

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Anses de Fougères

Adresse : 10 B rue C. Bourgelat, 35306 Fougères cedex

Responsable du Laboratoire / Entreprise : Pascal SANDERS

Responsable de l'encadrement : Valérie Fessard

Téléphone : 02 99 94 66 85

Fax :

E-mail : valerie.fessard@anses.fr

Co-encadrant éventuel : Agnès Perrin ; Agnès.PERRIN-GUYOMARD@anses.fr

Perspectives de poursuite de thèse :

oui

non

avec une bourse spécifique

oui

non

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (2 pages maximum) :

Bactéries anaérobies commensales et cellules humaines intestinales : modèles de symbiose *in vitro* (BACCHUS)

Contexte scientifique :

Les modèles *in vitro* développés pour mimer l'épithélium intestinal humain sont essentiellement des lignées cellulaires souvent d'origine cancéreuses. Pourtant ces dernières années des modèles plus complexes ont pris un certain essor avec la réalisation de modèles 3D soit par co-cultures soit par explants. Malgré cette avancée, l'importance du microbiote intestinal n'est pas prise en compte dans la mise en place de ces modèles. Récemment cependant quelques publications relatent la réalisation de cultures intégrant cellules intestinales humaines et bactéries anaérobies (thèse de D. Ulluwishewa). Or les contaminants retrouvés dans l'alimentation peuvent impacter à la fois les populations de bactéries intestinales et les cellules de l'épithélium. Ces modèles intégratifs sont donc pertinents pour étudier les interactions entre microbiote et épithélium intestinal dans différentes circonstances et offre des potentialités d'application multiples : en présence ou non de certains contaminants, en présence d'épithéliums altérés, en présence de bactéries pathogènes, ... Au sein du laboratoire, nous disposons des compétences complémentaires en culture cellulaire sur des modèles humains intestinaux dans l'unité de toxicologie et en bactériologie sur le microbiote intestinal dans l'unité AB2R pour mettre en place ce genre de modèle ainsi que des moyens techniques nécessaires à sa réalisation (matériel pour culture cellulaire, chambre anaérobie, ...).

Objectifs

Les objectifs de ce stage seront :

- de mettre en place au sein du laboratoire le modèle proposé par D. Ulluwishewa avec des cellules intestinales Caco2 et des souches bactériennes connues pour jouer un rôle de protection contre l'inflammation intestinale, type *Faecalibacterium prausnitzii* ou *Bacteroides thetaiotaomicron*.
- de le développer en proposant des alternatives de culture (autres types cellulaires comme cellules à mucus HT29 16E, co-cultures Caco2/HT29, allongement de la durée de contact)

- de tester l'impact de molécules déjà connues pour leurs effets néfastes au niveau cellulaire (types toxines) sur les populations bactériennes et sur les effets au niveau cellulaire en particulier sur l'inflammation.

Méthodes

Les études réalisées comporteront des mesures de viabilité bactérienne soit sur milieu de culture soit par PCR, des mesures de croissance bactérienne, des mesures d'intégrité de la barrière intestinale soit de la résistance trans-épithéliale soit de la perméabilité du Jaune Lucifer, des mesures de cytotoxicité par des tests colorimétriques de type Rouge neutre et par des immunomarquages avec quantification par Array Scan (dénombrement cellulaire, translocation de NFkB, mesure d'apoptose), des mesures d'expression génique par Q PCR (marqueurs d'inflammation, production de mucines).

Ces études prendront en compte les règles d'hygiène et de sécurité pour garantir la protection du manipulateur et de son environnement.