

TP 3 — Test d'adhésion sur cellules épithéliales intestinales.

Objectifs pédagogiques

- Comprendre le critère d'adhésion dans la sélection des probiotiques
- Réaliser un test d'adhésion in vitro sur lignée cellulaire Caco-2 (ou HT-29)
- Interpréter l'index d'adhésion selon les critères FAO/OMS

Note préalable : Ce TP nécessite une culture cellulaire préparée 7 jours à l'avance (différenciation Caco-2 sur insert Transwell, DMEM, 37°C, 5 % CO₂).

Protocole simplifié :

1. Laver les monocouches Caco-2 différenciées (TEER > 300 Ω.cm²) avec PBS.
2. Préparer suspensions bactériennes dans DMEM sans antibiotique (10⁷ UFC/mL).
3. Déposer 500 µL de suspension bactérienne par puits ; incubation 1h à 37°C, 5 % CO₂.
4. Lavages × 3 avec PBS préchauffé pour éliminer les bactéries non-adhérentes.
5. Lyse cellulaire avec Triton X-100 (0,1 %) + grattage.
6. Dénombrement des bactéries adhérentes sur MRS.
7. Calcul : Index d'adhésion (IA) = nb bactéries adhérentes / nb cellules Caco-2.
8. Comparaison des souches ; souche de référence : *Lactobacillus rhamnosus* GG.

Interprétation :

- IA > 3 bactéries/cellule : adhésion forte (critère positif pour sélection).
- IA 1–3 : adhésion modérée.
- IA < 1 : adhésion insuffisante.