

Impact de la Résistance aux Peptides Antimicrobiens et aux Composés Toxiques sur les Interactions Bactéries-Insectes : Cas des Infections par *Photorhabdus luminescens* et *Bacillus cereus*

Les peptides antimicrobiens (PAMs) sont les principaux effecteurs de la réponse immunitaire humorale des insectes. Les entérobactéries des genres *Photorhabdus* et *Xenorhabdus* et les bacilles à Gram-positif *Bacillus cereus* et *Bacillus thuringiensis* sont capables d'infecter et tuer de nombreux insectes à l'état larvaire. Ceci suggère qu'ils développent des stratégies de résistance à ces peptides. L'objectif de ce travail a été d'identifier les gènes qui confèrent la résistance aux PAMs chez *P. luminescens* et *B. cereus* et d'étudier leur rôle dans l'infection chez les insectes.

Dans un premier temps, nous avons démontré que la résistance *in vitro* aux PAMs des souches de *Xenorhabdus* n'est pas corrélée à leur virulence chez les insectes contrairement à celle de *P. luminescens* et *B. thuringiensis*.

Chez *P. luminescens*, nous avons identifié le gène *msbB* (*lpxM*) qui code une acétyltransférase impliquée dans l'acylation secondaire du lipide A du LPS. L'expression hétérologue de *msbB* de *P. luminescens* chez un mutant *lpxM* de *Klebsiella pneumoniae* sensible aux PAMs complète la résistance de ce mutant aux PAMs. En parallèle, nous avons étudié le rôle de la pompe à efflux MdtABC de *P. luminescens* durant le processus infectieux. La délétion du gène *mdtA* de *P. luminescens* a montré que ce gène n'est essentiel ni à la résistance à divers agents antimicrobiens (dont les PAMs) ni à la virulence chez les insectes. En utilisant une souche de TT01 contenant une fusion transcriptionnelle entre le promoteur du gène *mdtA* et le gène rapporteur codant la GFP (*Green Fluorescent Protein*), nous avons montré que l'expression des gènes *mdtABC* n'est pas constitutive *in vitro* mais qu'elle est significativement induite par le cuivre. Néanmoins, cet opéron est fortement induit après culture dans des surnageants de cultures bactériennes en phase stationnaire et durant les phases tardives de l'infection chez les insectes. Cette forte induction est observée exclusivement au niveau des bactéries qui colonisent les matrices extracellulaires de l'organe hématopoïétique de *Locusta migratoria* et du tube digestif de *Spodoptera littoralis*. Pour la première fois chez une bactérie entomopathogène, nous avons mis en évidence un signal spécifique d'un tissu de l'insecte induisant l'expression de gènes bactériens durant l'infection.

Enfin, nous avons étudié le locus *dlt* de *B. cereus* impliqué dans la D-alanylation des acides téchoïques chez les bactéries à Gram-positif et dont une région similaire est retrouvée chez *P. luminescens*. Nous avons démontré qu'un mutant de l'opéron *dlt* de *B. cereus* est fortement sensible *in vitro* à l'action des PAMs cationiques dont ceux de l'immunité innée des insectes tels que le lysozyme et un PAM inductible la cécropine B de *Spodoptera frugiperda*. Ce mutant est également avirulent par injection intrahémocoelique chez les insectes. Ces derniers résultats illustrent bien la corrélation entre la résistance aux PAMs et la virulence chez les bactéries entomopathogènes.