

PROPOSITION SUJET de MASTER 2017-2018

TITRE : Propriétés anti-adhésives des membranes des globules gras laitiers réduisant la colonisation du tractus intestinal par les *E. coli* producteurs de shiga-toxines

Nom, Prénom du Maitre de Stage : SERGENTET Delphine

Qualité : Maitre de Conférences

Téléphone : 04 78 87 25 99

E-mail : delphine.sergentet@vetagro-sup.fr

Nom, Prénom du co-encadrant éventuel :

Qualité :

Téléphone :

E-mail :

Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe : UMR CNRS 5557 Ecologie Microbienne (Y. Moëgne-Loccoz), Equipe BPOE « Bactéries Pathogènes Opportunistes et Environnement (resp. B. Cournoyer) ».

Adresse :

VetAgro Sup, aile 3 niveau 1. 1 avenue Bourgelat 69280 Marcy L'Etoile

Nom du candidat éventuellement proposé :

S'il n'est pas retenu, acceptez-vous un autre candidat ?

Oui - Non

Contexte du sujet :

Les *Escherichia coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) pathogènes sont des bactéries associées à des épidémies alimentaires de grande envergure et des cas sporadiques dans le monde entier. L'infection est le plus souvent liée à la consommation de viande hachée insuffisamment cuite, de lait ou fromage au lait cru et de végétaux. En 2009, en France, un plan de surveillance a permis d'évaluer la prévalence des STEC dans la viande hachée crue et les fromages au lait cru. Cette étude a montré une prévalence respectivement de 0.3% et 0.9% dans la viande et les fromages au lait cru. Il semble donc paradoxal que les fromages au lait cru ne soient pas impliqués dans plus de foyers épidémiques que la viande hachée de bœuf (invs.santepubliquefrance.fr).

Les infections à STEC pathogènes sont liées à l'attachement des bactéries sur les cellules épithéliales intestinales. L'emploi d'antibiotique est à ce jour controversée. La prévention de l'adhésion bactérienne est donc considérée comme une stratégie prometteuse pour réduire ce type de maladies. Des études ont également montré que différents oligosaccharides synthétiques ou naturels (présents dans les aliments) étaient capables d'inhiber de manière efficace l'adhésion de certaines bactéries aux cellules hôtes.

Hypothèse :

Sur la base de ces données et en tenant compte du paradoxe observé pour les fromages, nous avons émis l'hypothèse que les oligosaccharides présents dans les membranes des globules gras laitiers (MGGL) (lait cru et fromages aux laits crus) pourraient être associés de manière forte aux STEC pathogènes et inhiber leur adhésion aux entérocytes dans le tractus gastro-intestinal humain. Des travaux préliminaires ont montré : (i) que les MGGL contribuent à l'inhibition de l'adhésion aux STEC à des cellules intestinales cultivée *in vitro* et que (ii) les oligosaccharides des globules gras jouent un rôle dans cette inhibition.

Objectifs :

Dans ce contexte, les objectifs de ces travaux seront :

- ① Identifier la(les) molécule(s) des MGGL impliquées dans les interactions avec les STEC.
- ② Confirmer les propriétés anti adhésives de ces oligosaccharides contre les STEC *in vitro*.

Démarche expérimentale :

Etape 1 : Identification des glycoprotéines, glycolipides and oligosaccharides du lait impliquées dans l'association des STEC avec les globules gras du lait.

Deux approches seront employées :

- Avec "a priori" : Différentes molécules présentes dans les MGGL seront testées. Leur association avec les souches STEC sera évaluée par des tests d'agglutination.
- Sans "a priori" : Les molécules impliquées seront identifiées par spectrométrie de masse.

Etape 2 : Evaluation des propriétés anti adhésives des oligosaccharides contre les STEC.

Les propriétés antiadhésives des oligosaccharides seront testées en utilisant un modèle d'épithélium intestinal humain *in vitro* (cellules Caco2 et HT29-MTX). L'efficacité des oligosaccharides sera également comparée (comparaison du nombre de bactéries adhérees).

Publications de l'équipe d'accueil :

-*Antiadhesive properties of glycoclusters against Pseudomonas aeruginosa lung infection. Boukerb, A.M et al., 2014 J. Med. Chem. 57, 10275–89.*

-*Do milk fat globule play a role against properties of EHEC to human intestinal cell cultures? Douellou et al., 2015. Poster VTEC 2015.*

-*Invited review: anti adhesive properties of oligosaccharides and bovine milk fat globules membrane associated glycoconjugates against bacterial food enteropathogens. J Dairy Scien, Douellou et al., 2016.*

Perspectives et collaborations :

Les travaux seront réalisés dans le cadre de deux projets: l'ANR Bacteri eau et le projet FINOVI Adh-EHEC. Les travaux seront réalisés en collaboration avec ces consortia dont un post doctorant et un ingénieur d'étude.