

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **14 décembre 2023**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur SORO Sionfoungo**

Titre de la thèse : « *Leptospires et vitamine K : Identification et caractérisation de nouveaux mécanismes de virulence* »



Résumé

La leptospirose est une zoonose bactérienne re-émergente ubiquitaire causée par un spirochète appartenant au genre *Leptospira*. Son cycle épidémiologique est complexe faisant intervenir l'Homme en tant qu'hôte accidentel. Elle entraîne des répercussions significatives aussi bien chez les humains que chez les animaux. Endémique surtout dans les régions tropicales et intertropicales, de plus en plus de cas sont rapportés dans les pays développés. Elle touche près d'un million de personnes par an mais son incidence réelle reste sous-estimée au regard du polymorphisme de son tableau clinique allant d'un syndrome fébrile anictérique observé dans la grande majorité des cas à des défaillances multiviscérales potentiellement mortelles.

La mise en place de moyens de diagnostics de certitude rapides et fiables, de prise en charge des patients et d'élaboration de vaccin optimal sont des aspects fondamentaux à améliorer. Le traitement de la maladie repose sur l'administration de nombreux antibiotiques dont l'efficacité dans les cas graves est sujette à une prescription précoce. De plus, face à la recrudescence des problèmes d'antibiorésistance devenant de nos jours un véritable problème de santé publique, il apparaît donc fondamental de disposer de moyens alternatifs d'autant plus que la grande diversité de souches bactériennes complexifie d'avantage la compréhension de leurs mécanismes de virulence.

Dans cette perspective, une analyse du génome de *L. interrogans* a montré l'existence d'un gène, VKOR, très proche du gène VKORC1 retrouvé chez les mammifères et impliqué dans le cycle de

la vitamine K. La VKORC1 joue un rôle dans le repliement des protéines et est inhibée par les anticoagulants antivitamines K (AVK) chez les mammifères et certaines bactéries. Chez les leptospires, elle pourrait être impliquée dans la formation de ponts disulfures indispensables à leur motilité et à leur virulence.

Nous avons dans un premier temps montré par analyse d'alignement de séquences la présence de la VKOR dans tout le genre *Leptospira* avec une certaine variabilité suivant la souche de leptospires. En l'absence de données structurales, nous avons construit, par des méthodes *in silico*, un modèle 3D de la VKOR à l'échelle atomique. Des simulations de dynamique moléculaire de la protéine ont permis d'identifier les substrats potentiels de la VKOR, les résidus de cystéine les plus susceptibles de former des ponts disulfures, ainsi que ceux qui contribuaient fortement aux interactions.

Dans un second temps, nous avons mis au point un protocole qui pourra servir à la caractérisation de l'activité enzymatique de la VKOR des leptospires, à partir de la VKORC1 des mammifères. Celui-ci est basé sur le système redox combinant le réducteur NADPH et les protéines Thioredoxin reductase (TrxR) et Thioredoxin1 (Trx).

Partant du postulat que l'inhibition de la VKOR pourrait avoir des répercussions sur la motilité des leptospires, nous avons mis au point une méthode de reconstitution de trajectoires basée sur la vidéomicroscopie et l'implémentation d'un script Python afin de suivre le comportement motile des leptospires en présence d'inhibiteurs de la VKOR. Deux études de terrain sur le portage leptospirosique de campagnols terrestres (*Arvicola terrestris*) dans le Puy-de-Dôme et de rats bruns (*Rattus norvegicus*) à Lyon et Bordeaux ont permis l'acquisition de nouvelles souches bactériennes pour les tests d'application de notre méthode. Ces deux études ont permis d'évaluer le risque potentiel de transmission de la leptospirose de ces rongeurs à l'homme dans les zones étudiées.

Le but principal de nos travaux étant de mettre en évidence de nouveaux marqueurs génétiques potentiels des leptospires, cette étude ouvre la voie à une nouvelle cible thérapeutique inhibable par les anticoagulants antivitamines K.

Mots-clés : Leptospires, Motilité, Virulence, VKOR, Cible, Antivitamine K, Modélisation

