Caenorhabditis elegans, un modèle utilisé pour le criblage de microbiotes fromagers à effet santé

Stéphanie Bornes, Muriel Bonnet, Philippe Veisseire, Olivier Camarès, Marylise Gachinat, Céline Delbès, Christophe Chassard

▶ **To cite this version:**

Stéphanie Bornes, Muriel Bonnet, Philippe Veisseire, Olivier Camarès, Marylise Gachinat, et al.. Caenorhabditis elegans, un modèle utilisé pour le criblage de microbiotes fromagers à effet santé. CNRIUT 2023 Saint Pierre - La Réunion, IUT de Saint Pierre, Jun 2023, Saint Pierre (La Réunion), La Réunion. hal-04326666

HAL Id: hal-04326666
https://hal.science/hal-04326666

Submitted on 6 Dec 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Caenorhabditis elegans, un modèle utilisé pour le criblage de microbiotes fromagers à effet santé

Muriel Bonnet[1,2] Philippe Veisseire[1,2] Olivier Camares[1,2]
muriel.bonnet@uca.fr philippe.veisseire@uca.fr olivier.camares@uca.fr

Marylise Gachinat[1,2] Céline Delbès[2] Christophe Chassard[2]
marylise.gachinat@ucaf.fr celine.delbes@inrae.fr christophe.chassard@inrae.fr

Stéphanie Bornes[1,2]
stephanie.bornes@uca.fr

[1]IUT Clermont Auvergne, Université Clermont Auvergne
[2]Unité Mixte de Recherche sur le Fromage, UMRF 0545

Thèmes – *Biologie - Santé*

Résumé – *Les fromages sont des aliments fermentés et une source de micro-organismes lorsque nous les consommons. En effet, les fromages, et en particulier ceux au lait cru, sont connus pour leur grande biodiversité microbienne au sein de laquelle des micro-organismes bénéfiques pour la santé humaine sont présents. Après consommation, ils peuvent s'installer dans notre organisme et avoir un effet.*

Nous utilisons le modèle in vivo Caenorhabditis elegans pour rechercher les effets santé liés à la consommation de micro-organismes fromagers. C. elegans est un eucaryote invertébré rond à peau lisse et mesure environ 1 mm à l'âge adulte. Il vit dans le sol et principalement dans la végétation en décomposition où il se nourrit de micro-organismes (bactéries, levures). En laboratoire, il se nourrit exclusivement de la bactérie Escherichia coli OP50 et sa culture se fait en boîtes de Petri. Son anatomie très simple et facilement observable du fait de son corps transparent, en fait un modèle de choix pour l'étude de microorganismes ayant de potentiels effets sur la santé.

Mots-Clés – *C. elegans*, interaction microbienne, alimentation et santé

1 Introduction

Les questions de santé apparaissent au cœur des relations entre agriculture, alimentation et environnement. Dans ce contexte, l'UMRF a pour objectif de développer des travaux visant à mieux comprendre les divers facteurs et mécanismes qui, de la production agricole jusqu'à la consommation alimentaire, régissent la qualité des aliments et affectent la santé humaine.

Une des thématiques développées à l'UMRF est centrée sur l'évaluation de l'impact intestinal et le bénéfice santé de microorganismes présents dans les fromages. Les fromages sont des aliments fermentés et une source de micro-organismes lorsque nous les consommons. C'est pourquoi des chercheurs ont orienté leurs travaux sur ces « bioréacteurs alimentaires ». En effet, les fromages, et en particulier ceux au lait cru, sont connus pour leur grande biodiversité et il est facile d'imaginer que des micro-organismes bénéfiques pour la santé humaine sont présents dans ces microbiotes. Après consommation, ils peuvent s'installer dans notre organisme et avoir un effet. Nous nous intéressons plus particulièrement au devenir des bactéries lactiques, mais aussi aux molécules qu'elles synthétisent et qui pourraient jouer un rôle bénéfique pour l'hôte (anti-pathogène, anti-inflammatoire, anti-oxydant, ...).

2 Le modèle *Caenorhabditis elegans*

Le nématode *Caenorhabditis elegans* (Figure 1) est un modèle *in vivo* très utilisé depuis une dizaine d'années pour étudier les interactions entre des microorganismes et leur hôte. Cet animal est un compromis pertinent entre les approches *in vitro* et les approches *in vivo* très lourdes et couteuses réalisées chez les mammifères (rat, souris puis homme). *C. elegans* est un eucaryote invertébré rond à peau lisse qui possède un long corps effilé aux extrémités et mesure environ 1 mm à l'âge adulte. Il vit dans le sol et principalement dans la végétation en décomposition où il se nourrit de micro-organismes (bactéries, levures). En laboratoire, il se nourrit exclusivement de la bactérie *Escherichia coli* OP50 et sa culture se fait en boîtes de Petri, ce qui demande peu d'entretien, d'espace et de matériel. Il a une durée de vie de 3 semaines environ. C'est un organisme hermaphrodite autofécondant, chaque ver peut générer jusqu'à 300 oeufs. Son cycle de reproduction est donc rapide et efficace. Le génome de ce nématode est entièrement séquencé et annoté et la fonction de chacun de ses gènes est connue. Il possède de plus d'importantes homologies génétiques et protéiques avec l'Homme, les voies de signalisation sont extrêmement bien conservées entre les espèces. *C. elegans* est facilement manipulable génétiquement ce qui a permis la création d'une banque de mutants très importante qui est mise à disposition de la communauté scientifique utilisant ce modèle, le *C. elegans* Genetics Center, localisé à l'Université du Minesota (https://cgc.umn.edu/). Cette caractéristique en fait un modèle performant pour des études de mécanistique moléculaire. Enfin, ce nématode est transparent ce qui permet de suivre le devenir d'un microorganisme ou d'une molécule marquée avec une marqueur fluorescent, à l'intérieur du ver après ingestion (Figure 2). D'un point de vue technique, ce ver est facile à maintenir, à multiplier et à utiliser en laboratoire puisque son utilisation ne nécessite pas d'infrastructure lourde ni de consommable particulier. L'utilisation de *C. elegans* permet de progresser vers une expérimentation en biologie moins couteuse, et surtout plus éthique en limitant le nombre d'animaux (mammifères) sacrifiés à des fins de recherche [1].

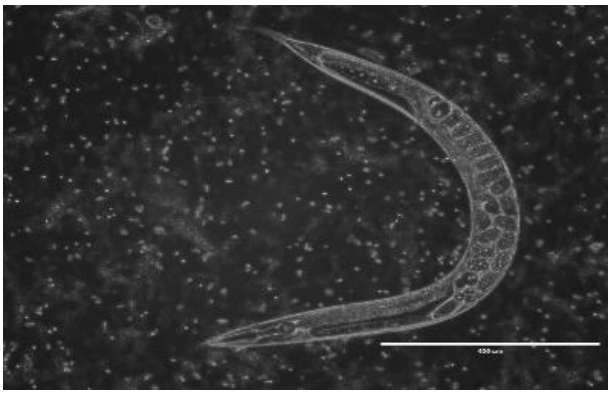

Figure 1 : *Caenorhabditis elegans*

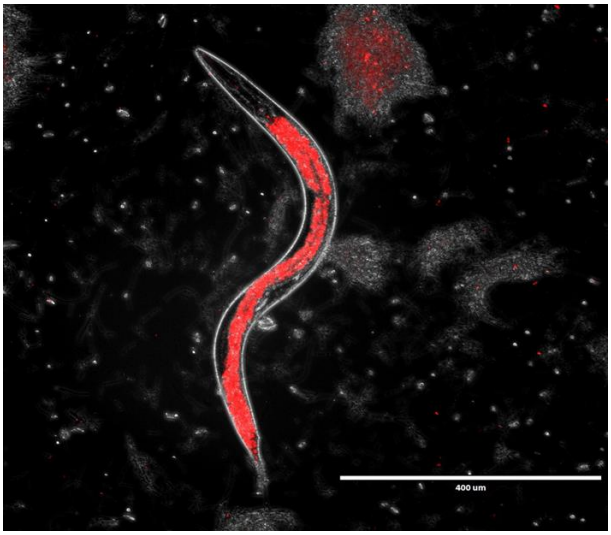

Figure 2 : Visualisation de l'intestin de *C. elegans* grâce à l'ingestion de levures rendues fluorescentes.

3 Le criblage de microorganismes à effet santé

A l'UMRF, nous avons développé le modèle *Caenorhabditis elegans* pour cribler et étudier des microorganismes à effet santé et pour caractériser l'effet d'extraits de fromage (effet anti-pathogènes, réponse aux mécanismes inflammatoires ou résistance au stress oxydatif). Les approches que nous développons nous permettent d'améliorer notre compréhension des interactions entre des microorganismes fromagers, des bactéries pathogènes et l'hôte [2,3,4].

Nous utilisons le modèle *in vivo Caenorhabditis elegans* pour rechercher les effets santé liés à la consommation de micro-organismes fromagers. Ce nématode est capable de choisir les micro-organismes qui composent sa nourriture et de se diriger vers la nourriture qui lui convient le mieux, grâce à la détection des odeurs diffusées [5]. Ces odeurs sont dues à la présence de molécules telles que le diacétyl, synthétisées par certains micro-organismes [6]. Nous avons donc mis au point un test de préférence alimentaire pour déterminer quels fromages proposés attiraient préférentiellement le nématode (Figure 3).

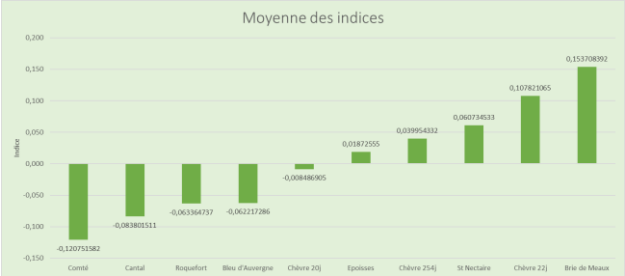

Figure 3 : Indices de préférence alimentaire.

De plus, nous cherchons à connaître le bénéfice santé des matrices fromagères sur une population de nématodes en évaluant leur durée de vie après avoir ingéré les fromages. Les expérimentations préliminaires menées sur 10 fromages ont permis de dégager une hiérarchie parmi ceux-ci. Huit fromages sur 10 ont allongé la durée de vie de *C. elegans* parmi lesquels le Brie de Meaux a doublé la durée de vie du nématode par rapport au témoin nourri avec *E. coli* OP50 (Figure 4).

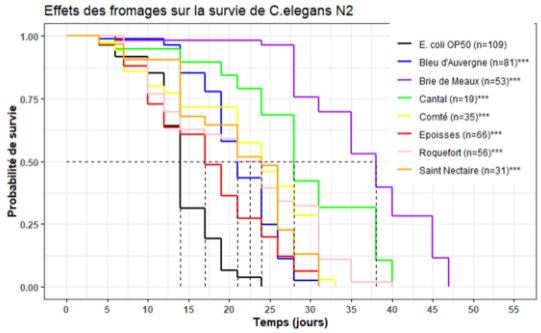

Figure 4 : Taux de survie des vers suite à l'ingestion de fromages (n=3).

Suite à ces expérimentations, nous tenterons d'établir une corrélation entre la composition du microbiote du fromage, la préférence alimentaire du nématode et le bénéfice santé. L'objectif est de développer une stratégie utilisant le nématode permettant de réaliser un criblage de micro-organismes isolés à partir de matrices fromagères pour leurs effets santé.

4 Conclusion

Le modèle *C. elegans* offre de nombreuses potentialités pour le criblage et la caractérisation au niveau moléculaire de microorganismes d'origine fromagère, et alimentaire en général, pouvant présenter des capacités bénéfiques pour la santé humaine et animale.

Les questions de santé, en lien avec l'émergence de maladies infectieuses, apparaissent au cœur des relations entre agriculture, alimentation et environnement. Dans ce contexte, l'UMRF a pour objectif de développer des travaux visant à mieux comprendre les divers facteurs et mécanismes qui, de la production agricole jusqu'à la consommation alimentaire, régissent la qualité des aliments et affectent la santé humaine. Les travaux de recherche que nous menons en utilisant le modèle *C. elegans* contribueront à évaluer l'impact santé (microbiote, durée de vie, nutrition) des microbiotes des fromages et aussi, en s'intégrant dans des projets d'ambition nationale, de dégager des hypothèses sur l'effet du système d'exploitation agricole (environnement et nourriture des animaux) sur l'appréciation et la valeur santé des fromages.

5 Remerciements

Les auteurs expriment leurs remerciements à Cyril Poupet, Guillaume Cardin pour leurs travaux de thèse qui ont permis de développer le modèle au sein de l'UMRF [1,2,3,4]. Les auteurs remercient également Guy Febvre (guy.febvre@uca.fr) et Paul-Marie Grollemund (paul_marie.grollemund@uca.fr) pour le développement d'outils informatiques et statistiques qui facilitent et améliorent le traitement des données générées par les expérimentations utilisant le modèle *C. elegans*.

6 Références

[1] Poupet C, Chassard C, Nivoliez A, Bornes S. *Caenorhabditis elegans*, a Host to Investigate the Probiotic Properties of Beneficial Microorganisms. Front Nutr. 2020 Aug 21;7:135. doi: 10.3389/fnut.2020.00135. PMID: 33425969; PMCID: PMC7786404.

[2] Cardin G, Poupet C, Bonnet M, Veisseire P, Ripoche I, Chalard P, Chauder A, Saunier E, Priam J, Bornes S, Rios L. A Mechanistic Study of the Antiaging Effect of Raw-Milk Cheese Extracts. Nutrients. 2021 Mar 10;13(3):897. doi: 10.3390/nu13030897. PMID: 33802038; PMCID:PMC8000626.

[3] Cardin G, Ripoche I, Poupet C, Bonnet M, Veisseire P, Chalard P, Chauder A, Saunier E, Priam J, Bornes S, Rios L. Development of an innovative methodology combining chemical fractionation and in vivo analysis to investigate the biological properties of cheese. PLoS One. 2020 Nov 19;15(11):e0242370. doi:10.1371/journal.pone.0242370. PMID: 33211771; PMCID: PMC7676648.

[4] Veisseire P, Bonnet M, Saraoui T, Poupet C, Camarès O, Gachinat M, Callon C, Febvre G, Chassard C, Bornes S. Investigation into *In Vitro* and *In Vivo Caenorhabditis elegans* Models to Select Cheese Yeasts as Probiotic Candidates for their Preventive Effects against *Salmonella* Typhimurium. Microorganisms. 2020 Jun 18;8(6):922. doi: 10.3390/microorganisms8060922. PMID: 32570901; PMCID: PMC7356738.

[5] C. Milani *et al*. "Colonization of the human gut by bovine bacteria present in Parmesan cheese", Nature Communications, 2019. doi:10.1038/s41467-019-09303-w.

[6] M. I. Rincon-Delgadillo, A. Lopez-Hernandez, I. Wijaya and S.A. Rankin. « Diacetyl levels and volatile profiles of commercial starter distillates and selected dairy foods » J. Dairy Sci 2012. doi: 10.3168/jds.2011-4834.