



Lactobacillus rhamnosus Lcr35[®] as an effective treatment for preventing *Candida albicans* infections in the preclinical model *Caenorhabditis elegans*

Cyril Poupet

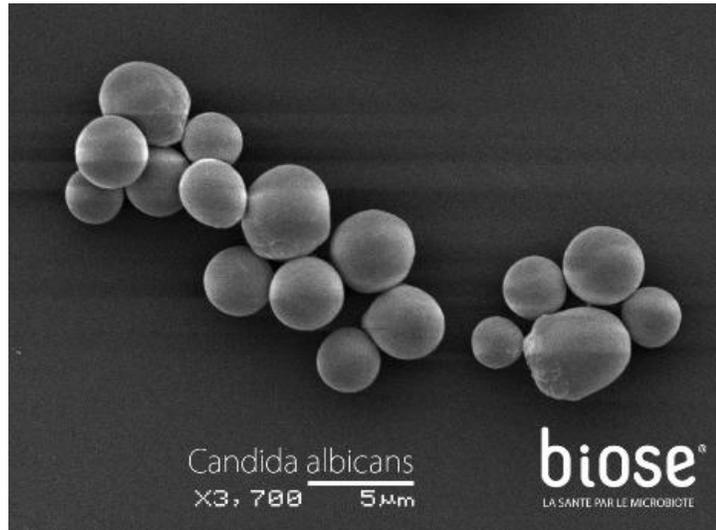
Unité Mixte de Recherche 0545 UCA INRA VAS



MICROBES – 15^{ème} congrès national de la SFM

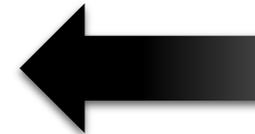
Cité des sciences et de l'industrie – Paris, le 1^{er} octobre 2019



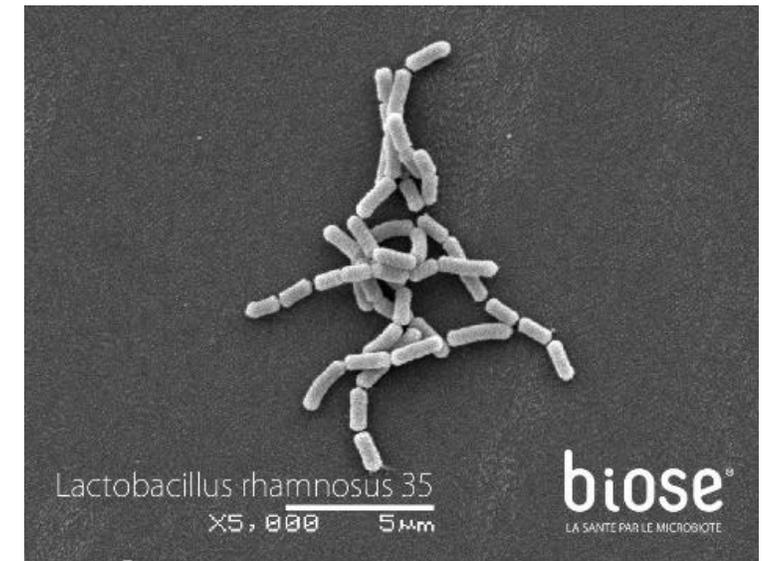


Candida albicans ATCC 10231

- Levure pathogène opportuniste
- Candidoses intestinales et vaginales
- Infections récidivantes

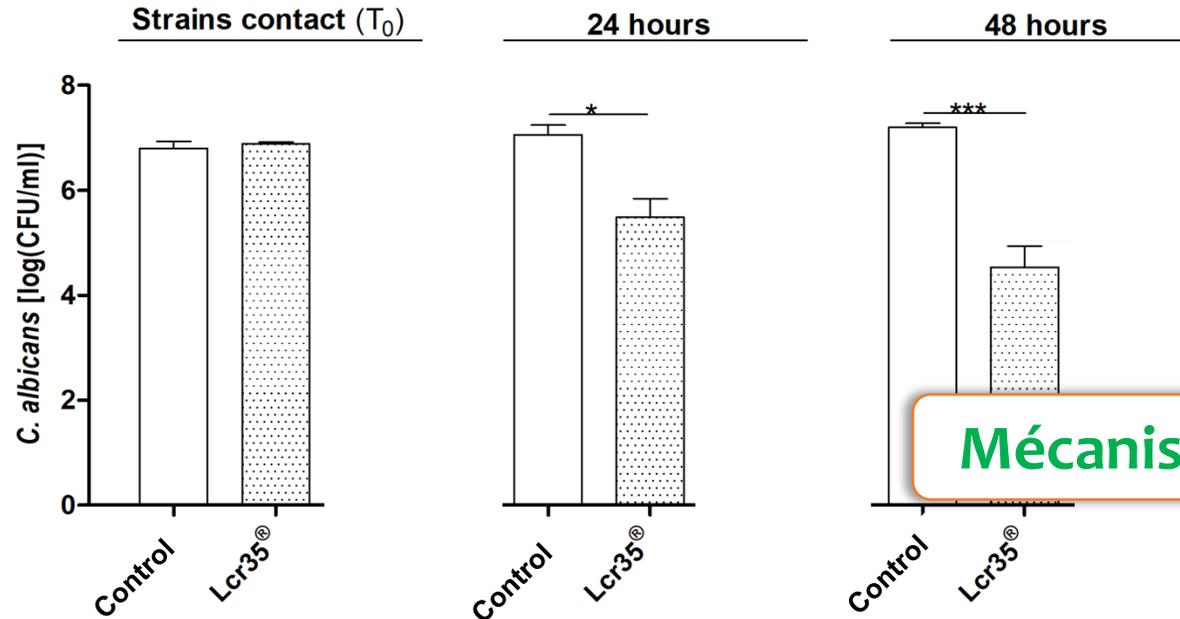


Antipathogène

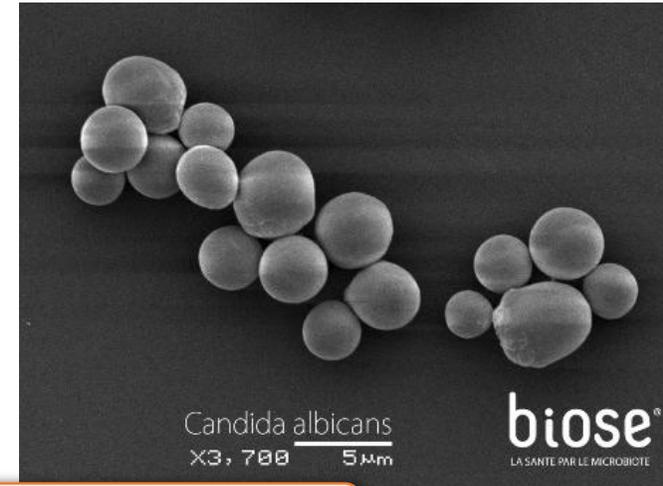


Lactobacillus rhamnosus Lcr35[®]

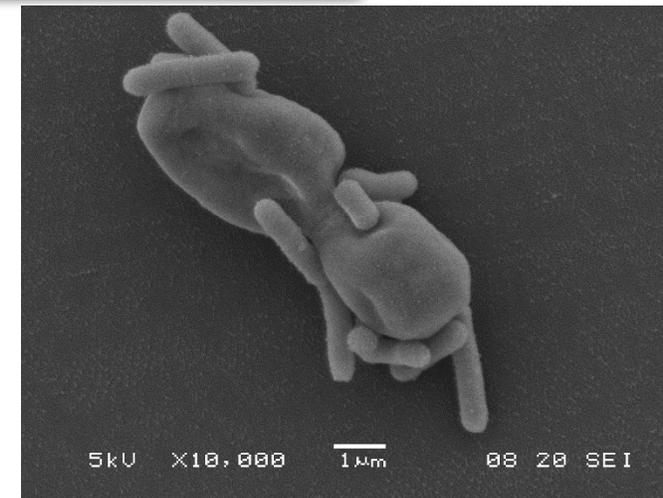
- Bactérie lactique
- Commercialisée par biose[®]
- Propriétés probiotiques
- Applications thérapeutiques (intestinales et vaginales)



Mécanisme d'action ?



C. albicans sans Lcr35[®]



C. albicans en présence de Lcr35[®]

Suivi de la concentration de *C. albicans* ATCC 10231 en co-culture avec Lcr35[®]

Nivoliez et al. 2012

Anova test with bonferroni correction
* p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001

Dausset et al.
en cours de soumission

Compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans les effets probiotiques de Lcr35[®]



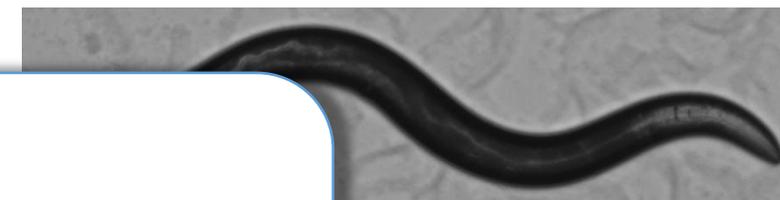
Approche *in vivo*

Selon la FDA, un LBP :

- 1) contient des microorganismes **vivants**,
- 2) est applicable pour la **prévention**, le **traitement** ou pour **soigner** une maladie,
- 3) n'est pas un vaccin.

Enjeu

Intérêt public



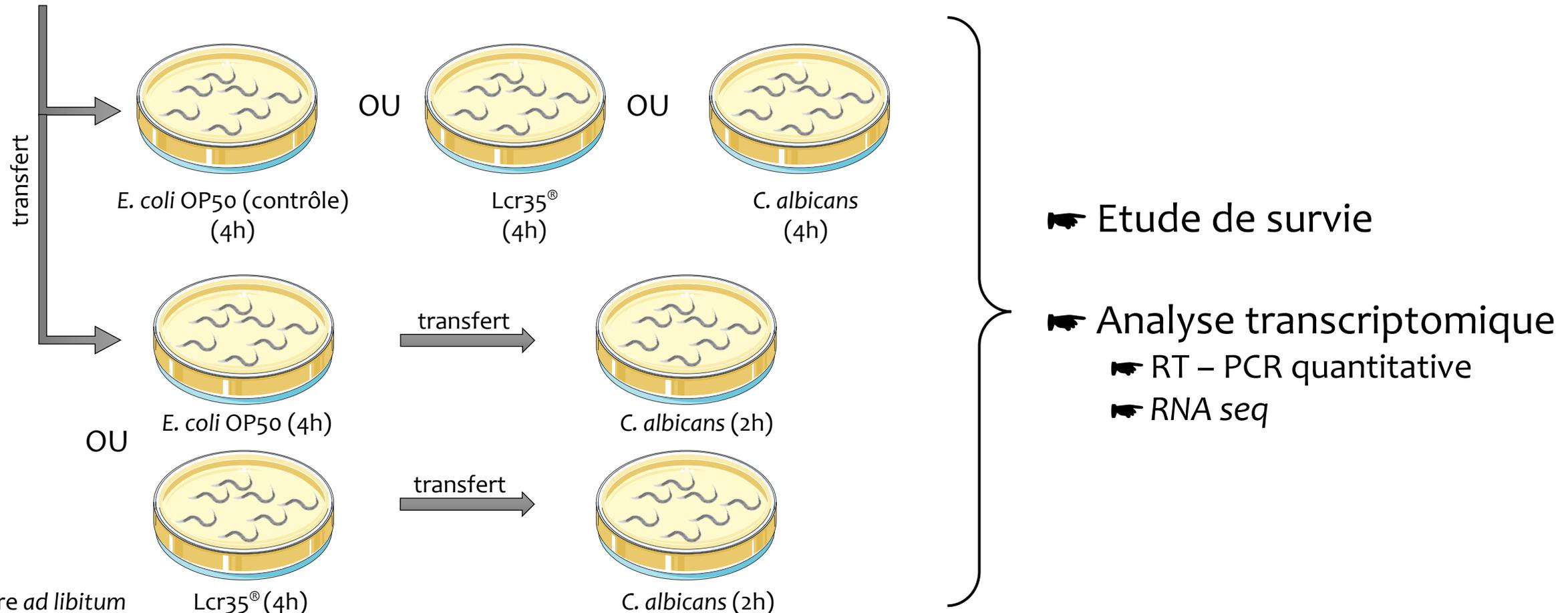
~ 1 mm

Identifier les gènes et molécules impliqués dans les interactions entre Lcr35[®], *C. albicans* et l'hôte

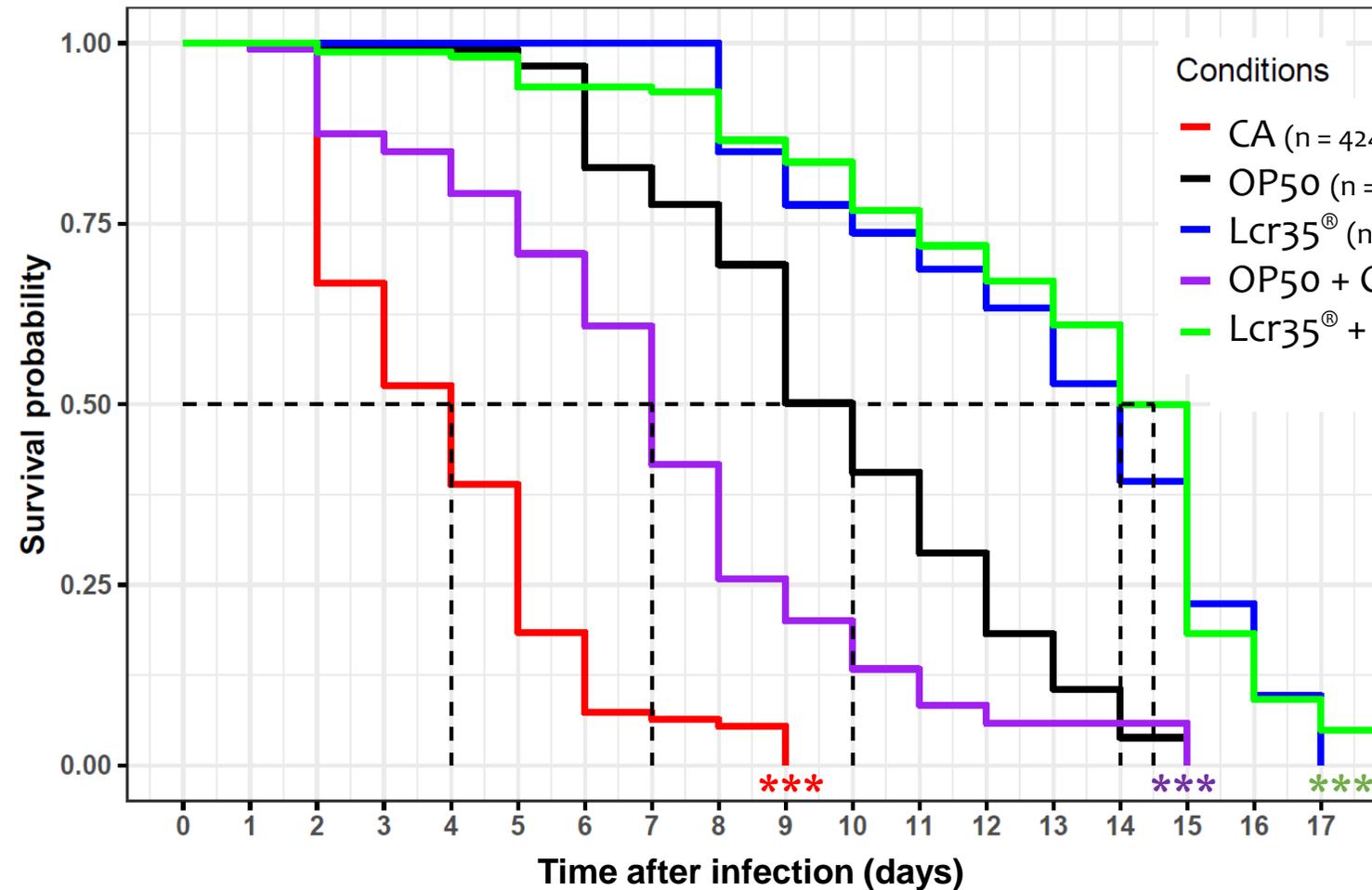
Développer de nouveaux *Live Biotherapeutic Products* (LBPs)



Population synchronisée de vers adultes



Survie de *C. elegans* après ingestion de Lcr35[®] et/ou *C. albicans*



Pathogène *C. albicans* – médiane de survie = 4 jours

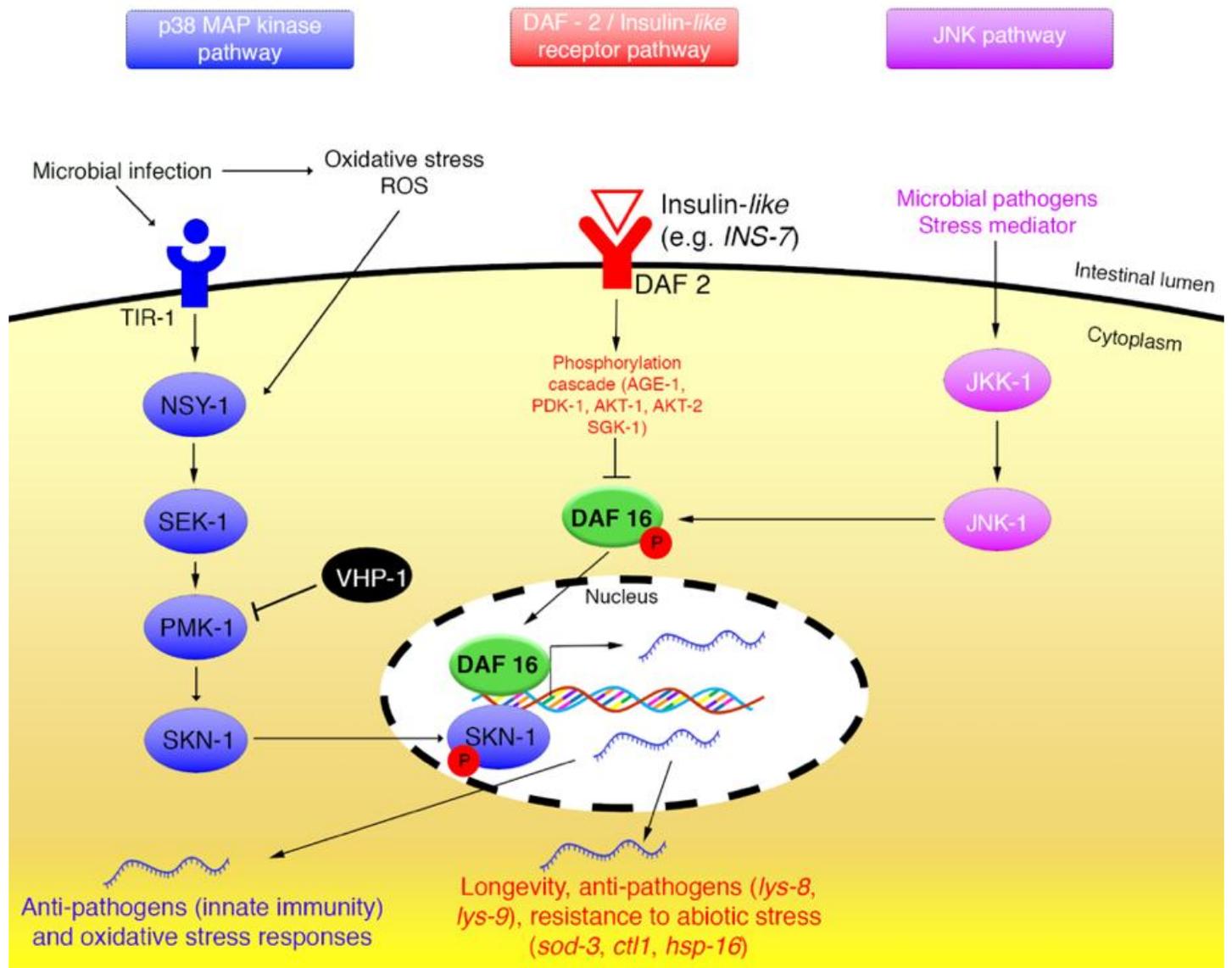
Lcr35[®] +/- *C. albicans* augmente la médiane de survie de 9,5 à 14 jours

⇒ Lcr35[®] prévient la candidose

Log rank test ; *** : $p < 0,001$

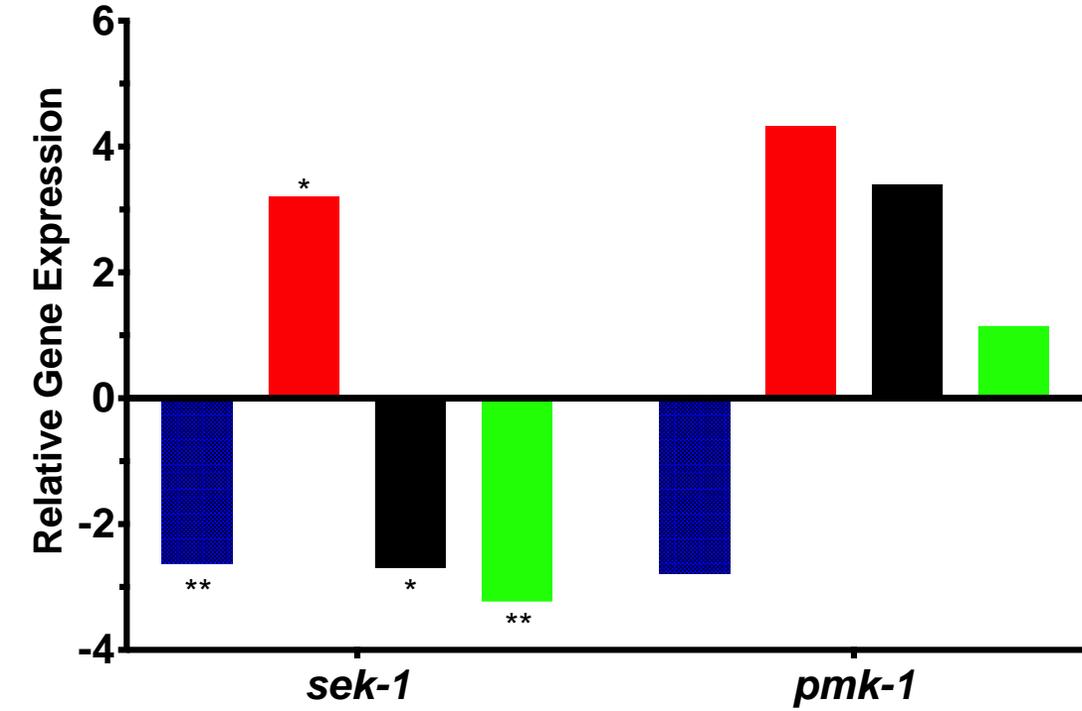
Protocole adapté de De Barros *et al.* 2018

Expression de gènes de *C. elegans*



Poupet et al., en préparation

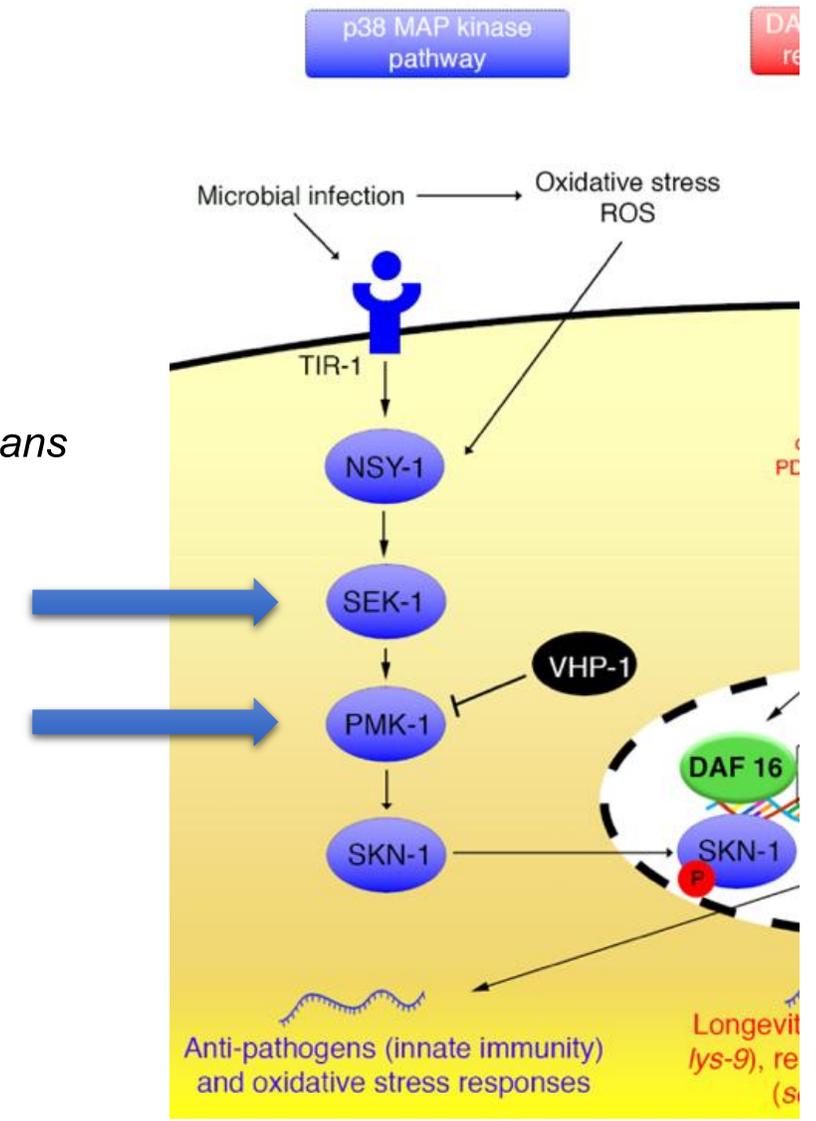
p38 MAPK pathway



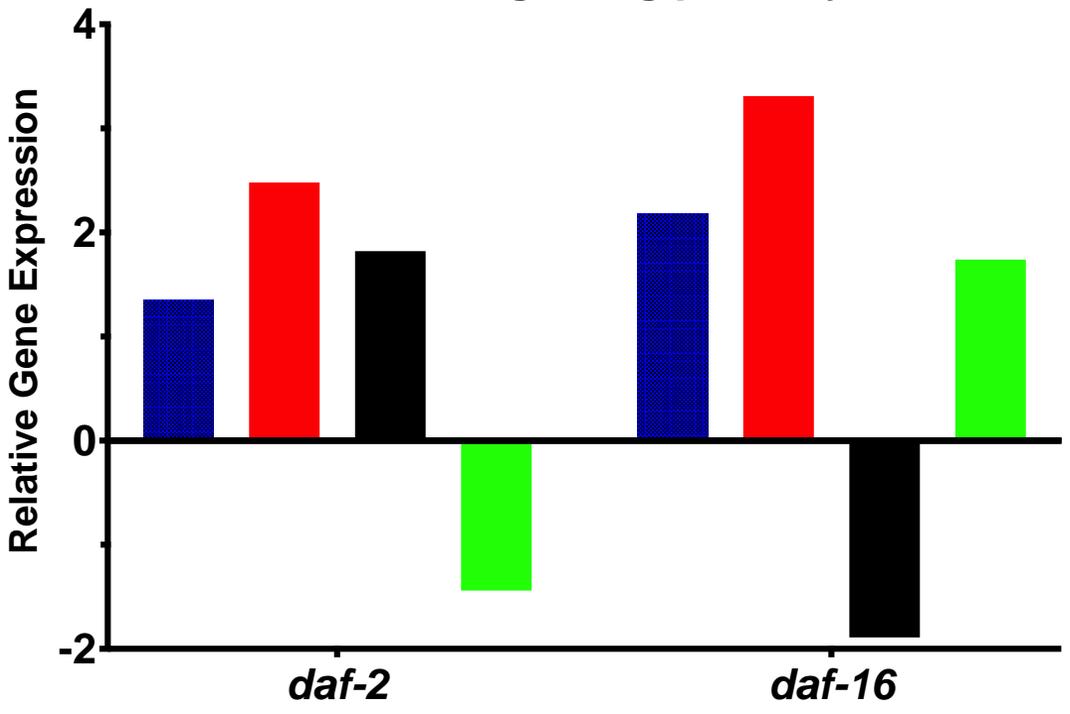
- Lcr35[®]
- *C. albicans*
- *E. coli* OP50 + *C. albicans*
- Lcr35[®] + *C. albicans*

- Lcr35[®] : ↓ tous les gènes
- *C. albicans* : ↑ tous les gènes
- Lcr35[®] traitement préventif : ↓ *sek-1*

Anova test with LSD
 * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001



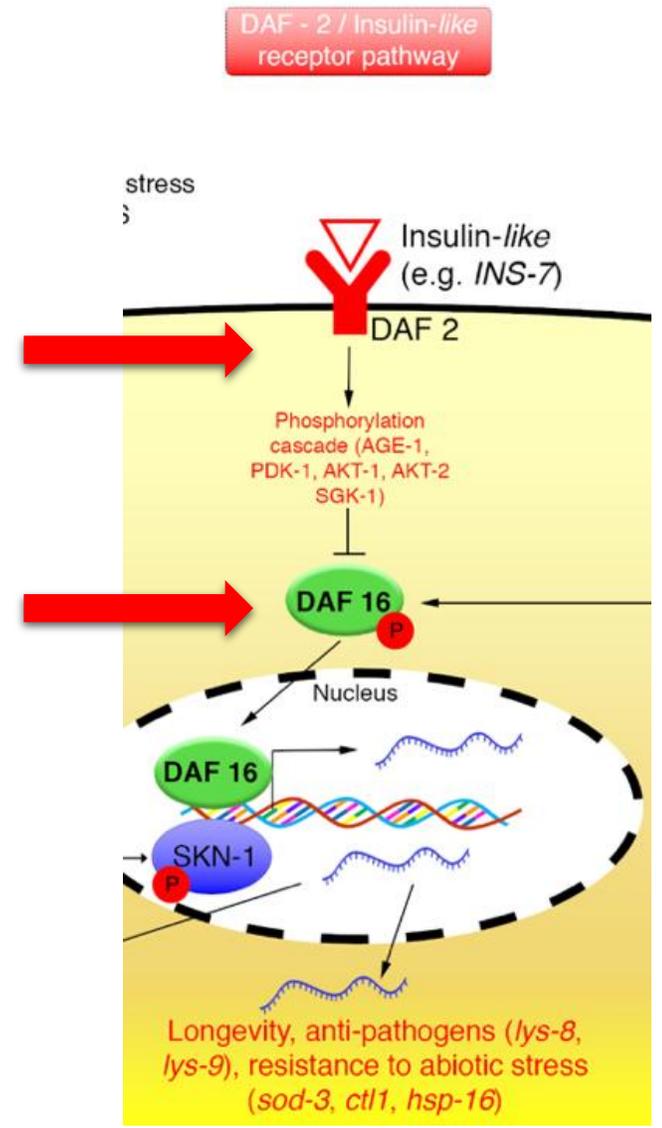
Insulin signaling pathway

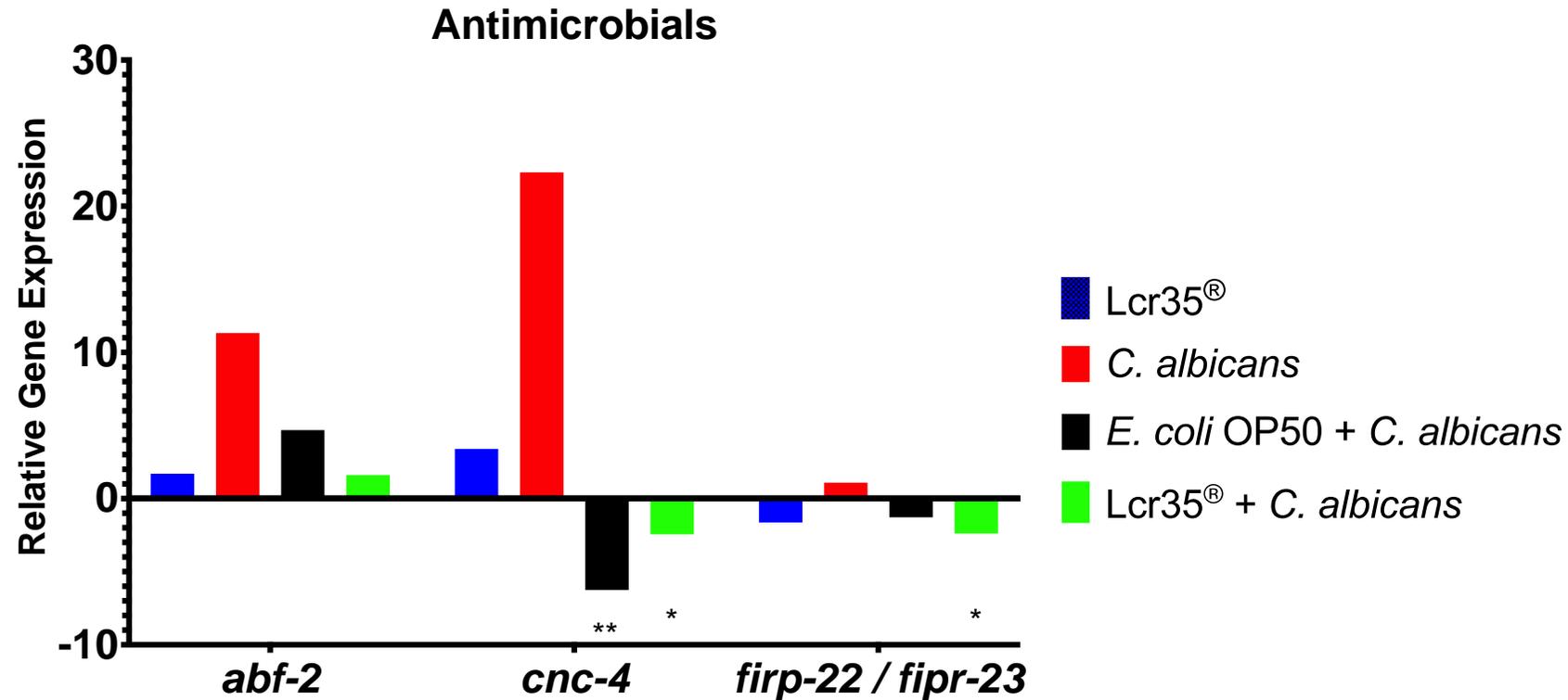


- Lcr35[®]
- *C. albicans*
- *E. coli* OP50 + *C. albicans*
- Lcr35[®] + *C. albicans*

- Lcr35[®] : ↑ *daf-16*
- *C. albicans* : ↑ tous les gènes
- Lcr35[®] traitement préventif : ↓ *daf-2*

Anova test with LSD
* p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001





- Lcr35[®] : ↑ *cnc-4* , ↓ *fipr-22/23*
- *C. albicans* : ↑ tous les gènes
- Lcr35[®] traitement préventif : ↓ tous les gènes

Avec Lcr35[®], *C. elegans* semble ne pas « détecter » le pathogène

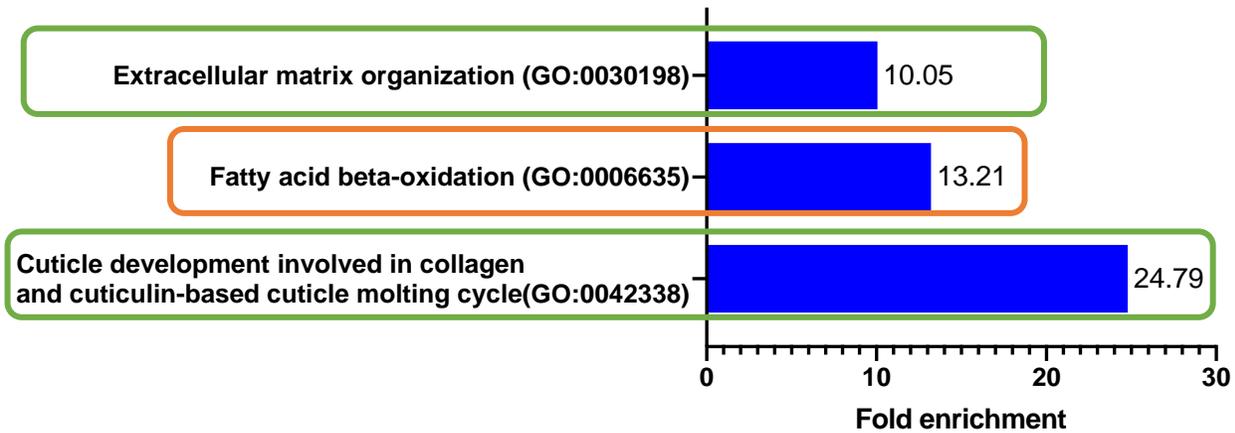
Anova test with LSD

* p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001

Modulation du transcriptome de *C. elegans* (RNA-seq)

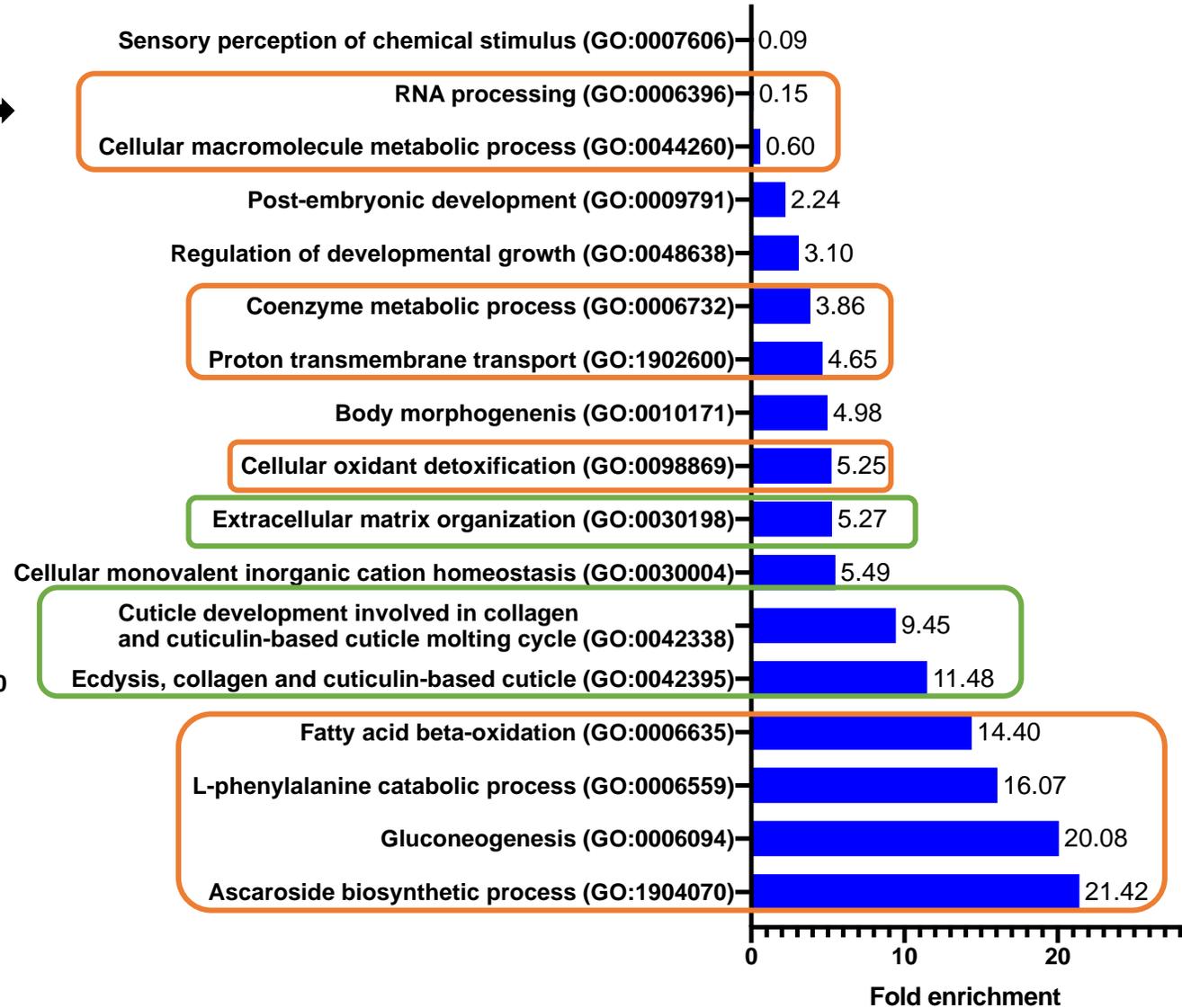
| Nb de gènes | sous exprimés | sur exprimés |
|-------------------------|---------------|--------------|
| avec Lcr35 [®] | 34 | 264 |
| avec <i>C. albicans</i> | 346 | 630 |
| en commun | 14 | 176 |

p-value < 0,01



Plus grande diversité de processus biologiques impliqués en présence de *C. albicans*

Lcr35[®] : processus structuraux
C. albicans : processus métaboliques



Fisher's exact test p-value et False Discovery Rate < 0,05

C. albicans

- est pathogène pour *C. elegans* (↓ **longévité**)
- induit une **réponse immunitaire**
- a un fort impact sur le transcriptome du ver

Lcr35[®]

- **augmente la longévité** de *C. elegans*
- apporte une **protection complète** contre la candidose
- induit une répression des gènes d'immunité
- a peu d'impact sur le transcriptome du ver

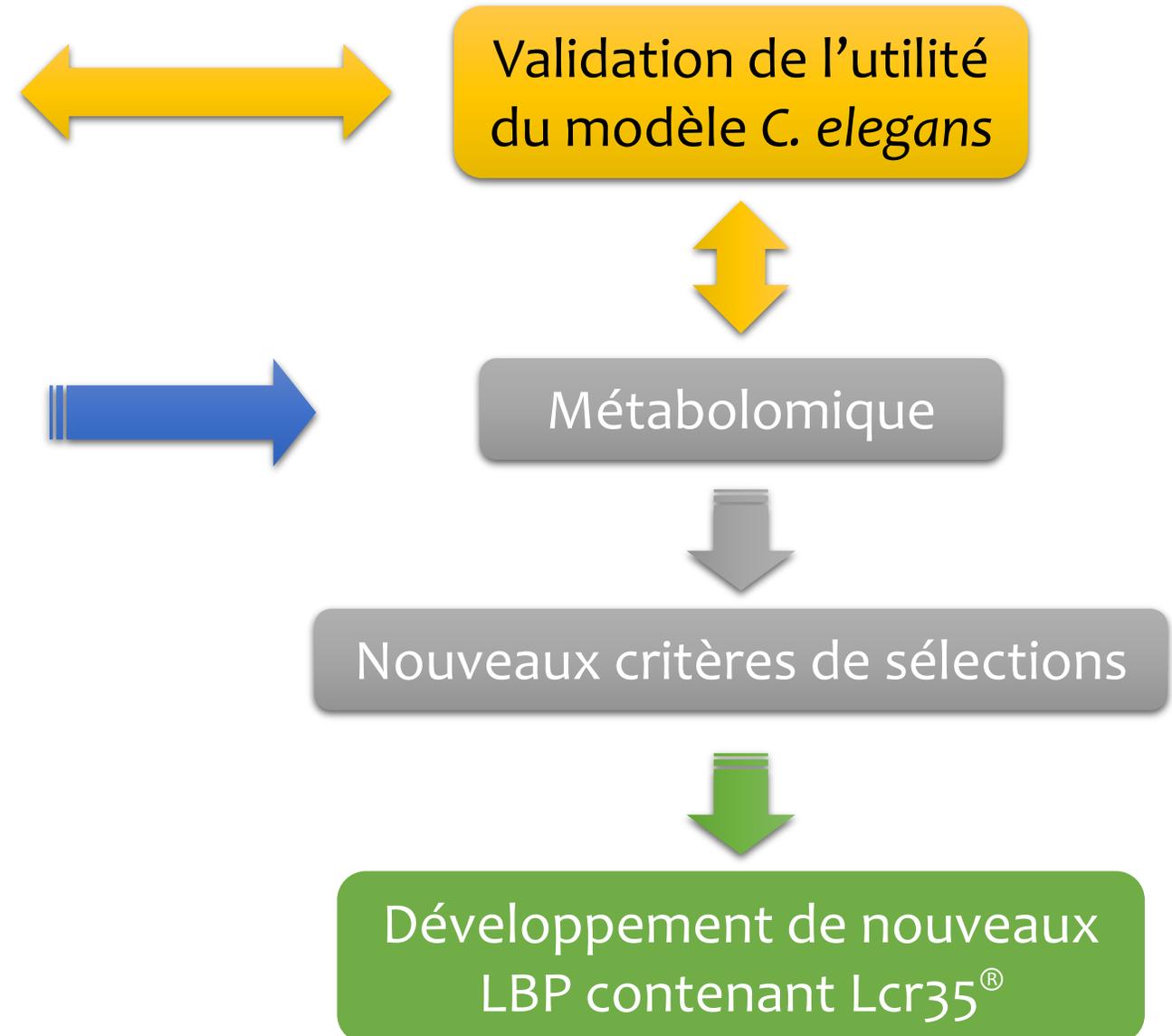
Poupet Cyril *et al.*, 2019. “*Lactobacillus Rhamnosus* Lcr35[®] as an Effective Treatment for Preventing *Candida Albicans* Infection in the invertebrate model *Caenorhabditis elegans*: First Mechanistical Insights.” *BioRxiv*, April. Cold Spring Harbor Laboratory, 612481. <https://doi.org/10.1101/612481>.

PLOS ONE, en révision

Poupet *et al.*, en préparation

Etude mécanistique : interactions hôte / microorganismes

- Modulation du transcriptome de *C. elegans* en situation préventive par *RNA seq*
- Utilisation de vers mutants
- Modulation des gènes de virulence de *C. albicans* par Lcr35[®]



UMRF

- Dr. Christophe Chassard (DU, INRA)
- **Pr. Stéphanie Bornes (UCA)**
- Dr. Muriel Bonnet (UCA)
- Dr. Philippe Veisseire (UCA)
- Marylise Gachinat (UCA)
- Olivier Camarès (UCA)
- Dr. Taous Saraoui (UCA)
- Sébastien Theil (INRA)
- Etienne Rifa (INRA)

Plateforme MGX



biose[®] / biose[®] Industrie

- **Dr. Adrien Nivoliez**
- Dr. Caroline Dausset
- Dr. Claudia Thoral



INRA d'Aurillac



IUT de Clermont-Fd
Campus Simone Veil
Aurillac



Merci de votre attention

Avez-vous des questions



Société Française
de Microbiologie

MICROBES

15^e congrès national
de la SFM ● ● ● ● ●

Du
30 septembre
au 2 octobre
2019

Cité des sciences et de l'industrie, Paris 19^{ème} ● ● ●

Déclaration de conflit d'intérêt

J'ai actuellement, ou j'ai eu au cours des deux dernières années, une affiliation ou des intérêts financiers ou intérêts de tout ordre avec une société commerciale ou je reçois une rémunération ou des redevances ou des octrois de recherche d'une société commerciale :

Affiliation/Relation

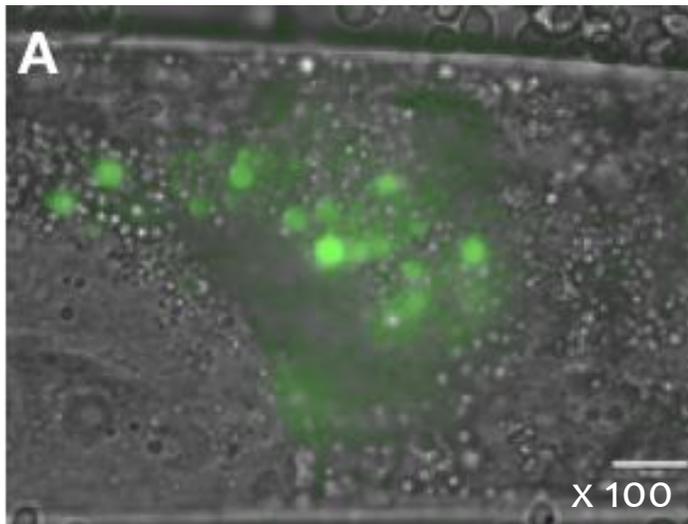
- Subvention / soutien à la recherche

Société

- biose®

C. elegans infecté par *C. albicans*

Sans traitement



Temps d'incubation sur
C. albicans-Rhodamine 123 : 72 h
OP50 / Lcr35[®] : 4 h