

Activité protéolytique de la MMP-9 durant une mammitte expérimentale à *E. coli*

MMP-9 activity during experimental *E. coli* mastitis

K. HADDADI(1), F. MOUSSAOUI (1), Y. LE ROUX (1), C. BURVENICH (2)

(1) Laboratoire de Sciences Animales (ENSAIA), 2 Avenue de la Forêt de Haye, 54 505. Vandoeuvre-Lès-Nancy

(2) Ghent University, Faculty of Veterinary Medicine, Département de Physiologie, Biochimie et Biométrie, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgique

INTRODUCTION

Les mammites induisent une augmentation de la perméabilité de la barrière épithéliale mammaire, qui entraîne un recrutement massif des polymorphonucléaires (PMN), du sang vers le lait. Les métalloprotéases (MMPs) sont des protéases sécrétées à la fois par les granules des PMN et par les bactéries pathogènes, principales causes des infections mammaires (Maeda *et al.*, 1998). Les métalloprotéases et notamment la MMP-9 sont activement impliquées dans la déstructuration de la matrice extracellulaire lors d'une inflammation (Chantrain et DeClerck, 2002). Une augmentation de l'activité de la MMP-9, pourrait contribuer à la caséinolyse dans le lait. L'objectif de notre étude est de suivre l'activité de la MMP-9 durant une mammitte expérimentale à *E. coli* ainsi que sa relation avec le dénombrement cellulaire (SCC) et bactérien (UFC).

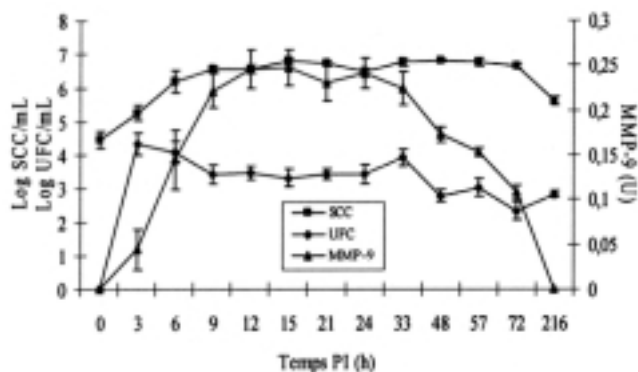
1. MATERIEL ET METHODES

Une inoculation intramammaire d'*E. coli* a été réalisée sur huit génisses. L'activité protéolytique de la MMP-9, le SCC et les UFC ont été mesurés. Des échantillons de lait et de sang ont été prélevés avant et après inoculation à différents temps pendant 216 h. La quantification de l'activité de la MMP-9 a été réalisée par zymographie gélatine et densitométrie.

2. RESULTATS

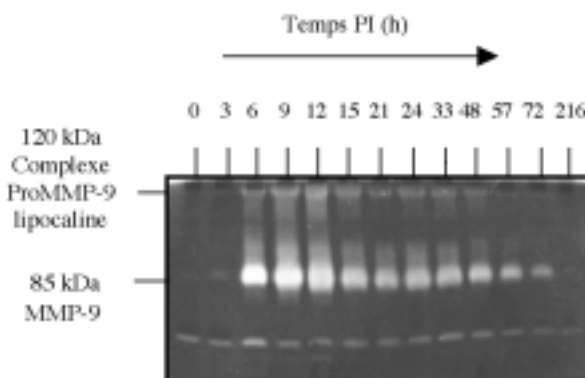
Une augmentation significative de l'activité protéolytique de la MMP-9 est notée entre 6 et 72 h PI (post inoculation). En parallèle une augmentation simultanée du SCC et des UFC est observée.

Figure 1 : évolution et de l'activité de la MMP-9 en relation avec le SCC et les UFC dans le lait après inoculation intramammaire d'*E. coli*. (PI = post inoculation. n = 8)



L'analyse par zymographie des activités gélatinolytiques dans le lait au cours de la cinétique montre un profil comportant deux principales bandes à partir de 6 h PI résultant de l'activité de la MMP-9. La première bande de 120 kDa correspond à un complexe MMP-9-lipocaline et la seconde de 85 kDa correspond à la forme active de la MMP-9

Figure 2 : évolution de l'activité gélatinolytiques de la MMP-9 dans le lait après inoculation intramammaire d'*E. coli*.



3. DISCUSSION

L'activité de la MMP-9 augmente simultanément avec le SCC et les UFC. La MMP-9 serait générée en partie par les neutrophiles. En effet, la présence du complexe MMP-9-lipocaline majoritairement sécrétée par les neutrophiles conforte cette hypothèse (Li Yan *et al.*, 2001). D'autre part, la sécrétion des métalloprotéases par les bactéries a été rapportée par Maeda *et al.*, (1998). Une activité de type MMP-9 provenant d'*E. coli* ne peut être exclue mais reste toutefois à mesurer de manière spécifique.

CONCLUSION

La protéolyse dans le lait est un phénomène complexe qui met en jeu plusieurs acteurs et leurs interactions. En plus de la plasmine, les protéases des PMN et des bactéries interviennent dans la dégradation de la matrice extracellulaire mammaire et dans la caséinolyse dans le lait.

Chantrain C., DeClerck Y.A. 2002. Médecine / Sciences., 18, 565-75

Yan L., Borregaard N., Kjeldsen L., Moses M.A. 2001. J. Biol. Chem., 276(40), 37258-65

Maeda H., Okamoto T., Akaike T. 1998. Biol. Chem., 379,193-200