

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : UMR 1064 CR2TI

N° d'équipe : 6

Nom-Prénom de l'encadrant : CREMET Lise

Courriel de l'encadrant : lise.cremet@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Denys Lyashchuk

Titre du stage : Rôle de la colonisation à *Streptococcus* sur l'immunité pulmonaire

Résumé du projet proposé :

Les streptocoques oraux, dont fait partie l'espèce *S. mitis*, occupent une large place dans la composition du microbiote pulmonaire et de récentes études montrent qu'un enrichissement pulmonaire en streptocoques serait associé à une évolution clinique plus favorable chez les patients intubés/ventilés, ou que chez les souris, l'instillation endotrachéale d'un mélange de bactéries commensales respiratoires, dont *S. mitis*, améliorerait leur survie après une pneumonie secondaire à pneumocoque (PMID: 32717152, PMID: 33166473). Les récentes expériences *in vitro* et en modèle murin de l'équipe 6 du CR2TI montrent également un effet protecteur de *S. mitis* vis-à-vis de bacilles à Gram négatif, dont *Escherichia coli*, en lien avec la sécrétion de métabolites, comme l'acide lactique. Le travail que nous proposons vise à analyser les effets de *S. mitis* et de ses métabolites (acide lactique) sur la muqueuse pulmonaire et les populations cellulaires résidentes, en utilisant un modèle murin (colonisation pulmonaire de souris axéniques ± infection secondaire à *E. coli*) et par co-cultures *in vitro* avec des macrophages murins.

Option à laquelle est associée ce projet :

- Biothérapies de l'appareil locomoteur
- Cardiovasculaire et Facteurs de Risque
- Immunologie-Cancérologie
- Immuno-Intervention, Transplantation et Auto-Immunité
- Maladies infectieuses
- Physiopathologies de l'axe cerveau-intestin

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2022-23

Laboratoire : IICiMed

N° d'équipe : UR1155

Nom-Prénom de l'encadrant : Michel Dion

Courriel de l'encadrant : michel.dion@univ-nantes.fr

Candidat presenté :

Titre du stage : « **Evaluation de l'efficacité d'éradication d'un portage digestif à *Escherichia coli* OXA-48 par l'administration de prébiotiques dans un modèle murin** »

Résumé du projet proposé :

« La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement » d'après l'organisation mondiale de la santé (OMS). Un nombre croissant d'infections, comme les infections pulmonaires ou les infections urinaires deviennent de plus en plus difficiles à traiter. Les espèces responsables sont plutôt des Gram négatif (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*...) que l'on retrouve souvent en grande quantité dans l'intestin qui est le principal réservoir. Notre équipe de recherche développe des stratégies innovantes pour lutter contre le portage intestinal de ces bactéries résistantes aux antibiotiques et potentiellement pathogènes.

Une des alternatives que nous souhaitons tester au laboratoire IICiMed concerne l'utilisation de prébiotiques, qui n'ont pas de toxicité pour l'homme : en premier lieu nous allons rechercher l'activité des chitooligosaccharides (COS)¹. Ces molécules provenant de la chitine dépolymérisée et déacétylée ne sont pas digérées par nos enzymes digestives mais assimilables par certaines bactéries intestinales. Ainsi, leur administration dans des modèles murins a pu mettre en évidence une modification importante de la structure du microbiote intestinal : on assiste entre autres à une augmentation des Muribaculaceae et des Coriobacteriaceae ainsi qu'à une diminution d'Entérobacteriaceae telles que *Klebsiella* ou *E. coli*^{2,3}. Cette corrélation est en accord avec les analyses qPCR et métagénomiques que nous avons réalisées à partir de notre modèle murin utilisant *E. coli* Oxa-48 comme entérobactérie multirésistante aux antibiotiques. Ces COS sont solubles, facilement manipulables et présentent donc un potentiel pour diminuer la pression des bactéries multirésistantes au niveau individuel et au niveau de la population. Le stage sera aussi l'occasion de tester le sorbate de potassium dont l'activité de stimulation de certaines Coriobacteriaceae et de décolonisation des Proteobacteria a été démontré (Nagpal 2021).

Le stage comportera une partie d'expérimentation animale (souris Swiss), ce qui nécessitera que l'étudiant.e fasse une formation en début de stage (s'il-elle n'a pas déjà un diplôme équivalent). L'effet de l'administration des COS sera testé par titration des *E. coli* oxa-48 dans les selles. La modification de structure du microbiote intestinal sera analysée par qPCR d'une quinzaine de taxa et éventuellement par métagénomique.

- (1) Liaqat, F.; Eltem, R. Chitooligosaccharides and Their Biological Activities: A Comprehensive Review. *Carbohydr. Polym.* **2018**, *184*, 243–259. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.067>.
- (2) Guo, C.; Zhang, Y.; Ling, T.; Zhao, C.; Li, Y.; Geng, M.; Gai, S.; Qi, W.; Luo, X.; Chen, L.; Zhang, T.; Wang, N. Chitosan Oligosaccharides Alleviate Colitis by Regulating Intestinal Microbiota and PPAR γ /SIRT1-Mediated NF-KB Pathway. *Mar. Drugs* **2022**, *20* (2), 96. <https://doi.org/10.3390/md20020096>.
- (3) Zhang, C.; Jiao, S.; Wang, Z. A.; Du, Y. Exploring Effects of Chitosan Oligosaccharides on Mice Gut Microbiota in in Vitro Fermentation and Animal Model. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 2388. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02388>.

Option à laquelle est associée ce projet : maladies infectieuses

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : TENS-INSERM U1235

N° d'équipe : (unité mono-équipe)

Nom-Prénom de l'encadrant : Aymeric Laetitia

Courriel de l'encadrant : laetitia.aymeric@univ-nantes.fr

Candidat pressenti :

Titre du stage : Rôle des neurones entériques dans la déstabilisation de la barrière intestinale induite par la bactérie opportuniste *Streptococcus agalactiae*

Résumé du projet proposé :

***Streptococcus agalactiae*, ou Streptocoque du groupe B (SGB)**, est une bactérie commensale présente dans le microbiote intestinal de 30% de la population. SGB peut traverser les barrières biologiques et causer des **infections systémiques graves** chez les individus vulnérables, comme les personnes âgées ou les nouveau-nés. C'est en effet la **première cause de méningite bactérienne néonatale dans le monde**. La seule stratégie préventive existant à l'heure actuelle est une antibioprophylaxie péri-partum recommandée pour toutes les femmes porteuses de la bactérie, qui vise à diminuer les risques de transmission de SGB de la mère à l'enfant. Efficace contre les formes précoces de l'infection (*ie* dans les 24h suivant la naissance), cette stratégie ne permet pas de diminuer l'incidence des formes tardives de l'infection (*ie* dans les mois suivant la naissance). De plus, il est important d'anticiper les risques liés à un usage trop important d'antibiotiques, tels que l'émergence de souches résistantes. Afin de proposer des alternatives à l'antibioprophylaxie, il est important d'étudier les mécanismes de pathogénicité de SGB, son interaction avec les barrières biologiques et notamment avec l'intestin, un réservoir majeur pour cette bactérie opportuniste.

Les données obtenues au laboratoire montrent que SGB déstabilise la barrière intestinale en induisant une hyperactivation des neurones entériques via la production d'une toxine pro-inflammatoire. **L'objectif du stage est de caractériser l'effet de cette toxine sur les neurones entériques et d'identifier les neuromédiateurs produits responsables de la déstabilisation de la barrière intestinale**. Nous essaierons aussi de prévenir l'infection par SGB en ciblant les voies identifiées, par des approches pharmacologiques ou immunologiques (anticorps neutralisants). Pour cela, nous utiliserons des modèles de cultures de neurones et de cellules épithéliales *in vitro*, ainsi que des modèles d'infection *in vivo*, dans des **modèles pré-cliniques**.

Option à laquelle est associée ce projet :

Maladies infectieuses

Formulaire de stage
Projet NGSVIH
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : Equipe 1 Centre de recherche translationnelle en transplantation et immunologie (CRT2I, UMR Nantes Université/INSERM 1064) et équipe d'infectiologie CIC 1413 (CHU Nantes/INSERM)

Nom-Prénom des encadrants : Pr Berthe-Marie Imbert-Marcille et Dr Elisabeth André-Garnier
Courriel des encadrants : berthe-marie.imbert@univ-nantes.fr et elisabeth.andre@chu-nantes.fr
Candidat pressenti : Dr Thomas Drumel

Titre du stage : **Cinétique d'évolution de la résistance aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse dans le réservoir proviral des patients vivants avec le VIH-1 , évaluée par séquençage de nouvelle génération (projet NGSVIH)**

Résumé du projet proposé :

Contexte

Dans le contexte de l'allongement de la durée de la prise en charge des patients vivant avec le VIH (PVVIH), l'optimisation du traitement constitue un enjeu majeur. Les souches résistantes aux antirétroviraux (porteuses de mutations) sont archivées dans le réservoir du VIH-1 (ADN pro-viral intégré dans le génome cellulaire) mais la durée de leur persistance est inconnue. Plusieurs études ont montré que la présence de la mutation M184V (conférant une résistance à certains inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse) s'estompe au cours du temps. Cette disparition ouvre la voie à une éventuelle ré-utilisation de certaines molécules (recyclage), notamment l'emtricitabine ou la lamivudine chez des patients ayant au préalable développé des résistances lors leur prise en charge initiale. La cinétique de mutations de survenue puis disparition des mutations de résistance à d'autres classes thérapeutiques, notamment aux Inhibiteurs Non Nucléosidiques de Transcriptase Inverse (INNTI), est peu décrite.

Objectifs

L'objectif principal de ce projet est d'étudier la cinétique d'évolution des mutants résistants aux INNTI dans le réservoir circulant du VIH-1 (PBMCs) et d'en déduire leur délai moyen de disparition.

Plan expérimental et faisabilité

Il s'agit d'une étude observationnelle menée sur 123 patients suivis dans le service d'infectiologie du CHU de Nantes, sous traitement efficace, et ayant présenté historiquement des mutations de résistance aux INNTI au niveau de leurs génotypes plasmatiques. Les autorisations réglementaires ont été obtenues. Pour chacun des patients ont été sélectionnés deux échantillons de sang total espacés d'au moins 6 mois et prélevés, pour le 1^{er} point analysé, au moins 2 ans après la découverte de la mutation de résistance. Les ADN proviraux seront extraits et séquencés (technique Sanger et Séquençage NGS en target spécifique de la *reverse transcriptase* par la technique ABL® avec solution bio-informatique intégrée (*Deepcheck/ microbiocheck*). Les variants résistants aux INNTI seront identifiés selon l'algorithme de l'ANRS-MIE Version 33 (2022) et quantifiés grâce à la PCR quantitative Biocentric®.

Le financement est assuré par une dotation provenant des études cliniques du CIC 1413.

Résultats escomptés et perspectives :

- 1- Définir le délai moyen de disparition des variants résistants aux INNTI dans le réservoir des cellules mononucléées du sang périphérique et proposer un schéma de recyclage de ces antirétroviraux
- 2- Définir la place éventuelle des techniques de NGS dans le suivi de routine des PVVIH.

Option à laquelle est associée ce projet :

Maladies infectieuses

Formulaire de stage
(SUR UNE PAGE MAXIMUM)
Parcours M2 BBRT 2023-24

Laboratoire : CR2TI Centre de recherche en Transplantation et Immunologie Translationnelle

N° d'équipe : 1

Nom-Prénom de l'encadrant : Bressollette-Bodin Céline

Courriel de l'encadrant : celine.bressollette@univ-nantes.fr

Candidat pressenti : Mathieu Barbier

Titre du stage : Apport de la métatranscriptomique respiratoires dans les fièvres inexplicées de l'enfant

Résumé du projet proposé :

Contexte : Aux urgences pédiatriques, la fièvre constitue l'un des motifs de consultation les plus fréquents, et ce principalement chez les enfants de moins de 5 ans. Récemment, une étude prospective multicentrique contrôlée et randomisée en cluster (DIAFEVERCHILD) chez les enfants de 6 jours à 3 ans se présentant aux urgences pédiatriques pour fièvre isolée a été mise en place. Son objectif principal était d'identifier les patients à risque d'infection bactérienne sévère par la mesure de la PCT. Dans cette étude, parmi les enfants pour lesquels le diagnostic final était renseigné (n=2098), 52,1% était une étiologie virale (documentée pour 11,6%, probable pour 35,7%, un syndrome viral pour 4,8%). La recherche d'infection virale reposait sur la prescription de prélèvements nasopharyngés pour PCR multiplex respiratoire (10,1%), de test de diagnostic rapide grippe (11,2%) ainsi que des prélèvements de selles pour PCR multiplex entérique (2,4%). Le développement récent des techniques de métagénomique et metatranscriptomique par séquençage haut débit permet de rechercher des pathogènes sans *a priori*, d'étudier la composition du virome, et d'y associer l'étude de la réponse de l'hôte à ces infections, notamment dans des prélèvements respiratoires.

Objectif : Ces nouvelles approches de metatranscriptomique et métagénomique seront évaluées sur les prélèvements nasopharyngés des enfants présentant une fièvre isolée aux urgences pédiatriques. L'objectif principal sera de détecter des pathogènes non recherchés par les techniques conventionnelles. Les objectifs secondaires seront de décrire la composition du virome respiratoire et les données de transcriptomique de l'hôte.

Plan expérimental et faisabilité

Cette étude est observationnelle et descriptive. Les autorisations réglementaires ainsi que les consentements parentaux ont été récupérés. Vingt échantillons de sécrétions nasopharyngées sont déjà disponibles. Les inclusions sont en cours pour l'étude DIAFEVER2 qui permettra de récupérer une 50aine d'échantillons supplémentaires. L'analyse du virome respiratoire par métatranscriptomique est actuellement en cours d'évaluation dans une cohorte de patients adultes de réanimation (projet européen H2020 HAP2, PI : Pr A. Roquilly). L'analyse bioinformatique est réalisée en collaboration avec le Dr Laurence Josset, des HCL (CNR Virus respiratoire, plate-forme GENEPII). La préparation des librairies sera réalisée au sein du CR2TI, le séquençage sur la plate-forme GenoBIRD (infrastructure locale de génomique et bioinformatique, SFR Bonamy, Nantes université). Le travail de master 2 recherche sera mené sous la supervision du Dr Bressollette-Bodin, avec la participation d'un étudiant en thèse qui travaille déjà sur le projet européen. Les analyses bioinformatiques seront réalisées en collaboration avec l'équipe 6 du CR2TI (Jérémy Poschmann)

Résultats escomptés et perspectives : 1/ identification de pathogènes non recherchés par les techniques conventionnelles, possiblement associées à la fièvre 2/ description de la composition du virome respiratoire 3/association des données de métagénomique à des données de transcriptomiques de l'hôte.

Option à laquelle est associée ce projet :

Maladies infectieuses

Internship form
Course M2 BBRT 2023-24

Laboratory: CR2TI, UMR INSERM 1064

Team No: 6

Supervisor's full name: Aurelien SERANDOUR

Email of the supervisor: aurelien.serandour@ec-nantes.fr

Prospective candidate:

Internship Title: **METALUNG: Lung Metagenomics using nanopore sequencing to study dysbiosis.**

Summary of proposed project:

Our laboratory is interested in hospital acquired lung infections, which are very frequent and sometimes fatal. It is necessary to better characterize the dynamics of the respiratory microbiome before, during and after these infections in order to better understand the infectious process and its long-term consequences on the patient. This could eventually lead to the development of monitoring markers for clinicians and even innovative therapies such as probiotics.

Metagenomics makes it possible to identify all the micro-organisms present in a sample without any preconceived ideas. Nanopore sequencing applied to metagenomics has developed considerably over the last few years thanks to the production of long reads which greatly facilitate the assembly and identification of small genomes compared to Illumina's short read technology. In the laboratory, we currently use an external service provider who uses Illumina for metagenomics.

With the METALUNG project we have 2 operational objectives:

- to relocate metagenomics to the laboratory in order to acquire the expertise in data production and analysis.
- to move to nanopore metagenomics using our GridION in order to benefit from the added value of long reads.

We have a well-established mouse model of *E. coli* or *S. aureus* pneumonia (Roquilly et al., Nature Immunology 2020). We have also set up a murine model of bacterial colonization in the lung that allows us to study the impact of a simplified microbiome (a few bacterial families) on the response to a pathogenic bacterium. We plan to perform metagenomic analysis by full-length 16S sequencing of Specific-Pathogen-Free mouse lungs before and after bacterial colonization, and also before, during and after an induced infection, in order to identify the influence of the pulmonary microbiome on bacterial pneumonia.

The METALUNG project will allow us to acquire expertise in the production and analysis of full-length 16S metagenomic data.

Option with which this project is associated:

Infectious diseases

Internship form
(ON ONE PAGE MAXIMUM)
Course M2 BBRT 2023-24

Laboratory: CR2TI, INSERM UMR 1064

Team No: 1

Supervisor's full name: Dorian McILROY

Email of the supervisor: dorian.mcilroy@univ-nantes.fr

Prospective candidate: -

Internship Title: Identifying alternative receptors for BK polyomavirus

Summary of proposed project:

The BK polyomavirus (BKPyV) is a small non-enveloped DNA virus with >90% seroprevalence, that persists in the kidney and can cause problems in kidney transplant recipients. We recently reported the crystal structures and binding properties of capsid variants observed in patients with persistent genotype I BKPyV viremia (Sorin et al. Cell Reports 2023). One variant, carrying the K69N and E82Q mutations, lost the ability to bind to sialic acid, but retained infectivity in 293TT cells, implying the existence of an alternative receptor responsible for attachment and infectious entry of this variant. Preliminary results from colleagues in London (Y. Liu group, UCL) indicate that VP1 pentamers carrying the K69N E82Q mutations only bind to one particular glycan, which has not so far been implicated in polyomavirus entry. Interestingly, gIV (but not gI, gII, or gIII) VP1 pentamers also bound to this specific glycan.

The aim of the internship is to confirm that this glycan is a functional receptor for the K69N E82Q variant and gIV BKPyV, using lectins to block the glycan, and glycosidases to remove specific sugar residues from the surface of 293TT cells. Fluorescence-labeled VLPs and reporter-gene pseudotypes will then be used to quantify capsid binding and infectious entry of the different variant viruses into cells with and without expression of the glycan.

It is expected that the M2 student who works on this project will be listed as a co-author on the follow-up paper that we intend to submit in 2024.

Option with which this project is associated:

- Immuno-Intervention, Transplantation and Self-Immunity
- Infectious diseases