'hôte immunisé nous permet de poser des hypothèses précises sur les mécanismes pouvant être mis en œuvre pour contrôler l'infection. En collaboration avec le CRESSA, un modèle d'infection par aérosol et par voie intranasale a été mis en place pour étudier l'efficacité de la vaccination sur une infection par voie respiratoire, ceci dans le cadre de la lutte contre le bioterrorisme.

A côté de l'étude de la réponse adaptative à la vaccination, nous étudions les mécanismes de l'immunité innée qui pourraient intervenir dans le contrôle précoce de la germination et de la dissémination de *B. anthracis*. Nous caractérisons actuellement un composant sécrété par les macrophages alvéolaires, composant possédant une activité bactéricide très efficace pour *B. anthracis*.

La germination de la spore peut avoir lieu dans le phagolysosome des macrophages. Cette étude est poursuivie par l'analyse de l'interaction entre les spores de différentes souches mutantes et recombinantes de *B. anthracis* avec des cellules hôtes potentielles (macrophages, cellules dendritiques).

### La surface du bacille (Tâm Mignot — Thomas Candela - Agnès Fouet)

Les bacilles isolés d'animaux malades du charbon sont capsulés. La capsule recouvre une couche structurée formant un réseau, appelée couche S. Cependant, capsule et couche S peuvent être synthétisées indépendamment. La couche S est constituée de deux protéines abondantes, Sap et EA1, qui sont synthétisées différemment au cours de la croissance et selon les milieux de culture. Ainsi, à tout moment une protéine domine et constitue la couche S. Une seule de ces protéines semble être synthétisée chez l'hôte. Les protéines de couche S possèdent chacune dans leur région N-terminale, une séquence répétée trois fois. Ce domaine permet l'ancrage des protéines de couche S, d'amidases et de protéines hétérologues, à un polysaccharide associé au peptidoglycane qui doit pour cela être modifié. Ce mécanisme d'ancrage non covalent est retrouvé dans de nombreuses espèces bactériennes. Au sein du groupe *cereus*, seules des souches pathogènes possèdent une couche S.

La capsule a un rôle antiphagocytaire. Au moins trois protéines dont les gènes sont organisés en opéron, interviennent dans la synthèse de la capsule. Une quatrième protéine, dont le gène fait également partie de cet opéron, intervient dans la dégradation de l'excès de capsule. Un régulateur commun intervient pour contrôler la synthèse des composants des toxines, des composants de la couche S et des protéines de biosynthèse de la capsule.

## Phylogénie et écologie de *B. anthracis* (Agnès Fouet - Tâm Mignot - Michèle Mock)

*B. anthracis*, *B. cereus* et *B. thuringiensis* appartiennent au groupe *B. cereus*. Une analyse biomoléculaire approfondie impliquant de nombreux *B. cereus* a permis de définir que, sur des bases génétiques, ces trois bactéries sont en fait une même espèce. PlcR, régulateur transcriptionnel de nombreux gènes exprimés en phase stationnaire (régulon PlcR) est présent et fonctionnel chez tous les *B. cereus*/*B. thuringiensis*, où il a été recherché. Curieusement, chez *B. anthracis*, le gène *plcR* est interrompu ; néanmoins le régulon est présent et l'addition, par recombinaison génétique, du gène *plcR* de *B. thuringiensis* en rétablit l'expression. Nous avons montré que la contre-sélection de PlcR chez *B. anthracis* provient de ce qu'il inhibe la sporulation, nécessaire à la persistance de cette bactérie dans l'environnement.

L'épidémiologie moléculaire du charbon en est à ses débuts. Cette zoonose des mammifères de répartition mondiale a considérablement régressé dans les pays occidentaux depuis la fin du siècle dernier. Néanmoins, le charbon existe toujours en France où il apparaît, chaque année, de façon sporadique dans diverses régions. Des études phylogénétiques sur une collection de souches françaises de *B. anthracis*, collectées par l'AFSSA, ont révélé qu'elles appartiennent aux deux grands groupes (incluant plus de 80 génotypes) définis mondialement. De plus, quatre génotypes sont définis uniquement par des souches françaises. L'approche moléculaire, utilisée dans ce travail, permet d'établir la provenance d'une souche analysée. Ces études sont désormais développées dans le cadre du CNR Charbon, créé en 2002.

**Mots-clés:** Anthrax, surface, toxins, virulence, spores, vaccine

## Publications de l'unité

> [Toutes les publications sur notre base de données](#)

## Personnel

Secrétariat	Chercheurs	Stagiaires	Autre personnel
FERRAND Mireille, IP, (mmferranpasteur.fr)	FOUET Agnès (CNRS, Directeur de recherche 2e classe)  GOOSSENS Pierre (IP, Chargé de recherche)  POPOFF Michel-Robert* (IP, chef de laboratoire)	CANDELA Thomas, doctorant UP7  BOEHM Catherine*, DEA Muséum d'Histoire Naturelle  MARVAUD Jean-Christophe*, chercheur contractuel  MIGNOT Tâm, doctorant UP7  MOYA-NILGES Maryse, chercheur contractuel  PIRIS GIMENEZ Alejandro, Vétérinaire, chercheur contractuel  RAFFESTIN Stéphanie*, doctorante UP7  SYLVESTRE Patricia, doctorante UP7	BEDORA Marie* (IP, Technicienne Supérieure)  CARLIER Jean-Philippe* (IP, Ingénieur de Recherche)  COUTURE-TOSI Evelyne (IP, Ingénieur de Recherche)  GIBERT Maryse* (IP, Technicienne Supérieure)  K'OUAS Guylène* (IP, Technicienne de laboratoire)  HAUSTANT Georges (IP, Technicien de laboratoire)  LEVY Martine (IP, Technicienne Supérieure)  MANICH Maria* (IP, Technicienne Supérieure)

Rapports d'activité 2002 - Institut Pasteur

 [Début de page](#)

 [Sommaire](#)

 [Portail Institut Pasteur](#)

En cas de problèmes, de remarques, ou de questions concernant cette page Web écrire à [rescom@pasteur.fr](mailto:rescom@pasteur.fr)