
 <p>Science et Technologie du Lait et de l'Œuf UMR 1253</p>		 <p>Institut Agro</p>
<p>Evaluation d'une stratégie microbienne de prévention des infections mammaires bovines</p>		
<p>Mots-clés : mammites, microbiote, probiotique, interaction bactéries/hôte, cellules épithéliales mammaires, réponse immunitaire, physiologie de la lactation</p>		

NATURE : STAGE MASTER 2

DURÉE : 6 +/- 2 MOIS

LIEU : INRAE RENNES, FRANCE, UMR Science et Technologie du Lait et de l'œuf, UMR1348, Physiologie, Environnement et Génétique pour l'Animal et les Systèmes d'Élevage

NOM DES ENCADRANTS : EVEN SERGINE (INRAE STLO) ET BOUTINAUD MARION (INRAE PEGASE)

CONTACT : sergine.even@inrae.fr, marion.boutinaud@inrae.fr

Date limite de candidature : 30 Aout 2020

Contexte socio-économique et scientifique :

Les mammites ou infections mammaires (IM) sont parmi les maladies les plus fréquentes en élevage bovin laitier. Les traitements reposent essentiellement sur l'antibiothérapie, qui ne s'avère pas toujours efficace et contribue au risque de dissémination de l'antibiorésistance. L'élevage doit faire face à cette menace latente et faire évoluer les pratiques vers des approches plus durables, respectueuses de l'environnement et de l'animal. Nous explorons des approches microbiennes de lutte contre les IM, reposant sur la prise en compte du microbiote mammaire bovin. Différents travaux menés sur le microbiote mammaire bovin montrent un lien entre la composition de ce microbiote et la santé de la glande mammaire. Une composante de ce microbiote, les bactéries lactiques (BL), présente un intérêt particulier. Elles sont associées à une glande mammaire saine et sont susceptibles d'exercer un rôle barrière vis-à-vis des IM. Une meilleure compréhension du rôle de ce microbiote et de certaines composantes telles que les BL, dans la santé mammaire bovine ouvre la voie à des stratégies d'orientation, préservation ou restauration du microbiote vers un microbiote bénéfique, contribuant à la prévention des infections.

Hypothèses et questions scientifiques :

Notre projet vise à évaluer une approche microbienne de prévention des infections mammaires consistant à préserver le microbiote mammaire plutôt que de l'éliminer, tout en l'orientant par l'application locale post-traite, au niveau des trayons, de bactéries lactiques (BL). Nous faisons l'hypothèse que la BL aura un effet barrière vis-à-vis des pathogènes par compétition et inhibition directe tout en préservant, dans une certaine mesure, la diversité bactérienne naturelle associée au trayon. Maintenir une flore microbienne protectrice et compétitrice au niveau du trayon pourrait s'avérer plus efficace pour réduire la présence de pathogènes sur et à l'intérieur du trayon et limiter leur entrée dans la mamelle qu'une désinfection systématique, qui, si elle est imparfaite, peut s'avérer plus permissive aux pathogènes

Le stage aura pour objectif d'évaluer l'impact de l'application de BL sur les trayons de vaches laitières (troupeau de Prim'Holstein de Méjusseau), en intégrant les conséquences sur la composition et la diversité du microbiote mammaire (externe et interne) et la présence des pathogènes, mais également sur la réponse immunitaire innée de la mamelle, l'intégrité et la fonctionnalité de l'épithélium (production et qualité du lait). En parallèle, les mécanismes d'interaction de la BL avec la glande mammaire pourront être in vitro.

Programme de travail :

1-Evaluation in vivo d'une stratégie microbienne de prévention des infections mammaires bovines basée sur l'application d'une suspension de BL sur les trayons en fin de traite.

Un essai sera conduit sur les animaux du troupeau de prim'Holstein de PEGASE, afin d'évaluer l'impact de l'application de la suspension de BL en fin de traite sur la santé de la mamelle et sa fonctionnalité. Deux conditions témoins seront utilisées : le trempage post-traite des trayons dans une solution antiseptique à base d'iode, et l'absence de tout traitement post-traite. L'application biquotidienne de BL sera menée sur des animaux sains (pas de mammite en cours), sur une période de 14 jours. La souche utilisée sera une souche de BL que nous avons isolée de lait de 1er jet appartenant à une espèce bénéficiant du statut QPS (Qualified Presumption of Safety, EFSA), entièrement séquencée, et ne présentant donc pas de risque pour la santé animale et humaine. Des prélèvements de sang, de lait de 1er jet et citernal et des écouvillonnages de la peau seront réalisés afin d'évaluer les conséquences du traitement avec la BL au niveau:

- microbiologique : présence de pathogènes sur la peau, dans le lait de 1er jet et le lait citernal ; implantation de la flore lactique sur la peau et dans le trayon ; plus largement impact sur le microbiote interne et de la peau du trayon (approche métagénomique 16S).
- immunitaire : numération et typage des cellules somatiques, dosage des interleukines majeures dans le lait, expression de gènes impliqués dans la réponse immunitaire (sur CEM isolées du lait)
- physiologique : marqueurs de la fonctionnalité de la glande mammaire (expression de gènes impliqués dans la production des constituants du lait sur cellules épithéliales isolées du lait ; production de lait et qualité), marqueurs de l'intégrité de l'épithélium mammaire (dosage du lactose dans le sang et des taux de sodium et potassium dans le lait).

2-Exploration in vitro du dialogue entre les BL et différents acteurs cellulaires de la glande mammaire bovine (selon temps de séjour du/de la stagiaire)

Des essais d'interactions bi- et tri-partites seront réalisés entre la BL, différents types cellulaires présents dans la glande mammaire* (CEM, cellules immunitaires) et le pathogène afin d'évaluer :

- l'impact de la BL sur la réponse immunitaire innée des CEM et des cellules immunitaires (expression des gènes impliqués dans la réponse immunitaire, production de cytokines)
- les capacités de colonisation des CEM par la BL et l'impact sur la colonisation des pathogènes

Techniques principales :

Biologie cellulaire (typage cellulaire par cytométrie de flux, culture cellulaire, isolement de cellules épithéliales), biochimie (dosage du lactose dans le sang, du sodium dans le sang); microbiologie ; biologie moléculaire (RT-qPCR) ; immunologie (dosage cytokines par ELISA) ; expérimentation animale

Compétences scientifiques et techniques du candidat :

Ce sujet s'adresse aux étudiant·es souhaitant développer un projet en santé animale, à l'interface entre la microbiologie et la physiologie animale. Le ou la candidat·e devra avoir des compétences en physiologie animale, biologie cellulaire, microbiologie, biologie moléculaire, bioinformatique et statistiques. Maîtrise des outils informatiques de recueil et de traitement des données.