

Un protocole d'étude du microbiote de la Drosophile

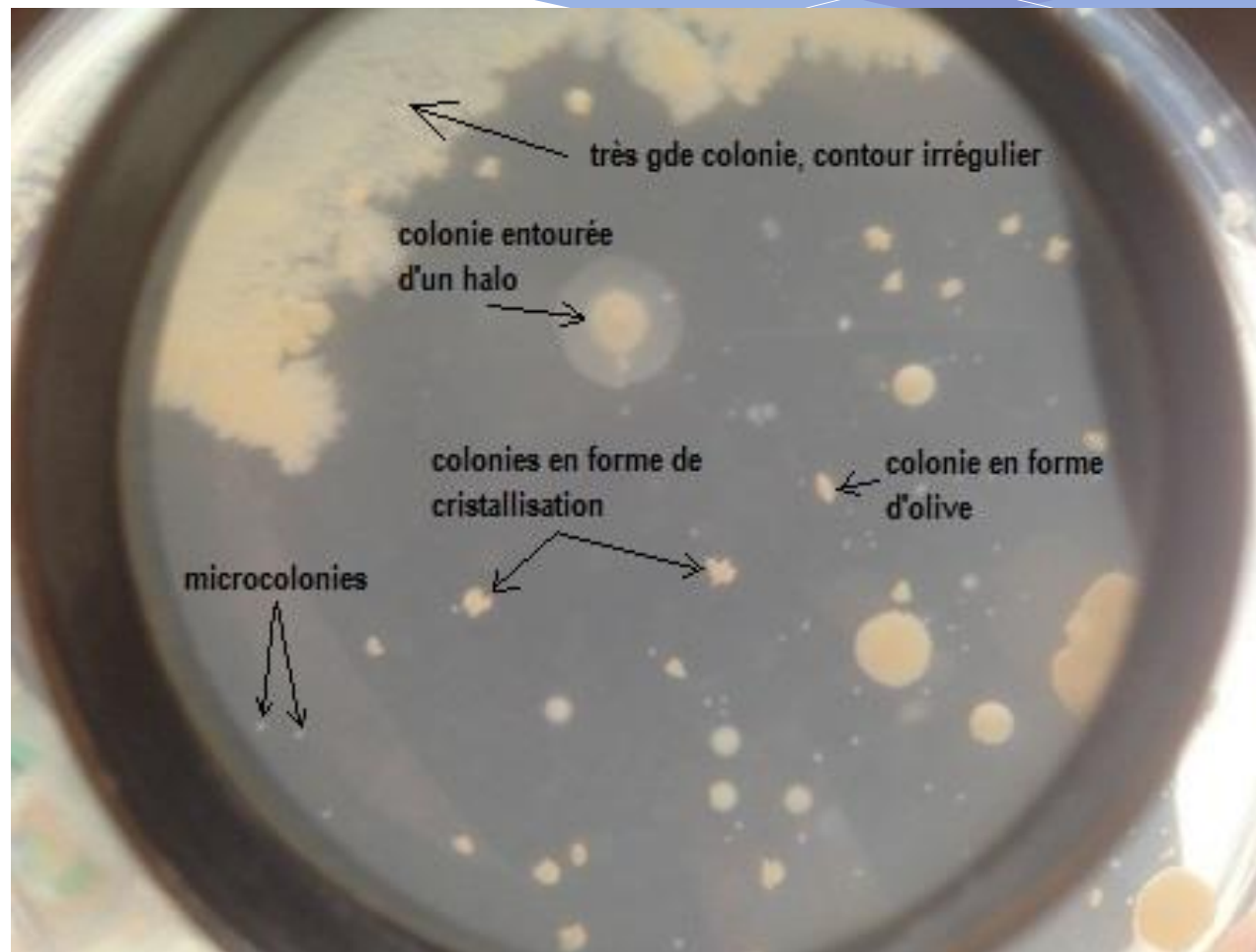
Amiens, 14 & 15 mars 2019



Diversité des colonies obtenues ex sur gélose *dnase*



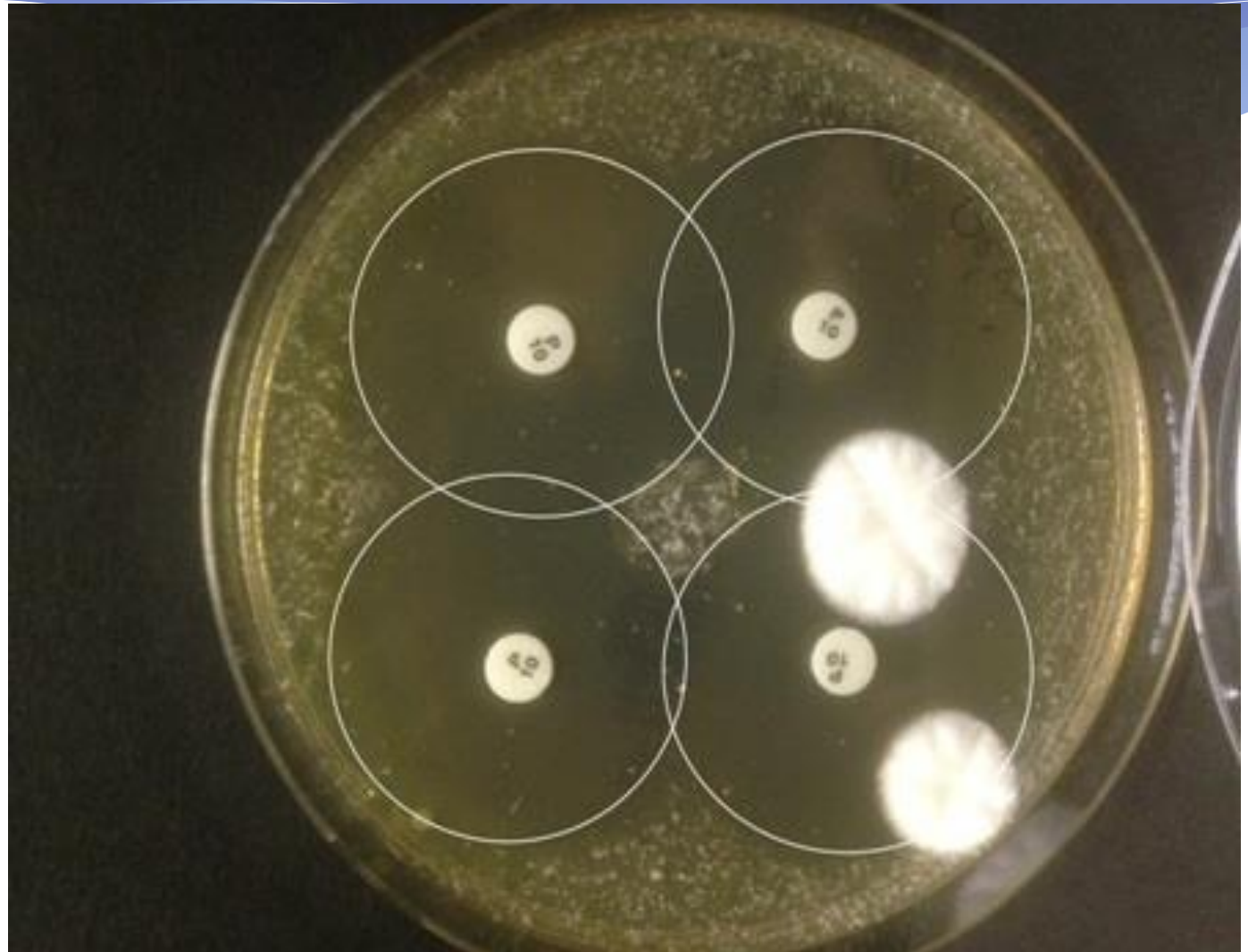
Diversité des colonies obtenues ex sur gélose *dnase*



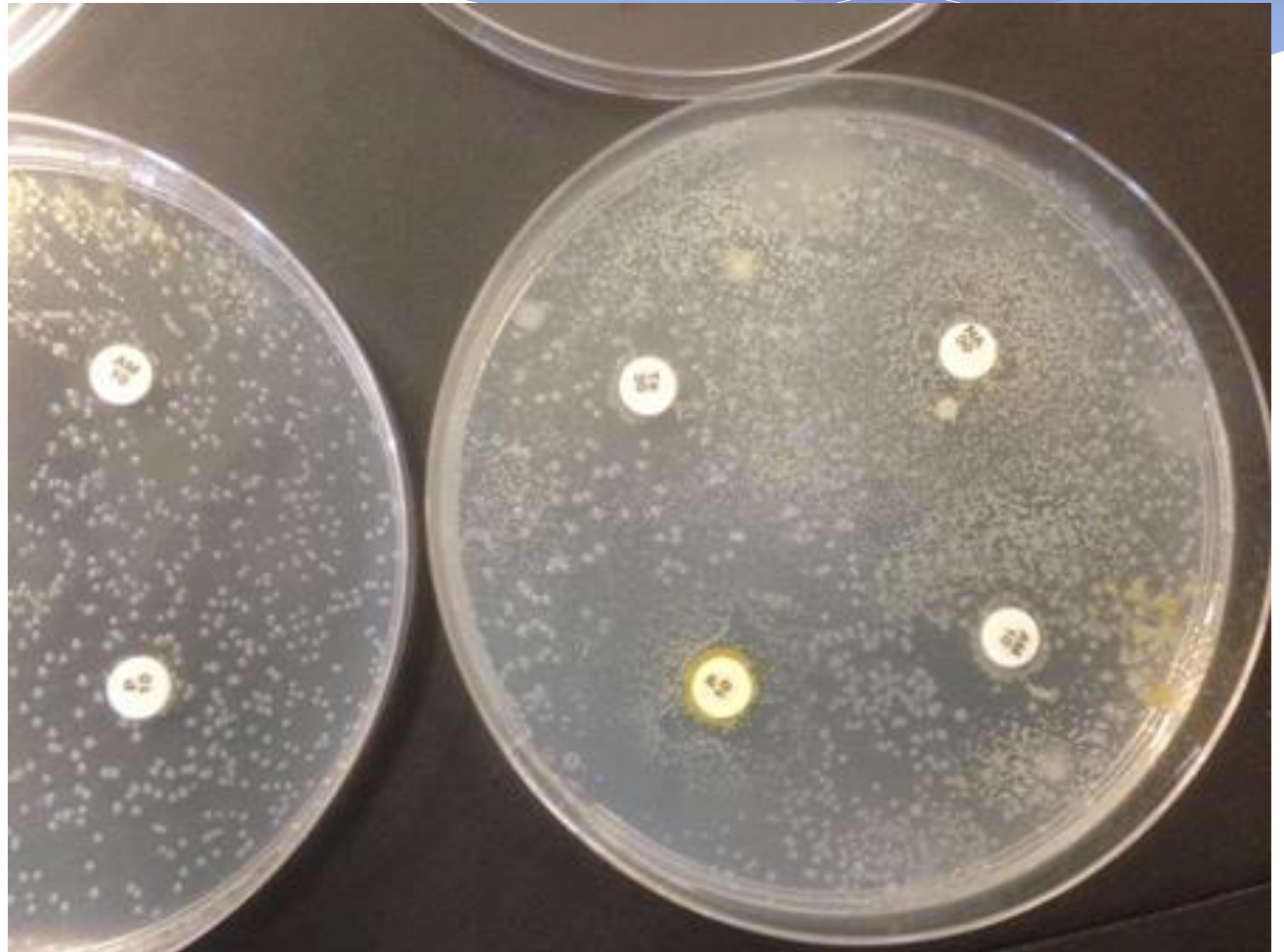
2 types de colonies majoritaires sur gélose (GN) au lait



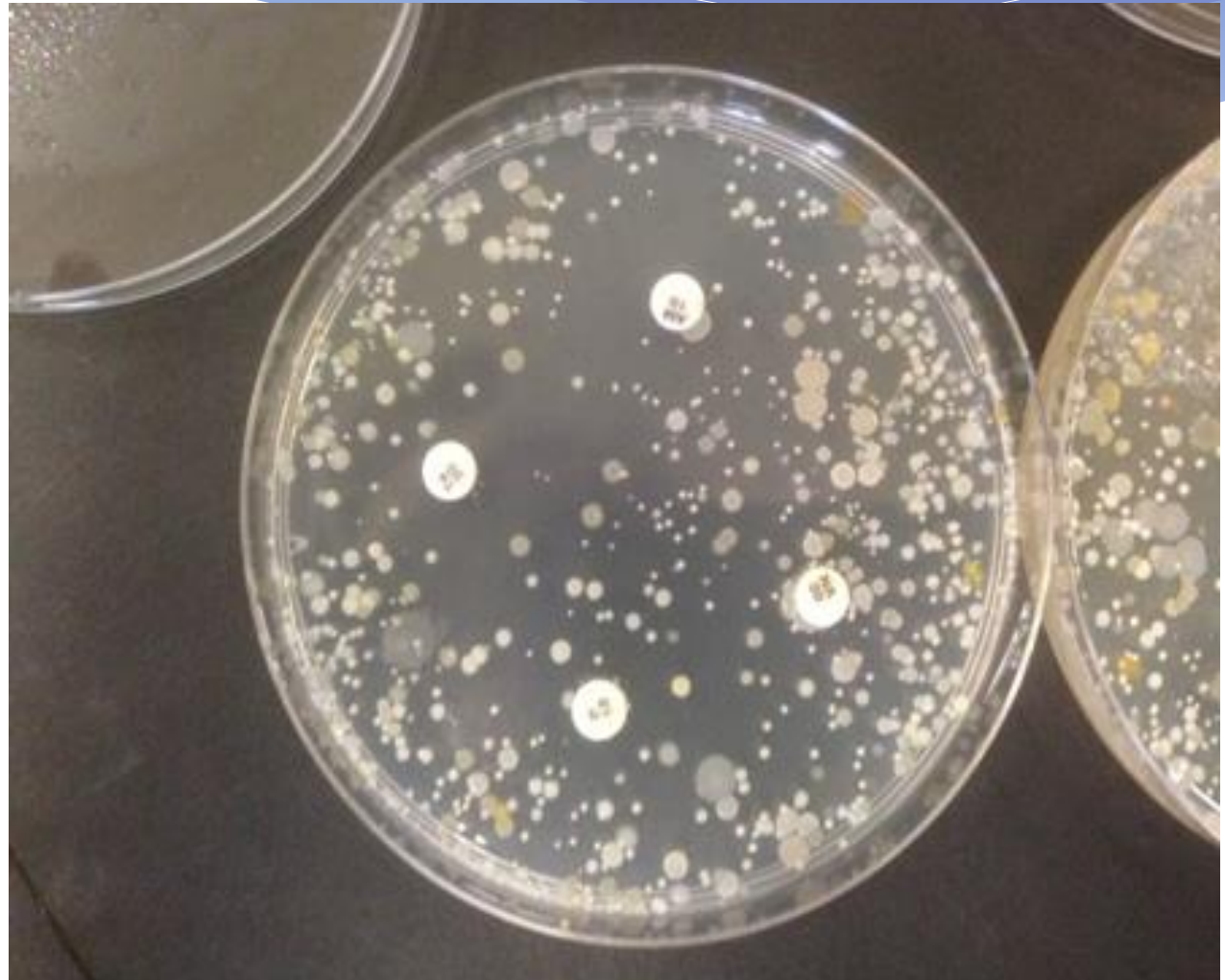
Traitement avec pastilles d'antibiotique (Pénicilline)



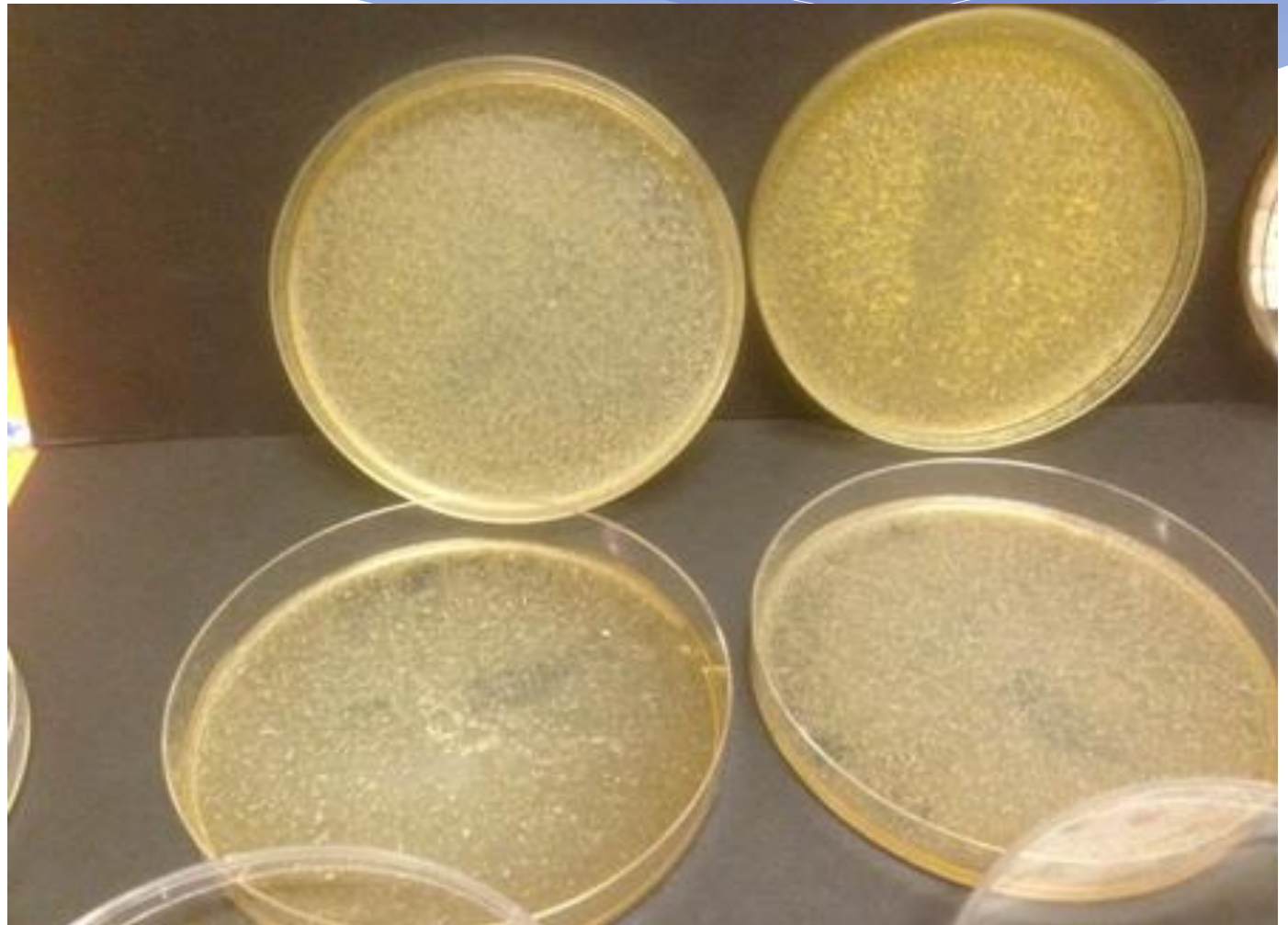
Extrait de mouche cultivée sur josacine déposé sur gélose (GN) contenant 4 pastilles d'antibiotiques distincts



Extrait de mouche cultivée sur fungizone déposé sur gélose (GN) contenant 4 pastilles d'antibiotiques distincts



Des colonies de bactéries majoritaires sur géloses (YPD) témoin ou avec antifongique



Des colonies de moisissures majoritaires sur géloses (YPD) avec antibiotiques josacine ou amoxicilline



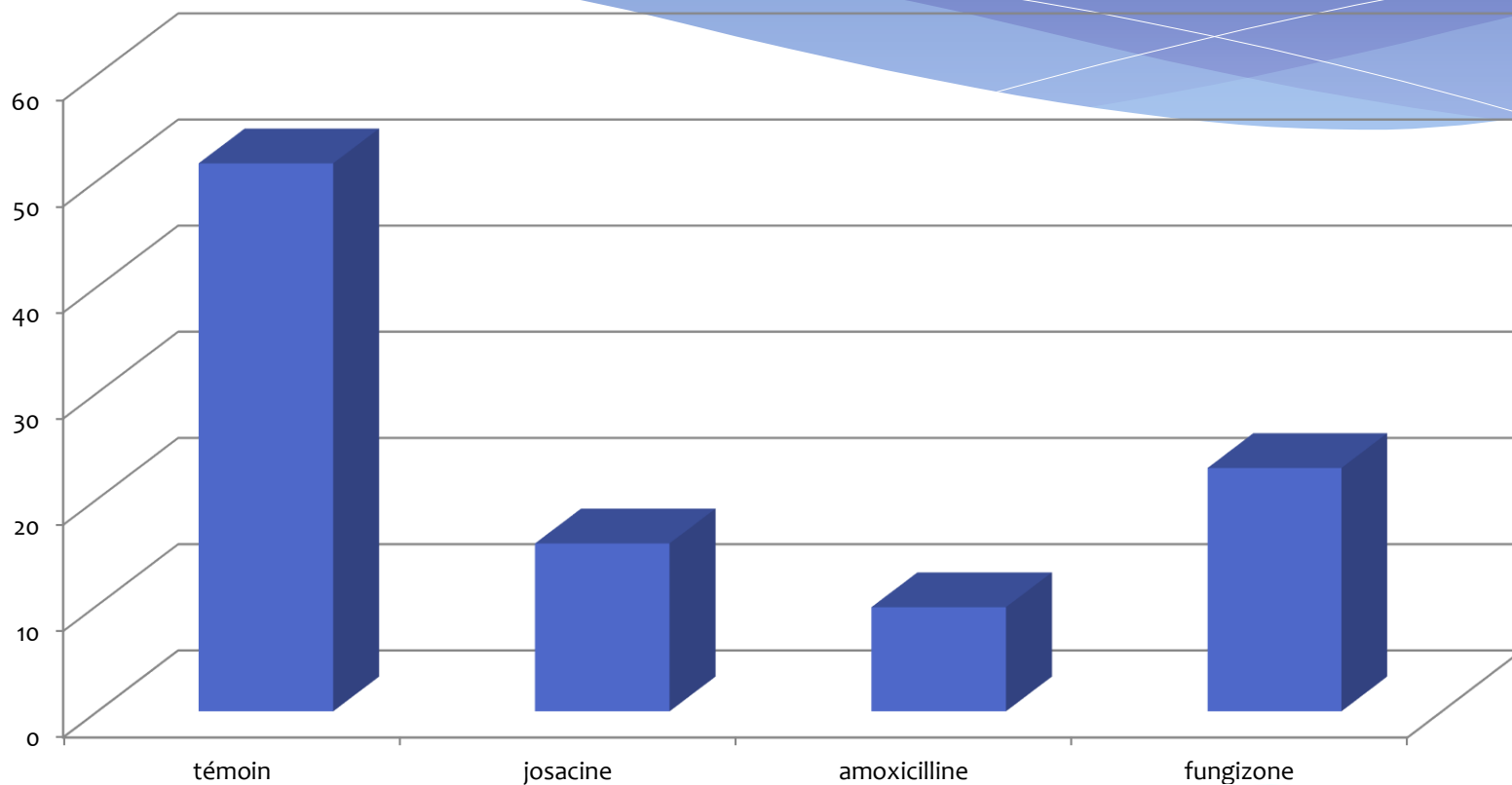
Abondance des microorganismes



nb moy de colonies observées sur les boîtes de gélose (en % du nb total de colonies)

souche	estimation 1	estimation 2	estimation 3	estimation 4	moyenne
témoin	56,1	38,3	34,9	76,9	51,6
<u>josacine</u>	7,5	16,1	36,2	3,3	15,8
<u>amoxicilline</u>	8,6	12	9,7	9	9,8
<u>fungizone</u>	27,8	33,6	19,2	10,8	22,9
nb total de colonies	478	342	610	3900	-

nb moy de colonies observées sur les boîtes de gélose (en % du nb total de colonies)



Tous les traitements avec antibiotique conduisent en moyenne à une diminution du nombre de microorganismes présents par mouche

- * Toutefois, dans le détail, les choses sont moins évidentes et la variabilité est grande, en particulier les résultats obtenus avec les mouches cultivées sur ***josacine***.
- * Dans certains cas, les résultats d'abondance sont supérieurs pour l'essai avec antibiotique que pour le lot témoin, ce qui pourrait suggérer que des ***mécanismes inhibiteurs*** existent chez les mouches, mécanismes tels que certaines populations de microorganismes seraient limitées dans leur développement (colonisation) par la présence d'autres microorganismes (ou du fait des mouches elles-mêmes). On a en particulier envisagé que ***les populations de champignons (moisissures) pouvaient être freinées dans leur développement par les bactéries*** (diapos précédentes).

Un essai a été réalisé en déposant des carrés de gélose contenant des colonies de bactéries sur des boîtesensemencées avec des extraits de mouches dans des conditions favorisant le développement des champignons. Dans ces conditions on n'a observé aucun effet, le développement des moisissures n'étant nullement gêné !

Estimation de la taille du microbiote

- * Nous pouvons tenter une estimation (grossière) en prenant l'effectif de colonies le plus élevé obtenu sur boîte gélosée, soit environ 3000 colonies, pour un dépôt de 10 μL d'extrait réalisé avec une seule mouche écrasée dans un volume total de 1 mL : $(3000 / 10 \mu\text{L}) \times 1000 \mu\text{L} = 3 \times 10^{e+5}$.
- * La littérature donne 10^{e+6} comme ordre de grandeur moyen, les valeurs pouvant varier de 10^{e+4} à 10^{e+8} cfu (colony-forming unit)/mouche

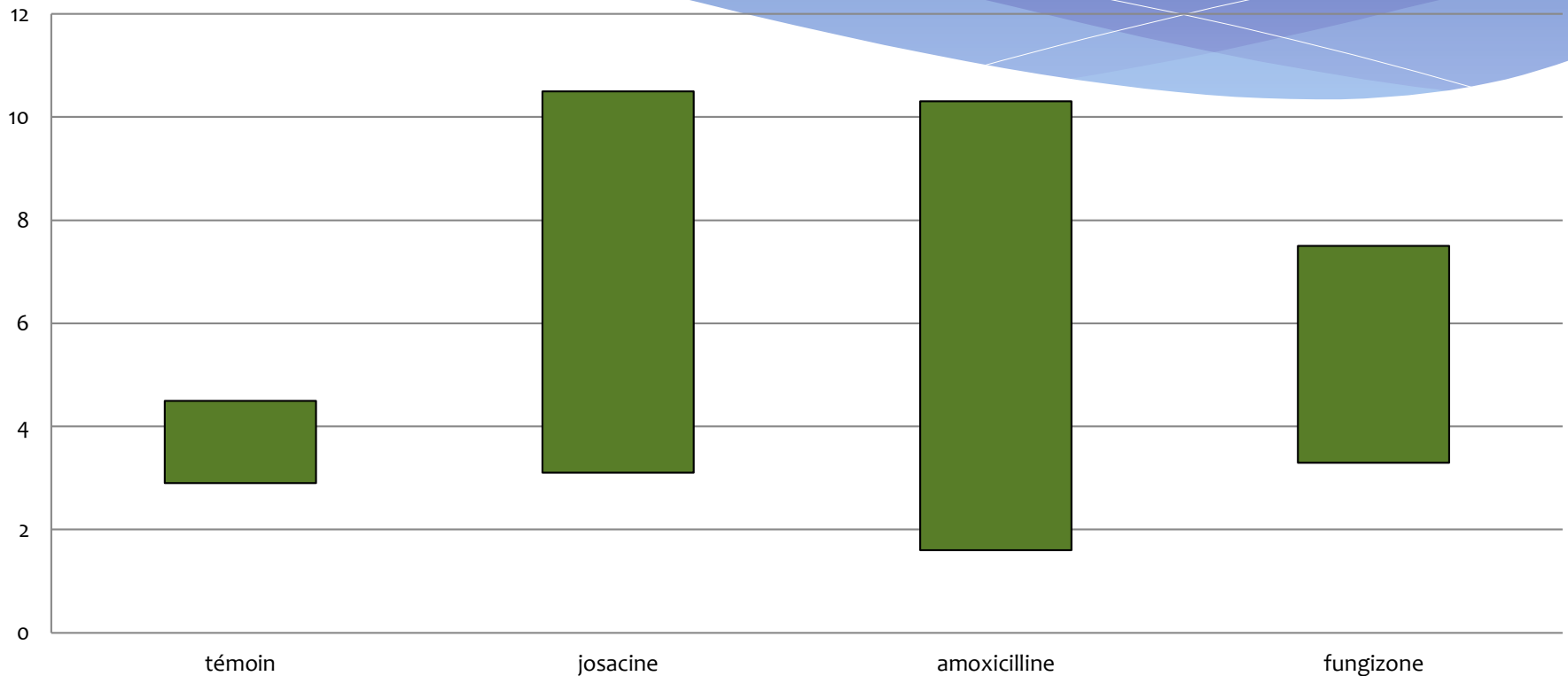
Diversité des microorganismes



La diversité des types de colonies de microorganismes observées sur boîtes est supérieure à celle des mouches témoin pour l'ensemble des 3 traitements

souche	min	max	moy
témoin	2,9	4,5	3,6
josacine	3,1	10,5	5,2
amoxicilline	1,6	10,3	4,8
fungizone	3,3	7,5	5

La diversité des types de colonies de microorganismes observées sur boîtes est supérieure à celle des mouches témoin pour l'ensemble des 3 traitements



La diversité des types de colonies de microorganismes observées sur boîtes

- * Comme précédemment pour l'abondance, les données souffrent dans le détail d'une assez forte variabilité.
- * Toutefois d'autres données viennent conforter la conclusion que les traitements antibiotiques modifient les populations de microorganismes hébergés par les mouches : ce sont les proportions de certains types de colonies, les moisissures, les anaérobies et les « bleutés »

les traitements antibiotiques modifient les populations de microorganismes hébergés par les mouches

souche	moisissures	anaérobies	« bleutés »
témoin	9/63 (14,3%)	3/63 (4,8%)	22/63 (34,9%)
<u>josacine</u>	7/58 (12,1%)	11/58 (19%)	17/58 (29,3%)
<u>amoxicilline</u>	27/38 (71%)	7/38 (18%)	0/38 (0%)
<u>fungizone</u>	1/35 (2,9%)	9/35 (25,7%)	13/35 (37,1%)

Exprimé en nb de boîtes (sur le nb total)
où le phénotype considéré est observé

Comportement des mouches



On peut finalement corrélérer les résultats précédents avec ceux concernant l'état général des mouches dans les flacons de culture

souche	nb de mouches	activité des mouches	présence de pupes
témoin	<u>nombreuses à très nombreuses</u>	<u>actives</u>	oui
<u>josacine</u>	rare (bcp de morts)	peu actives	non
<u>amoxicilline</u>	rare (bcp de morts)	peu actives	non
<u>fungizone</u>	peu nombreuses à nombreuses	<u>actives</u>	oui

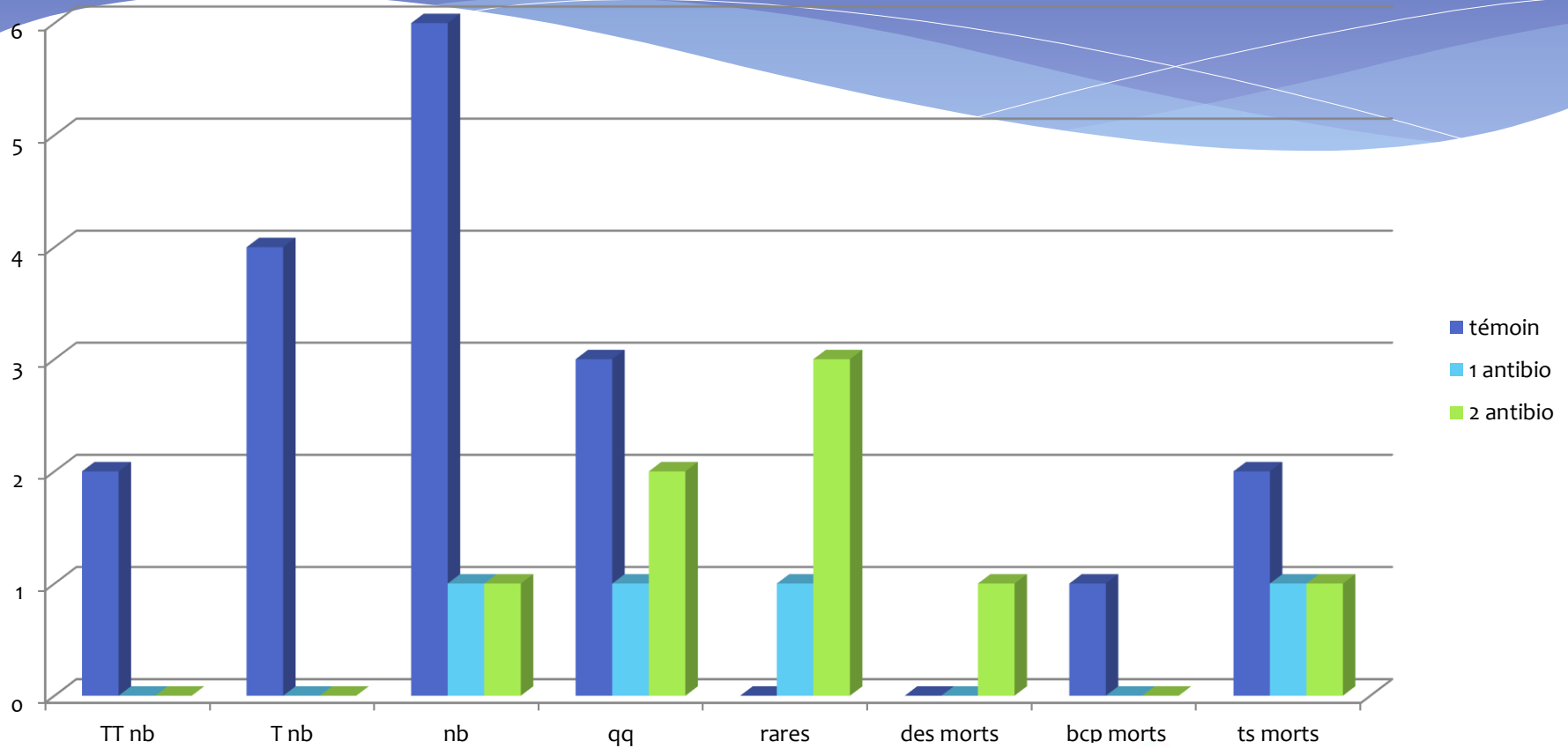
Données complémentaires



Suivi des flacons de culture de drosophiles

nb de mouches	très très nombreuses	très nombreuses	nombreuses	qq	rares, 3-4, etc.	des morts	bcp de morts	ts morts
tém	2	4	6	3	0		1	2
josa				1				1
amox			1		1			
josa+amox					1			1
fungi+josa				2	1			
fungi+amox			1		1	1		
1 antibiotiq			1	1	1			1
2 antibiotiq			1	2	3	1		1
ts antibiotiq			2	3	4	1		2

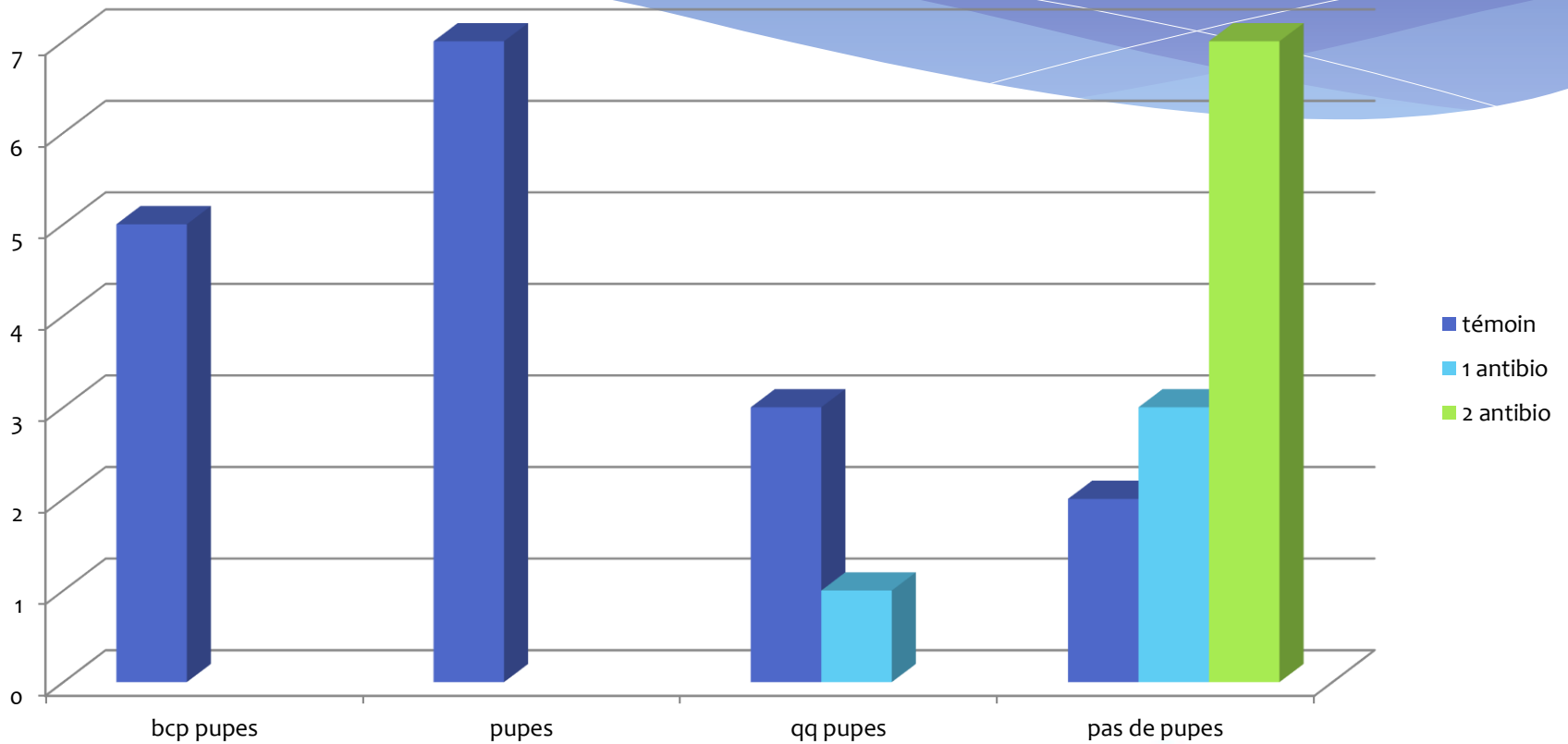
Suivi des flacons de culture de drosophiles



Bilan pupaison

pupes	<u>bcp</u> pupes	pupes	<u>qq</u> pupes	pas de pupes
<u>tém</u>	5	7	3	2
<u>josa</u>			1	1
<u>amox</u>				2
<u>josa+amox</u>				2
<u>fungi+josa</u>				3
<u>fungi+amox</u>				2
<u>1 antibiotiq</u>			1	3
<u>2 antibiotiq</u>				7
<u>ts antibiotiq</u>			2	10

Réduction de la reproduction (pupaison) avec la pression d'antibiotiques



Conclusion

L'ensemble de ces résultats va donc dans le sens d'une modification du microbiote de la mouche drosophile provoquée par les conditions de culture et affectant l'état général de l'organisme

Remerciements

- * Pierre Capy, Professeur, Université Orsay-Paris Sud
- * Frédéric Marion-Pol, Professeur, AgroParisTech
- * Jean-Luc Da Lage, DR CNRS
- * Nadège Beaudoin, labo SVT lyc JPV Sèvres
- * Nathalie Davoust-Nataf et Chloé Journo, équipe ACCES Ifé-ENS Lyon
- * Annick Boulanger



Un protocole d'étude du microbiote de la Drosophile

Hervé Levesque, Lycée JP Vernant à
Sèvres et Équipe ACCES, Ifé-ENS Lyon

