

MICROBIOTE
CONSORTIUM D'INVESTIGATION CLINIQUE

Microbiote & Santé

de l'organisme humain

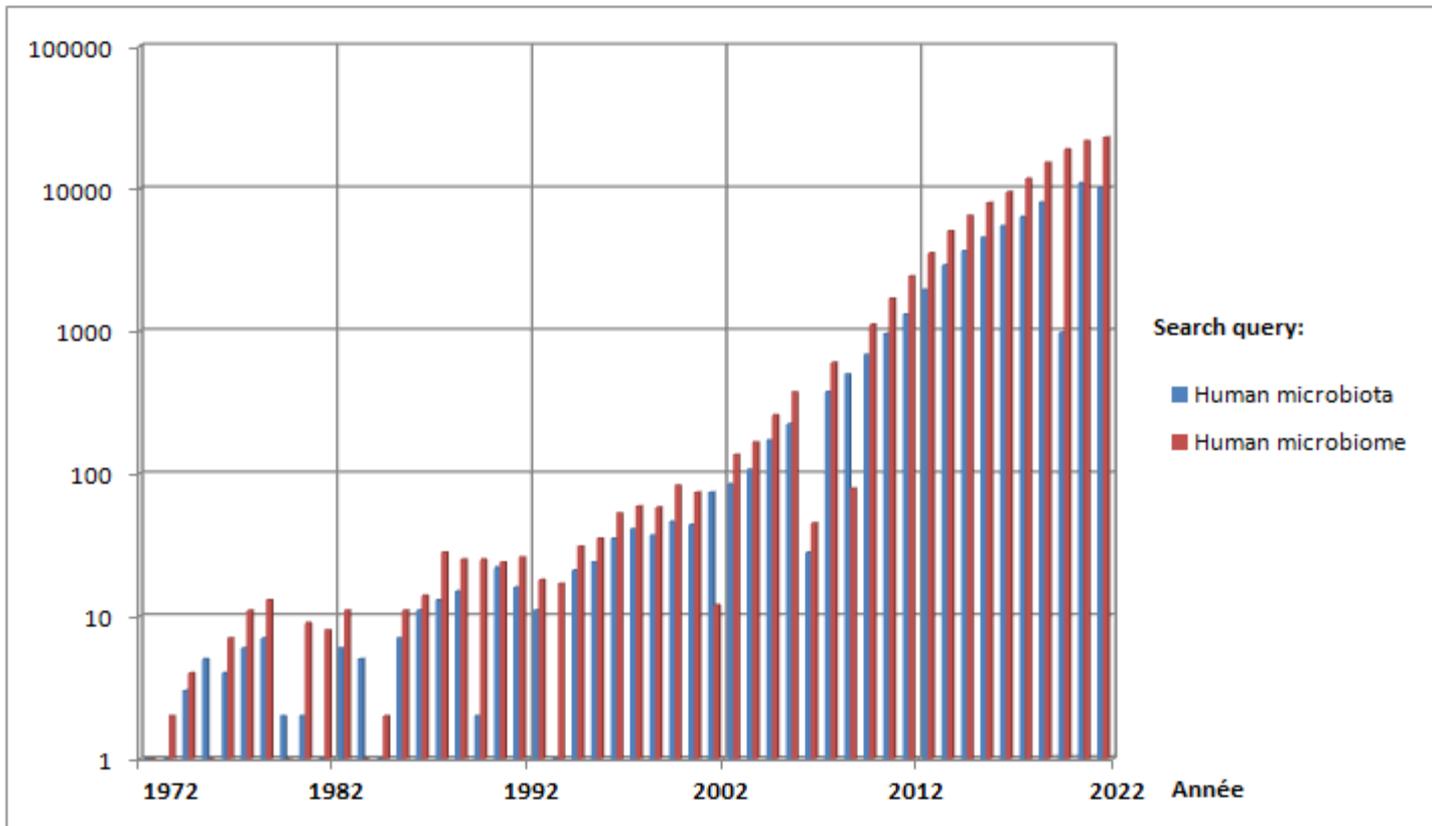
Aïda Bouratbine
Institut Pasteur de Tunis

32 eme Congrès National de la STPI
2eme Congrès francophone de Pathologie Infectieuse et de Microbiologie Clinique
5-7 Mai 2023 Hotel Golden Tulip Taj Soltane, Yasmine Hammamet, Tunisie

MICROBIOTE et MICROBIOME

Croissance exponentielle des publications

Nombre de publication (Medline)



MICROBIOTE

Ensemble des micro-organismes qui vit en symbiose avec l'organisme humain

Micro-organismes symbiotiques

Bactéries, archées, champignons et protistes sont présents dans toutes les parties du corps en contact direct avec l'environnement externe

Relation de Symbiose (mutualiste)

Organisme humain fourni au microbiote

- ✓ un environnement favorable à son développement (T°, humidité,...)
- ✓ Nutriments essentiels à sa survie

En retour: Le microbiote remplit un certain nombre de fonctions indispensables à notre organisme

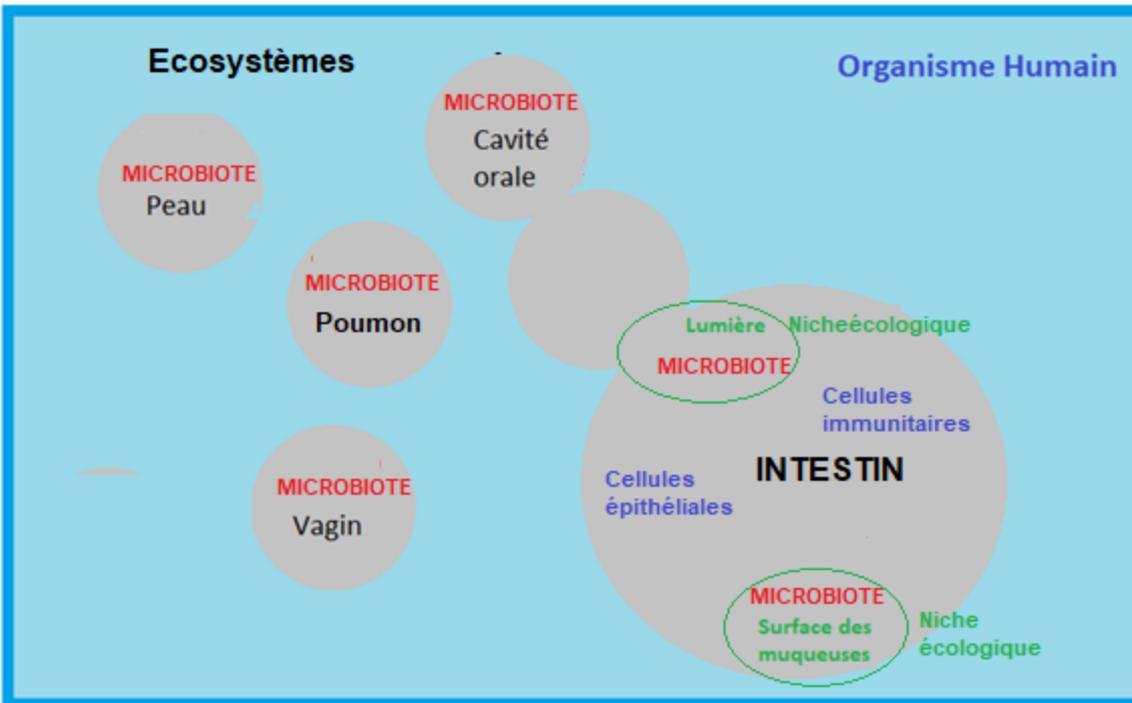


L'organisme humain et son microbiote constitue une seule entité **Holobionte**

Simon et al. Microbiome (2019)

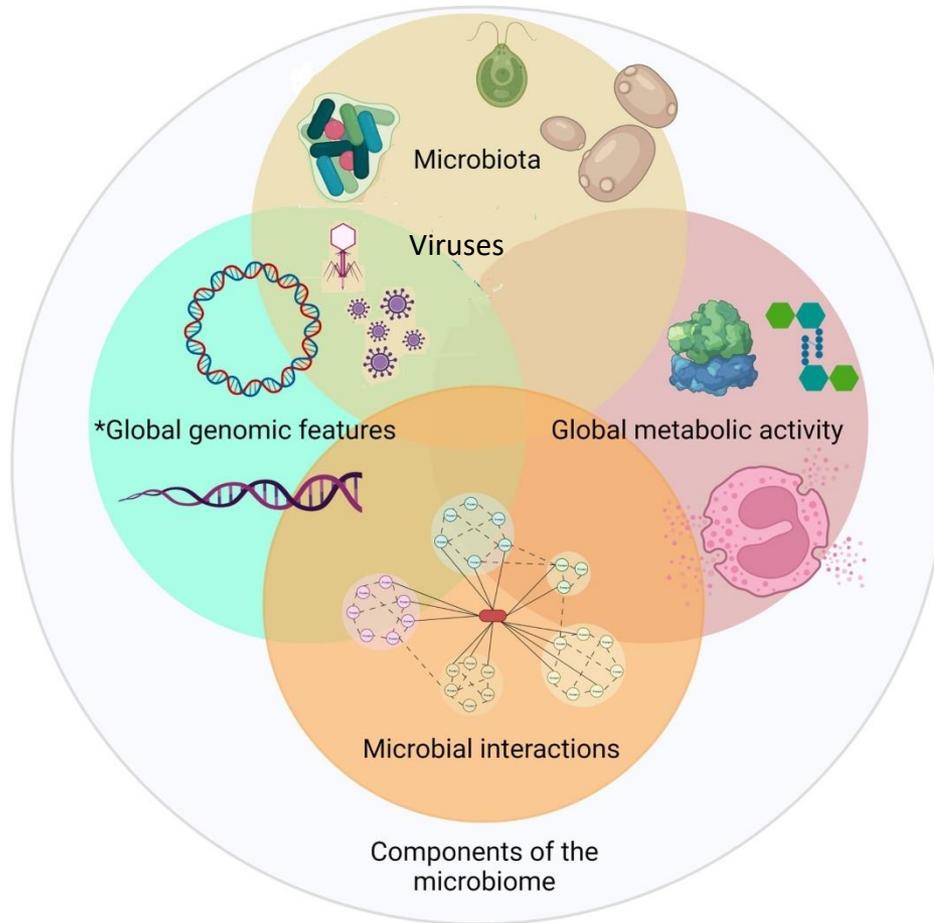
MICROBIOTES plutôt que MICROBIOTE

Des écosystèmes... et des niches écologiques



Niches écologiques
spécialisées
caractérisées par leurs propres
Consortia microbiens

Le terme **MICROBIOME** englobe le microbiote et son champs d'activité



- les membres du microbiote micro-organismes vivants (bactéries, archées, champignons, protistes)
- Éléments génétiques mobiles incluant les virus et les phages
- L'ensemble des génomes (gènes)
- Les métabolites bactériens



Structure et activités du microbiote

Composition

Intestin : 100 mille milliards de bactéries Dont une grande proportion non cultivable

Dans l'organisme il existe plusieurs microbiotes

Le microbiote intestinal est le plus peuplé

On estime à **100 mille milliards** le nombre de bactéries réparties entre la lumière du TD et biofilm de mucus

Une grande proportion non cultivable

Microbiote du nez/bouche/pharynx

Microbiote de la peau

Microbiote des poumons

Microbiote du système digestif

Microbiote du vagin

Foie

Estomac

Pancréas

Intestin grêle

Colon

Rectum

Organ / Part of the digesting system	Typical concentration of bacteria ⁽¹⁾ (number/ml content)	Volume (ml)	Order of magnitude bound for bacteria number
Stomach	10^3 - 10^4	250 - 900	10^7
Duodenum and Jejunum (upper small intestine)	10^3 - 10^4	400	10^{11}
Ileum (lower small intestine)	10^8		
Colon (large intestine)	10^{11}	420±90	10^{14}

Fungi

Bacteria

Sender et al., *BioRxiv* 2016
Charlson et al., *PLoS ONE* 2010
Levits et al., *Front Cell Infect Microbiol* 2013

Estimation de l'abondance cellulaire relative des champignons dans les selles humaines sur la base de l'analyse métagénomique *Trends Microbiol.* 2013

Progrès dans l'étude de la composition Accès à l'incultivable

Séquenceurs nucléotidiques de nouvelle génération



**Amplification clonale et Séquençage parallèle
de petits fragments d'ADN (150-400 pb)**

**Séquençage haut débit
(Millions-Milliards de « reads » générés en un seul Run)**

Techniques NGS

META-TAXONOMIE *versus* METAGENOMIQUE

Extrait d'ADN

Amplification gènes codant ARNr

- Région variable **16S (bactéries)**
- * **18S, ITS1, ITS2 (eucaryotes)**

**Préparation
Fragments ADN**

Fragmentation aléatoire

**Shotgun
ADN total**



NGS

**Séquençage des fragments
(150-400 pb)**



Millions Reads

Jusqu'à 20 Milliards Reads

Caractérisation taxonomique

- 16 S : Bactéries
- 18S-ITS : champignons
- 18S: Protistes
- Résolution:
niveau familles / genres
- OTU (unité taxonomique opérationnelle)

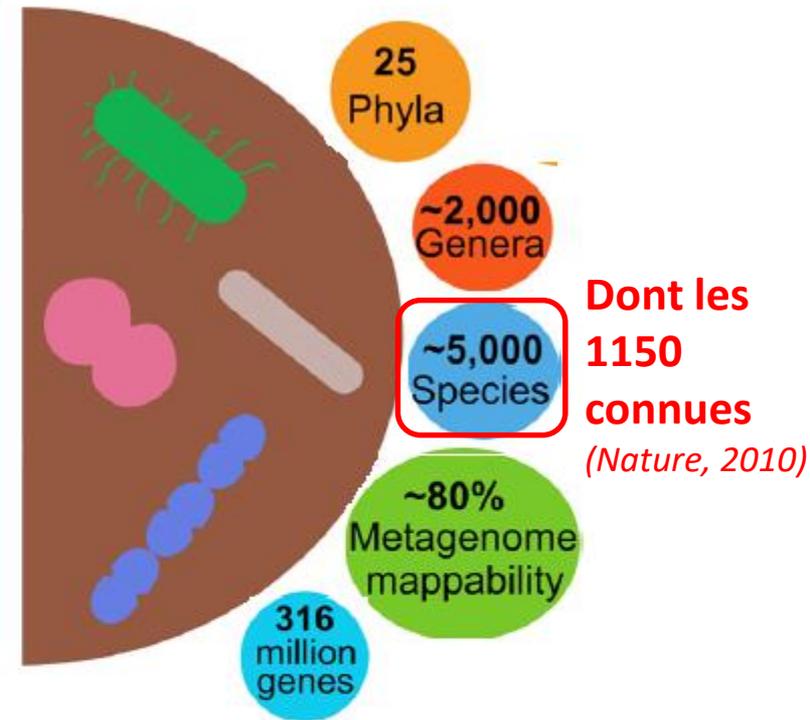
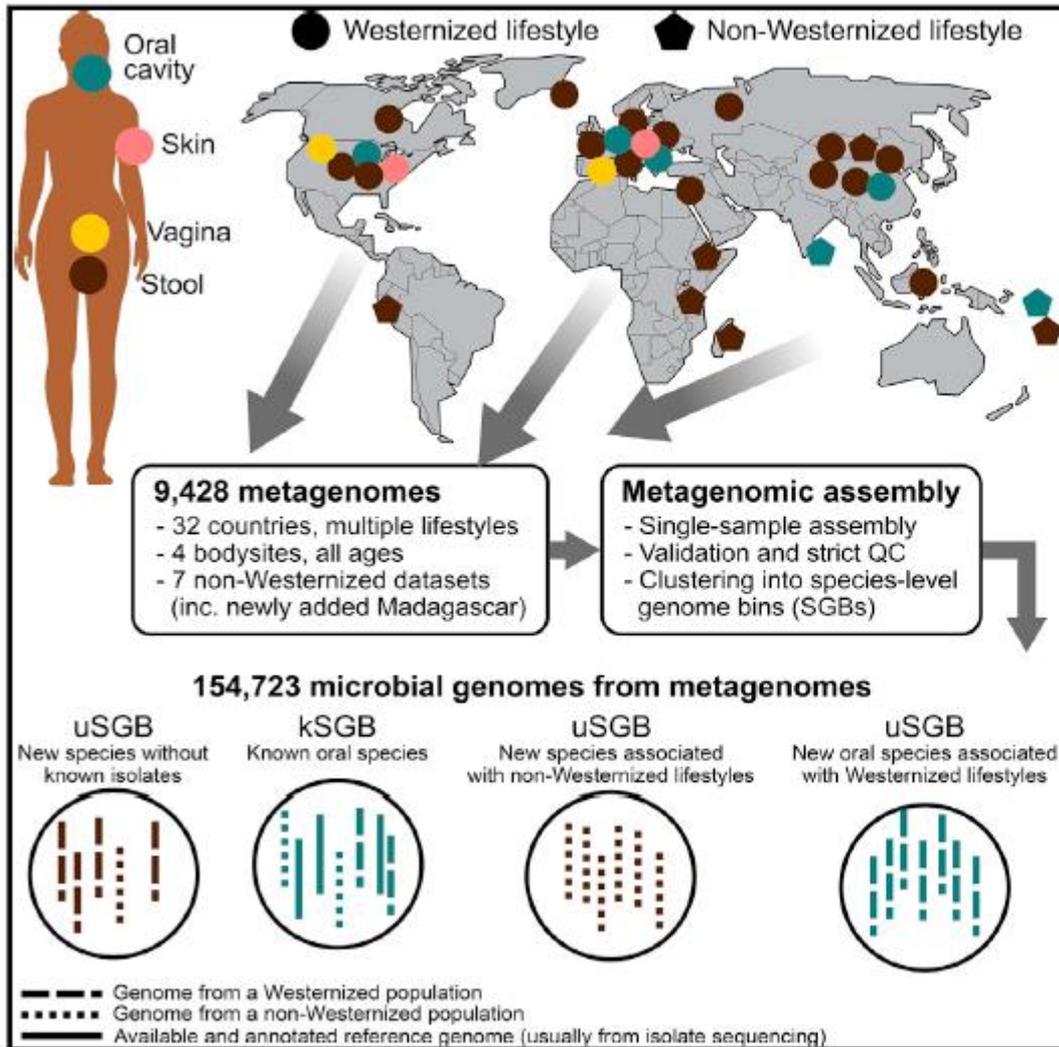
BIOINFORMATIQUE

Métagénome

- Caractérisation taxonomique**
- Résolution:
niveau espèces / variants
- Accès à tous les gènes**
(Resistome)

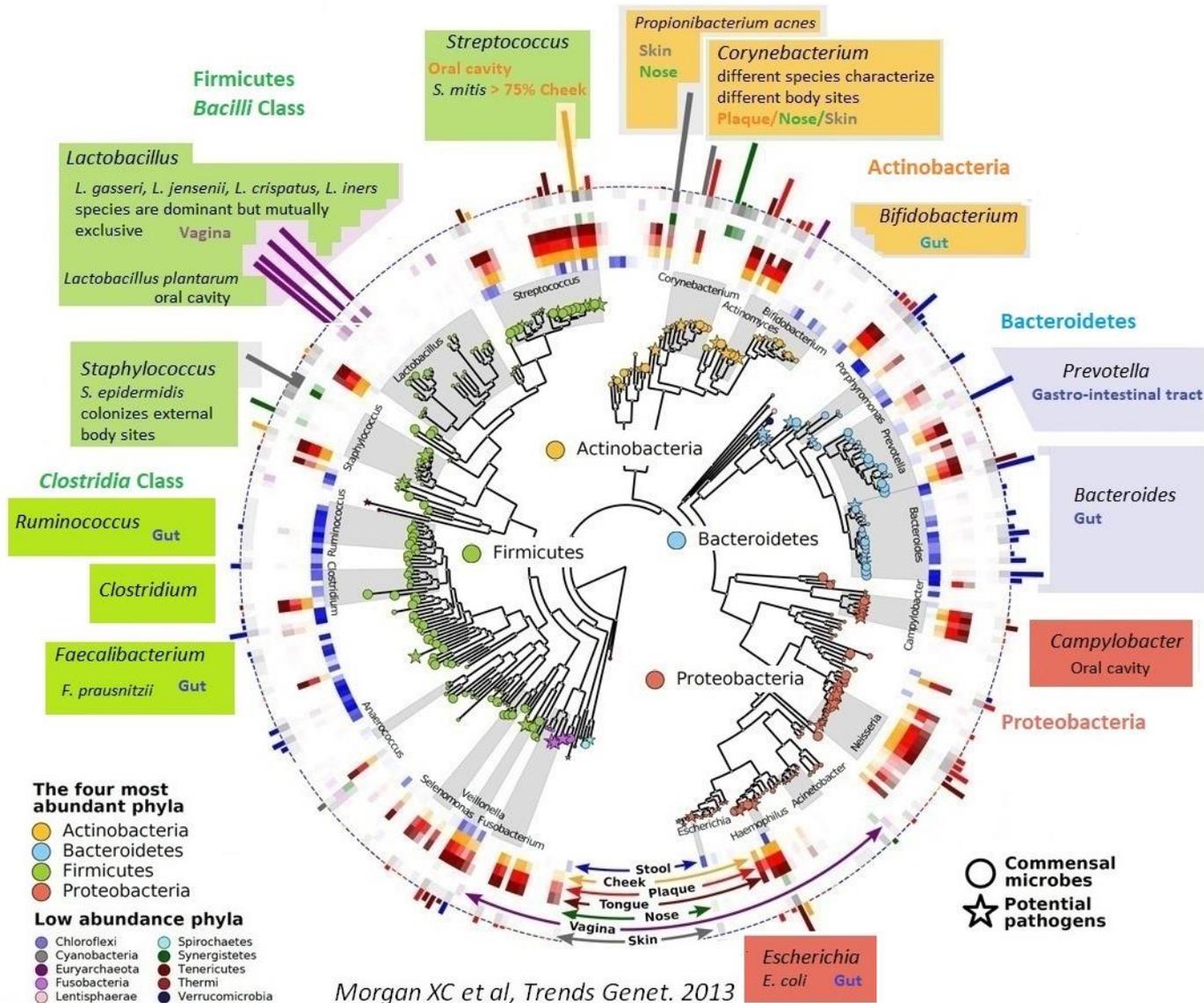
Richesse du Microbiote de l'organisme humain

Pasoli E et al., Cell. 2019



Sur les 4930 species-level genome bins (SGBs): 77% n'ont pas de Genomes dans les bases de données (uSGB) et sont enrichis dans les populations non occidentales (40 % du total des SGBs)

Les microbiotes de l'organisme humain: 4 phyla bactériens sont dominants



Morgan XC et al, Trends Genet. 2013

Firmicutes

Majoritairement
Gram + à GC% faible

Actinobacteria

Gram + à GC% élevé

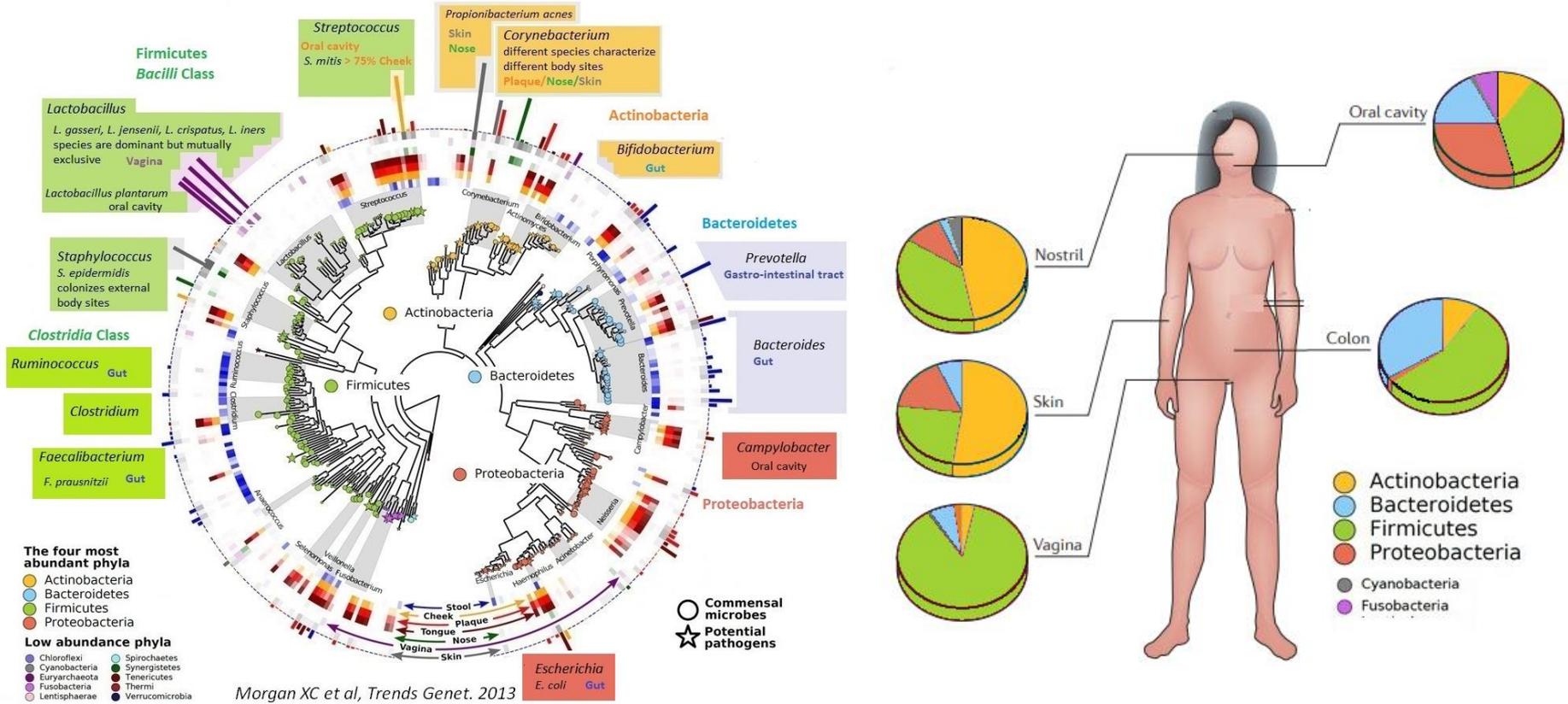
Bacteroidetes

Gram (-)

Proteobacteria

Gram (-)

Abondance relative des 4 phyla bactériens dominants différente en fonction de l'écosystème

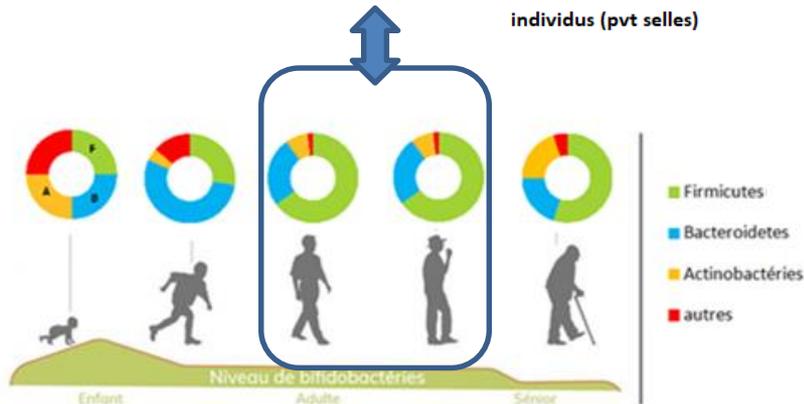
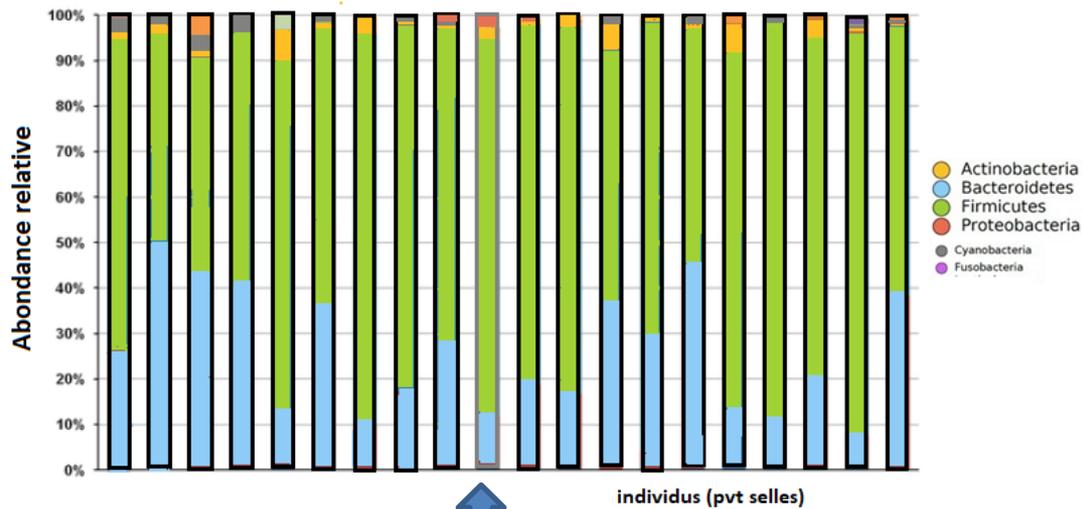


Microbiote intestinale

Adultes: Deux phyla dominants

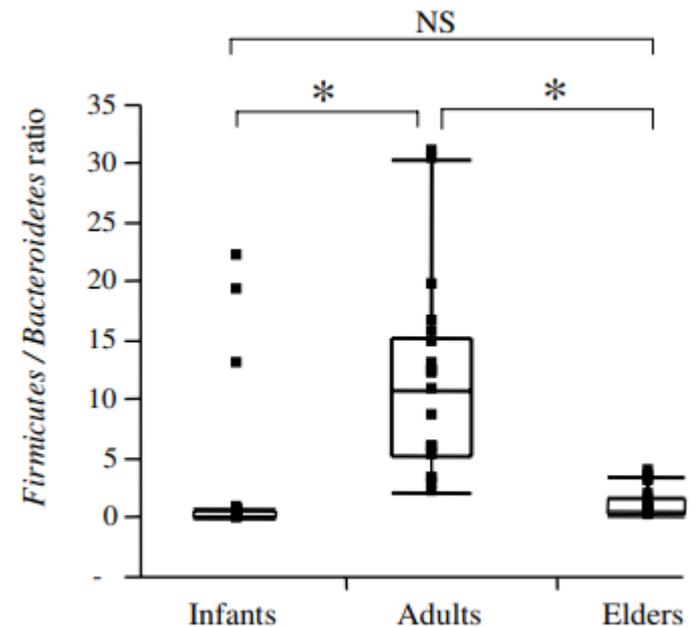
Firmicutes et Bacteroidetes (90-95%)

Abondance relative Firmicutes > Bacteroidetes



PCR quantitative

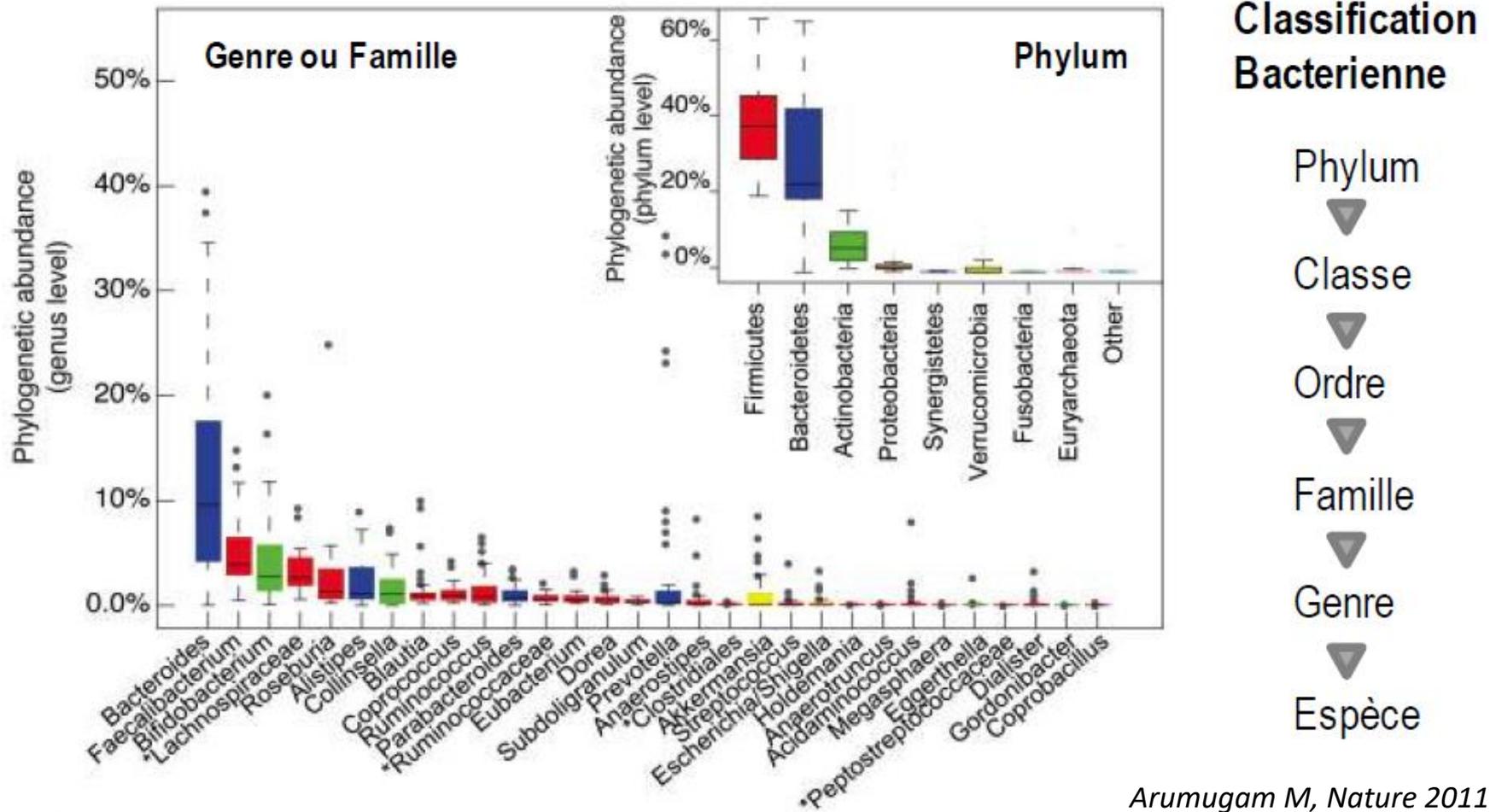
Ratio F/B médian ≈ 10



Mariat D, BMC Microbiology 2009

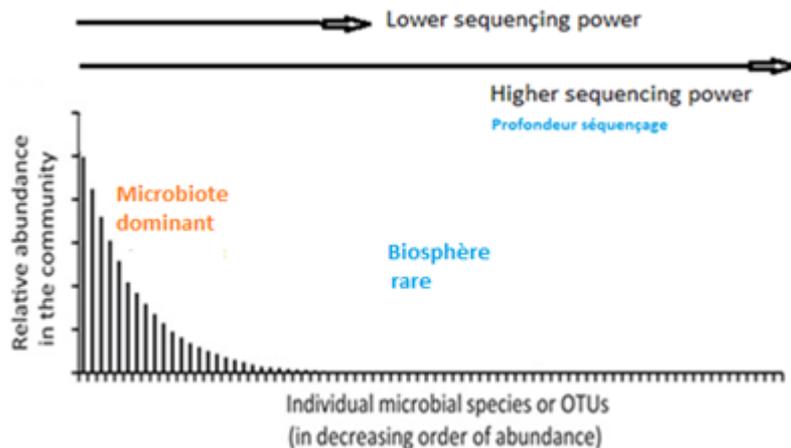
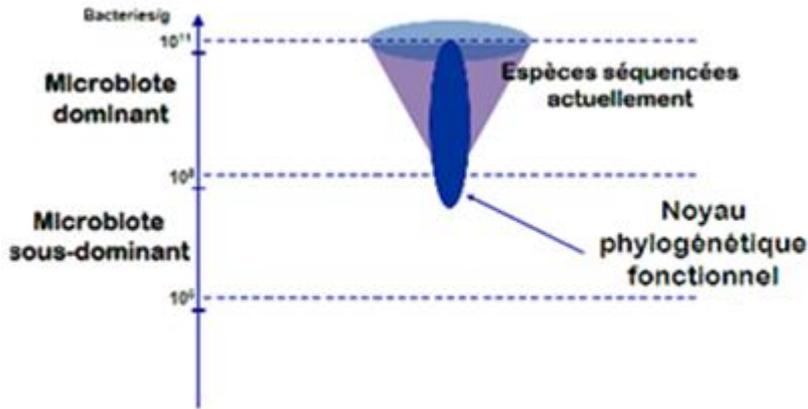
Microbiote intestinale

Forte proportion des genres *Bacteroides* et *Faecalibacterium/Roseburia* et des bactéries du genre *Bifidobacterium*



Microbiote intestinal

La composition en espèces est spécifique de l'individu



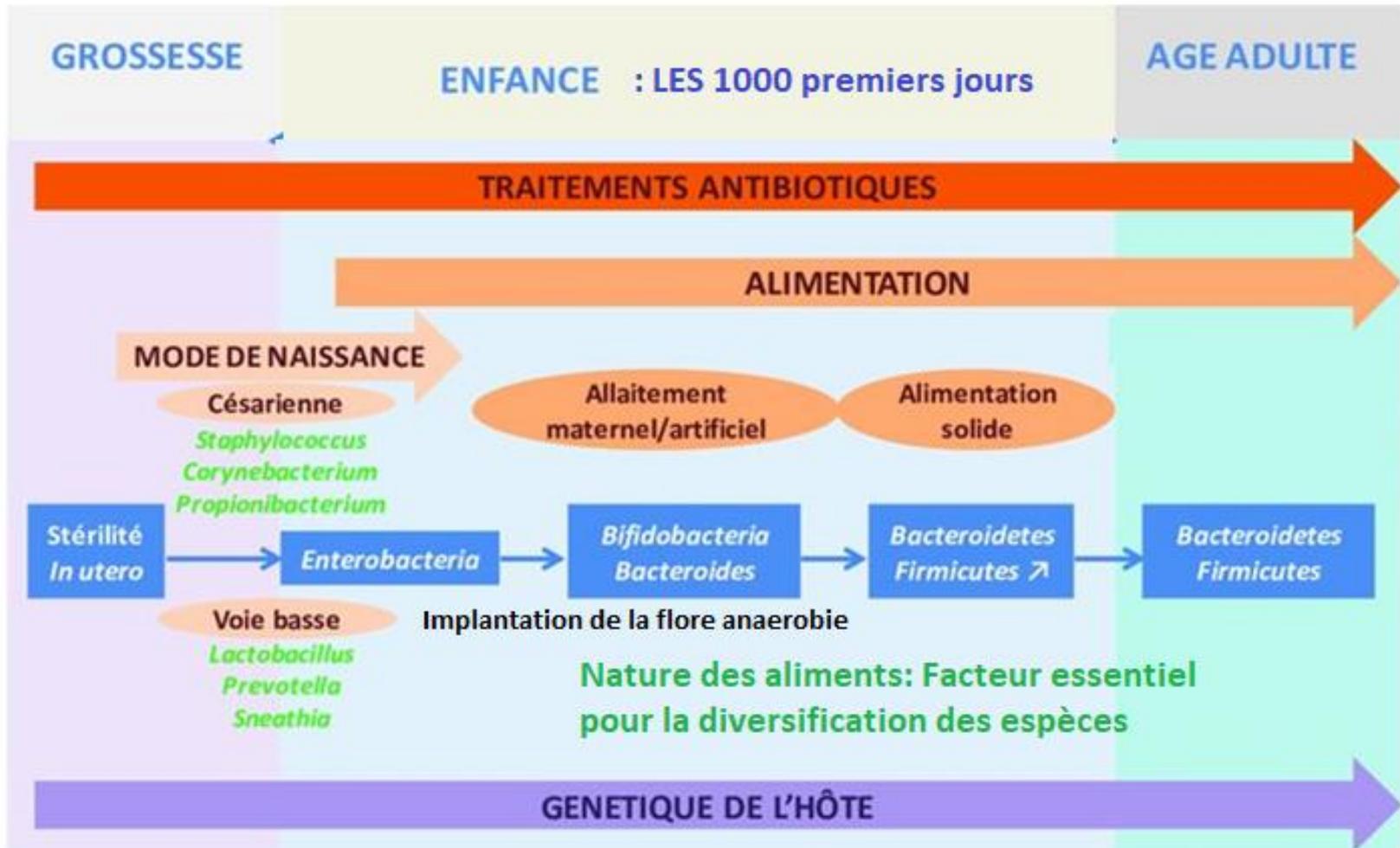
- 300-500 espèces /individu Parmi un total de 1500-2000 espèces répertoriées dans les fèces
- Les espèces les plus abondantes sont recrutées parmi les phyla Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteries et Actinobacteries . avec un noyau fonctionnel commun entre les individus (core microbiote)
- Les espèces les moins abondantes (rares) sont relativement nombreuses et recrutées parmi Bactéries mais également **Champignons**: *Saccharomyces cerevisiae*, *Malassezia restricta* et *Candida albicans* (Nash et al. *Microbiome* 2017) et **Protists**: *Blastocystis*
- Nombre d'espèce :Richesse spécifique
- Nombre d'espèces et leurs abondance relative
- ➔ estimation de la diversité (index)

Structuration

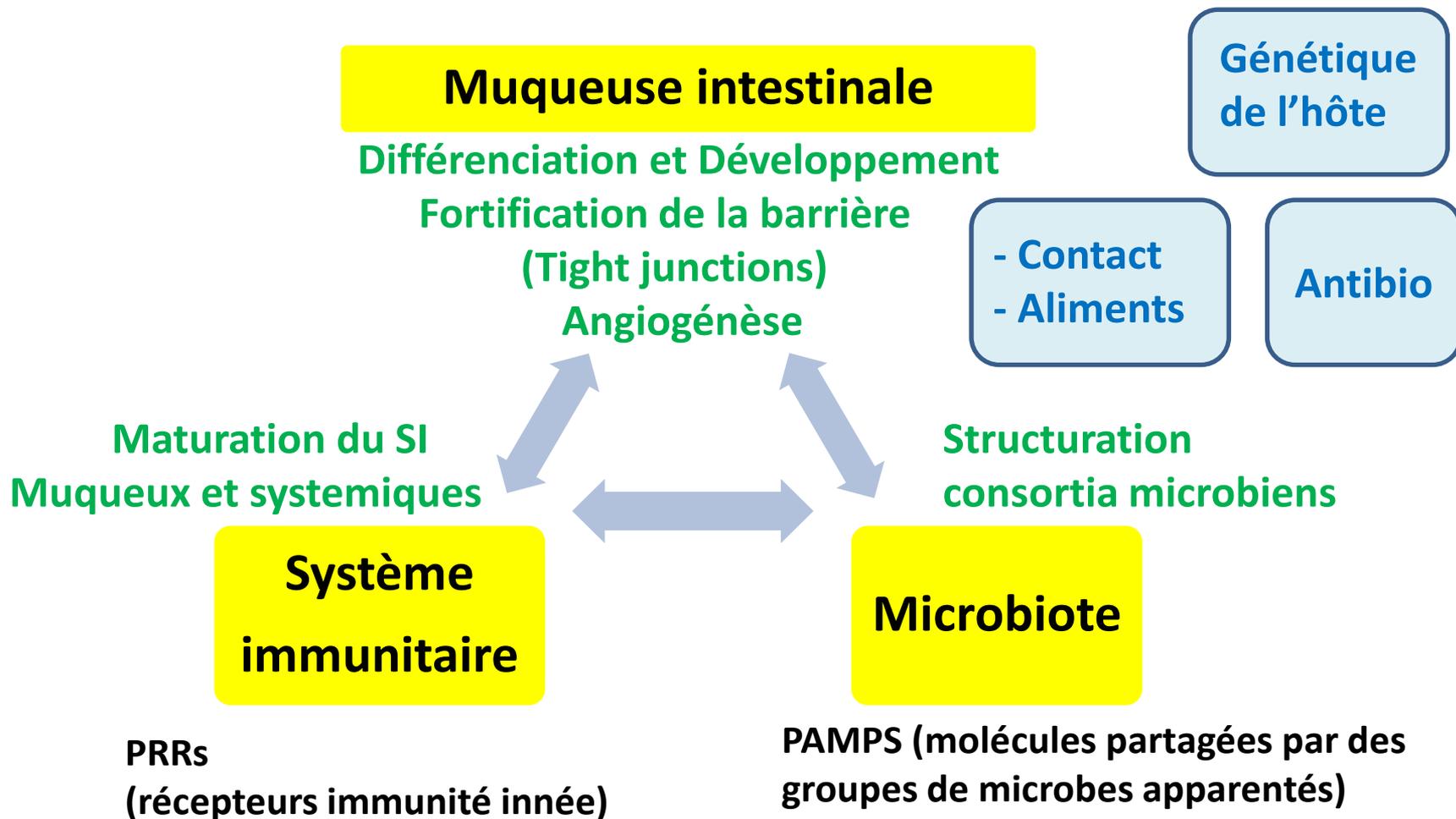
Microbiote intestinal

Structuration du microbiote intestinal

Importance des 1000 premiers jours de vie

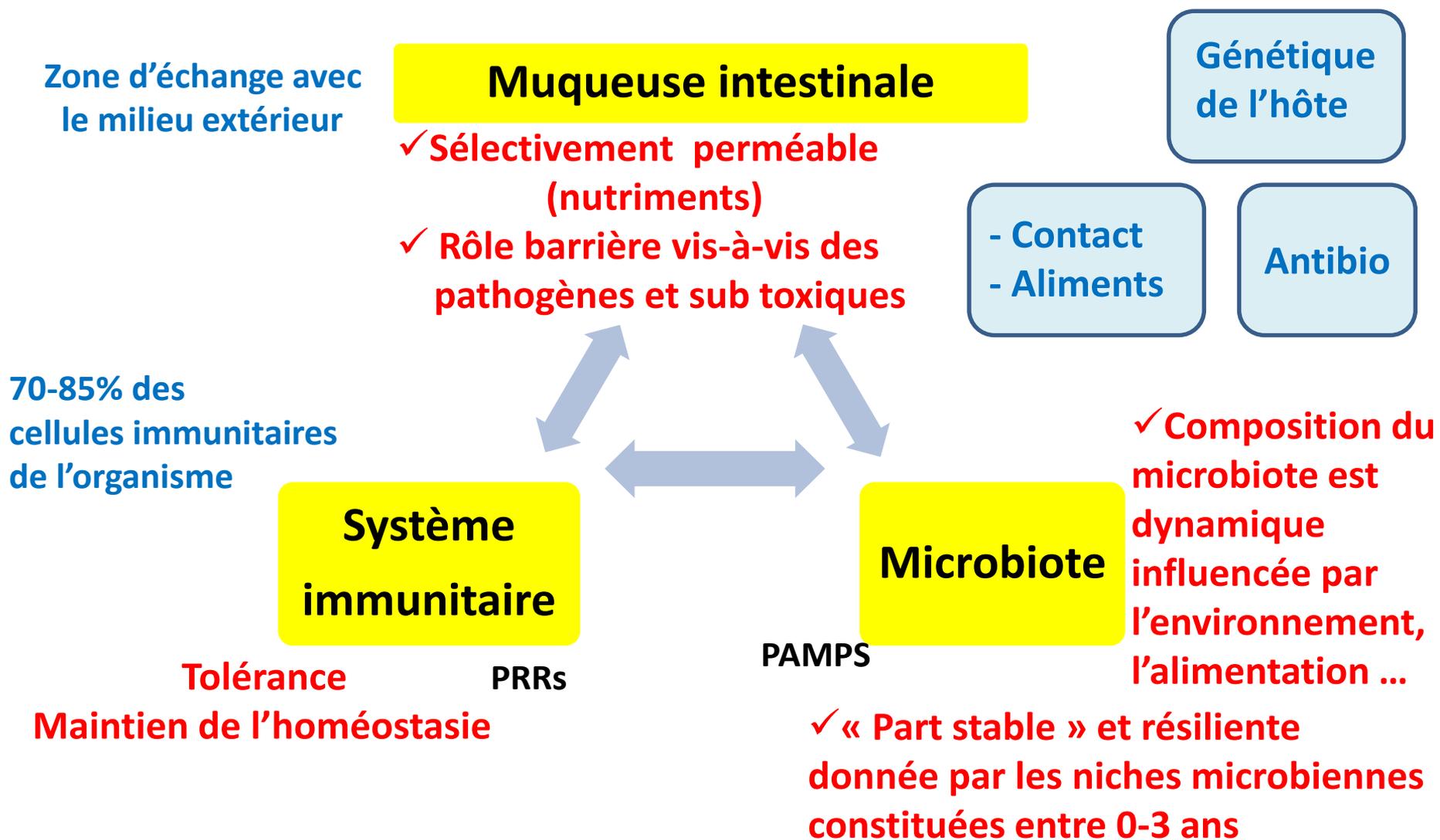


L'implantation du microbiote s'accompagne du développement de la muqueuse intestinale et la maturation du système immunitaire



Jeune enfance: Niches microbiennes constituées

L'équilibre de l'écosystème intestinal repose sur un véritable trio en interaction constante



quels bénéfices santé pour l'hôte?

Microbiote intestinal

Protection contre les agents pathogènes (ingérés ou présents en quantité très faible)

➤ Compétition

- Compétition d'espace: Saturation des récepteurs (mucines, cellules)
- Compétition métabolique: Consortia bien établis et bien organisés privant les intrus de nutriments essentiels à leur survie/croissance

➤ Systèmes antibactériens

- Acides gras à chaînes courtes (AGCC)
- Bactériocines
- Bactériophages
- Appareils de sécrétion de type 6

➤ Stimulation contrôlée des mécanismes de défense épithéliaux
(Peptides anti-microbiens, lectines, radicaux oxydatifs) = « inflammation physiologique »

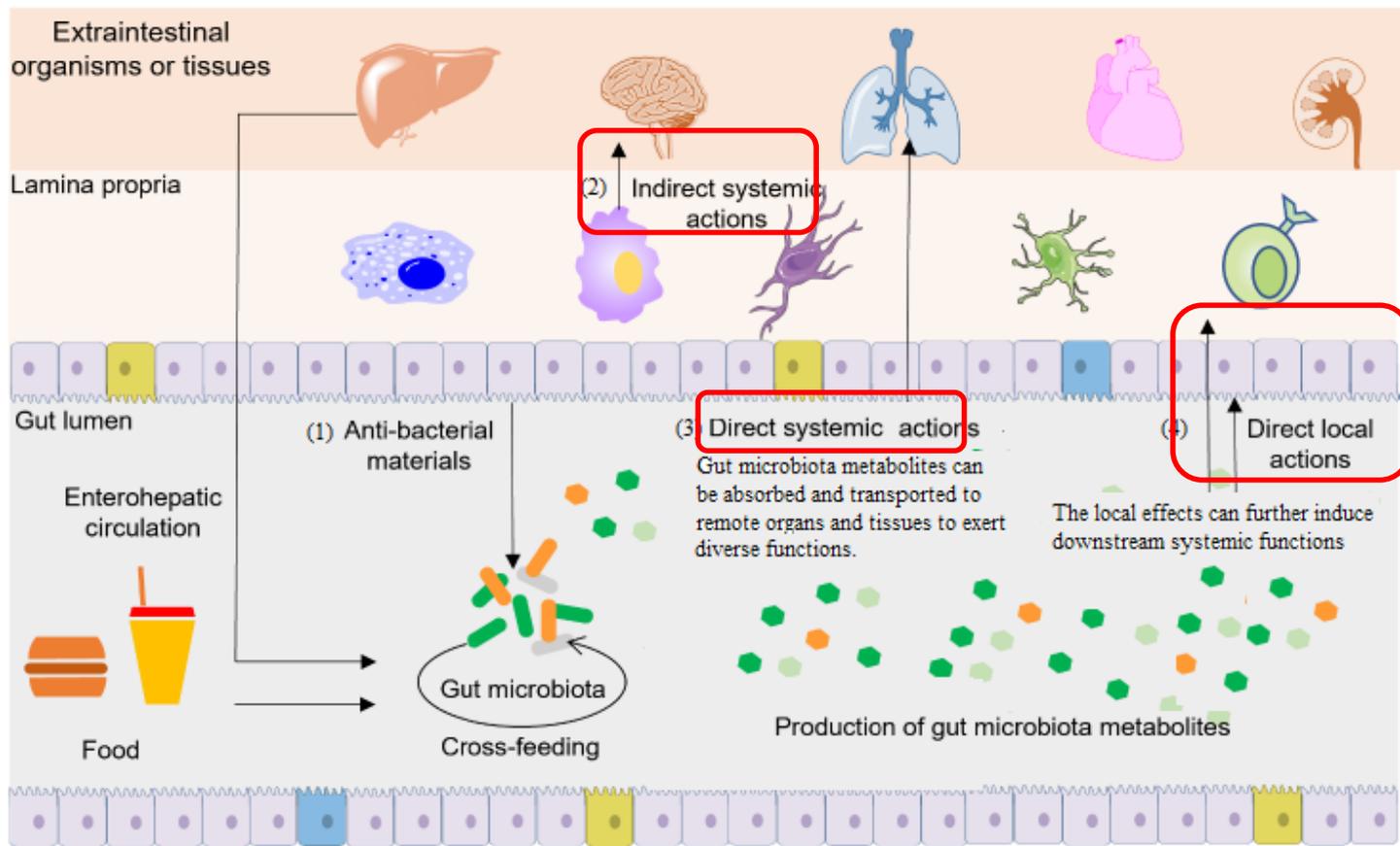
Rôle des Métabolites microbiens sur la santé

- Métabolites
- ✓ produits par le microbiote à partir de l'alimentation
 - ✓ générés par l'hôte et transformés par le microbiote
 - ✓ produits *de novo*

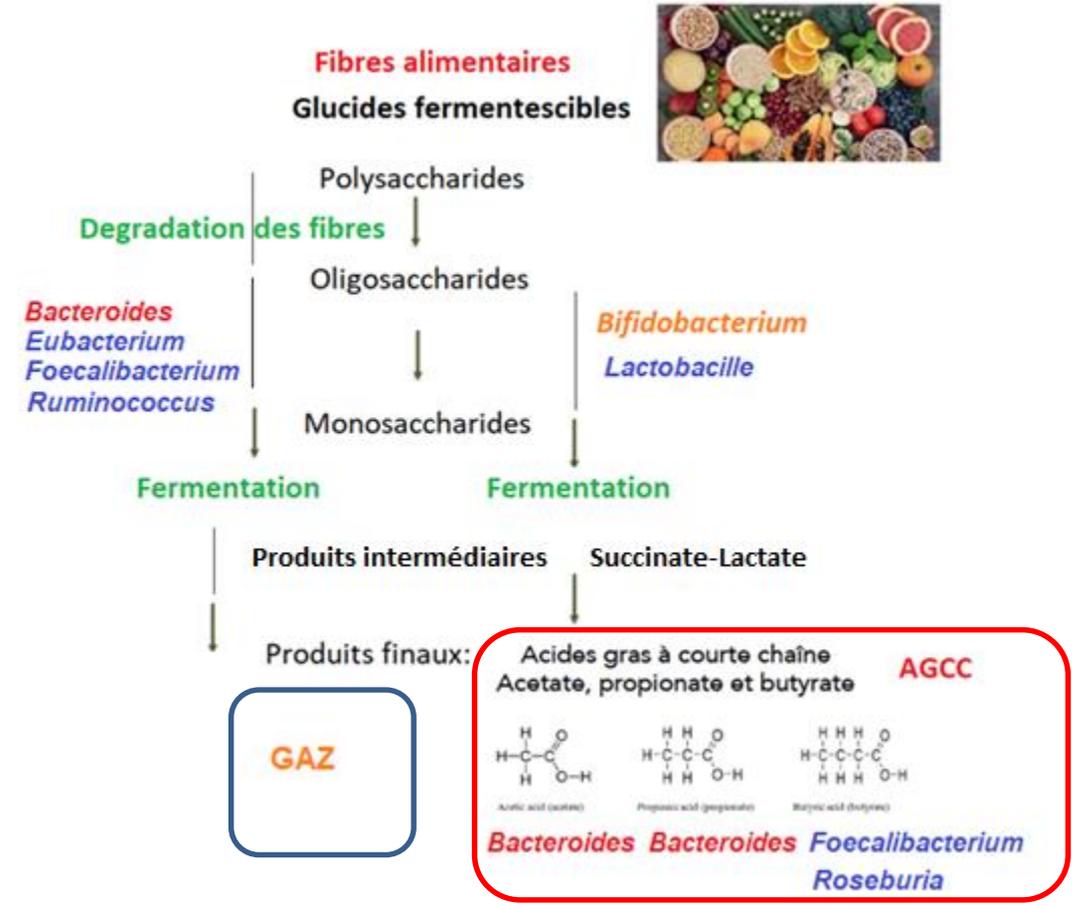
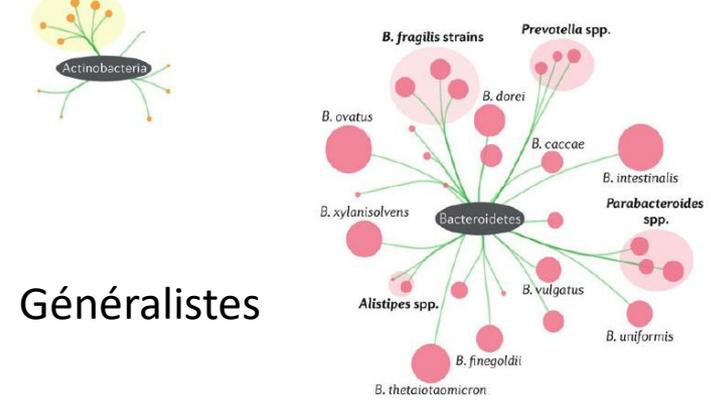
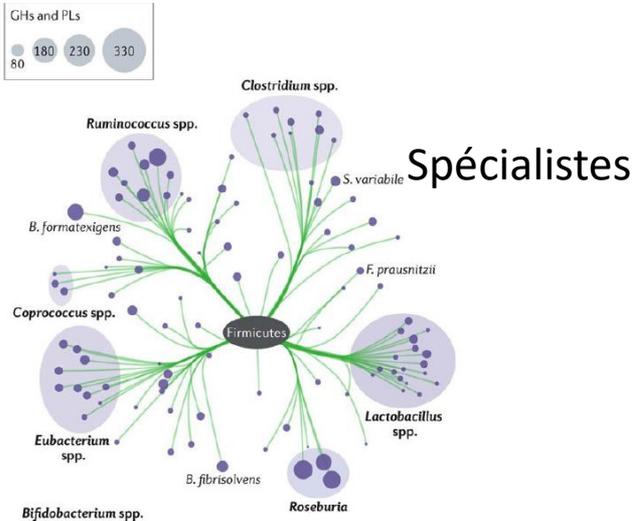
Groups	Typical metabolites	Groups	Typical metabolites
Short-chain fatty acids	Acetate, propionate, butyrate, hexanoate, isovalerate, isobutyrate, 2-methylpropionate, valerate	Choline metabolites	TMA, methylamine, dimethylglycine, dimethylamine,
Bile acids	Cholate, hyocholate, deoxycholate, taurohyocholate, ursodeoxycholate, taurocholate, tauro- α -muricholate, glycocholate, hyodeoxycholate, tauro- β -muricholate,	Vitamins	Vitamin B2, Vitamin B3, Vitamin B5, Vitamin B6, Vitamin B9, Vitamin B12, vitamin K
Gases	H ₂ S, H ₂ , CO ₂ , CH ₄ , NO	Neurotransmitters	Dopamine, catecholamines, 5-HT, and GABA
Tryptophan and indole derivatives	Indole-3-lactic acid, indole acetic acid, indole-3-acetamide, indole pyruvic acid, indoxyl sulfuric acid, indole, serotonin	Lipids	Conjugated fatty acids, cholesterol, phosphatidylcholines, triglycerides, LPS

Liu J et al, Aging Dis. 2022

Les métabolites issus du microbiote intestinal ont une action locale et systémique à distance



Les acides gras à chaîne courte (AGCC ou « SCFA »)



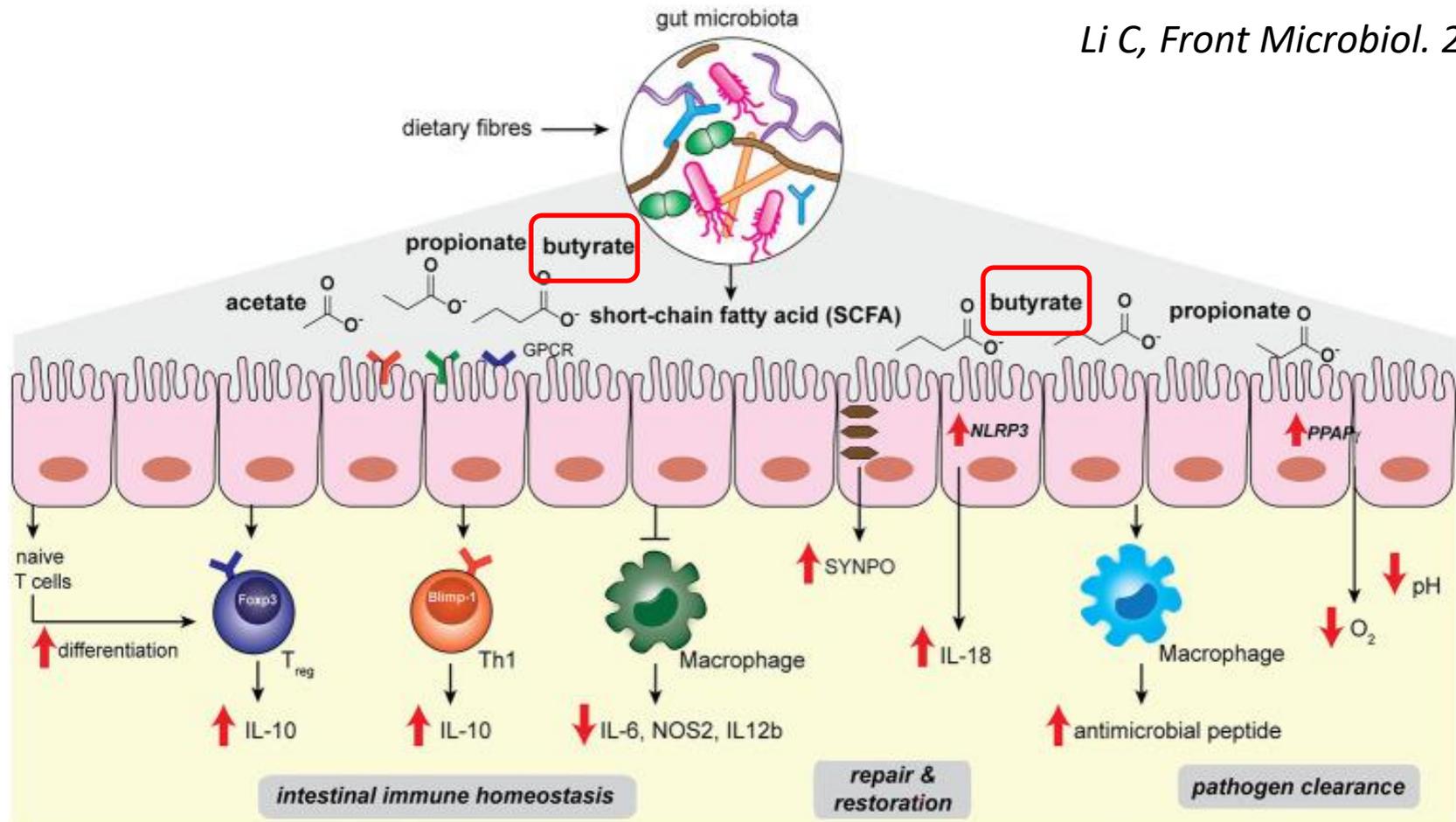
Nombre de gènes de glycoside hydrolases (GHs) et de polysaccharide lyases (PLs)
(El Kaoutari et al., 2013).

AGCC: de multiples effets positifs sur l'intestin

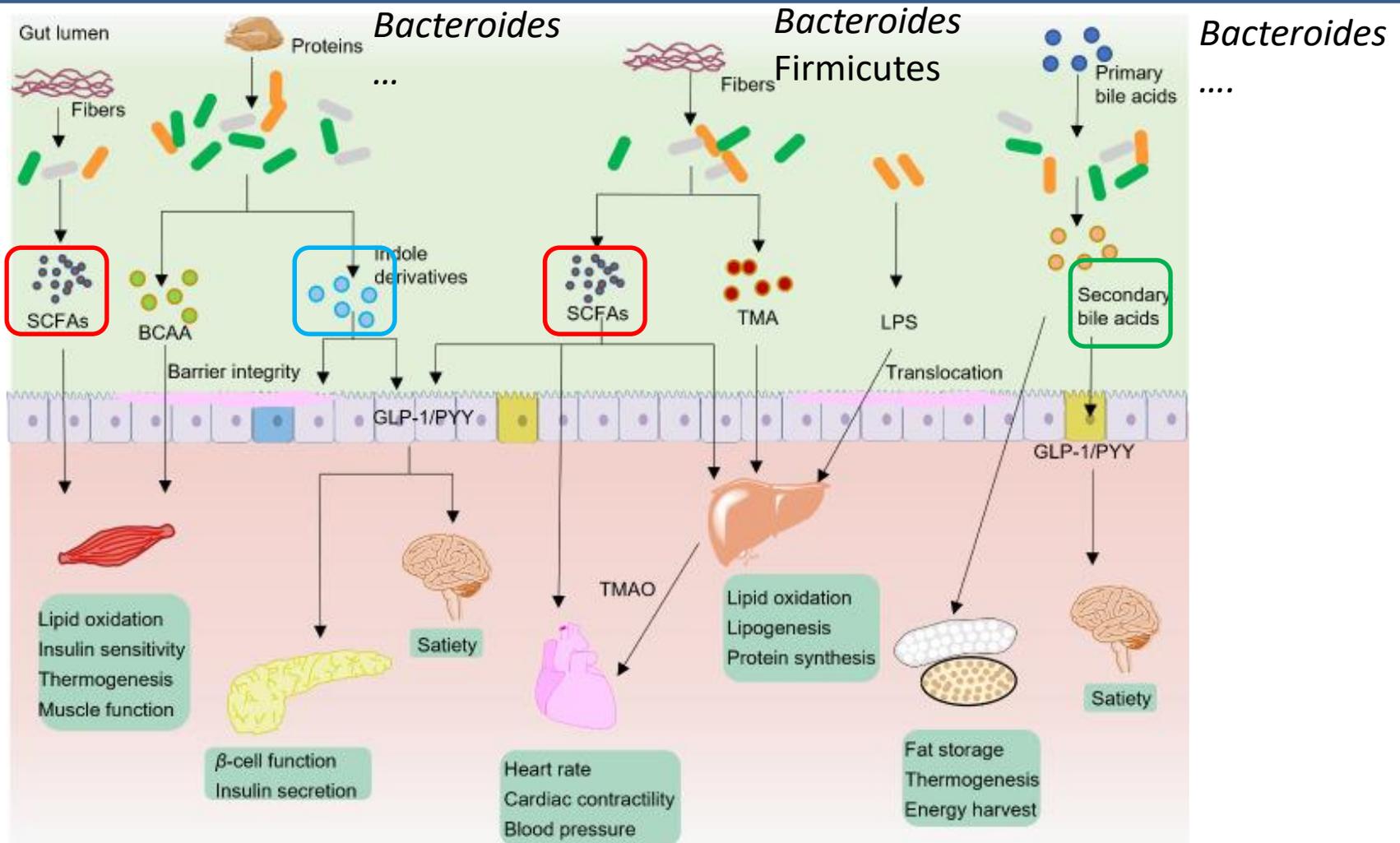
Mention spéciale pour les butyrates

- (i) principaux nutriments des colonocytes
- (ii) aux propriétés d'immuno-modulation locale

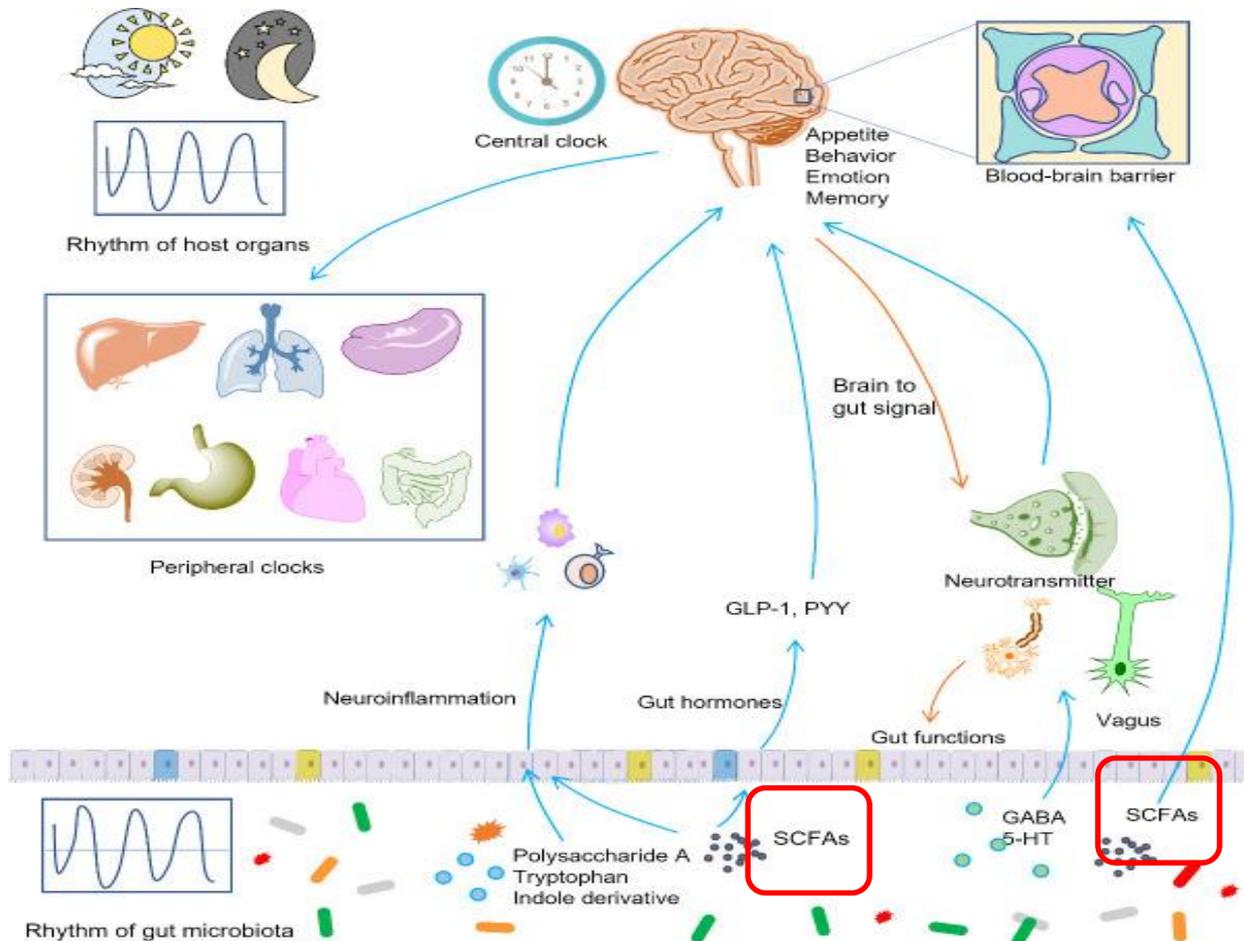
Li C, *Front Microbiol.* 2022



Divers métabolites sont impliqués dans le métabolisme de l'Hôte et le maintien de l'homéostasie de l'énergie

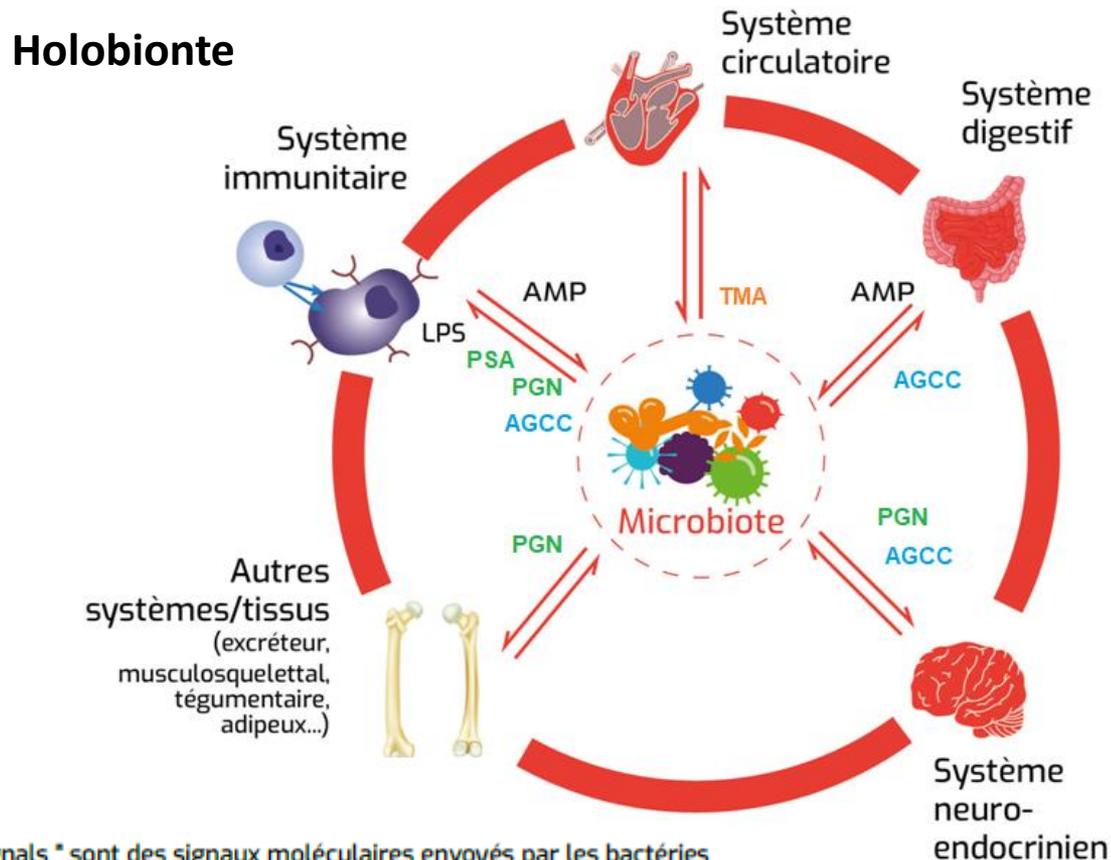


Divers métabolites agissent sur le système nerveux et le rythme circadien



Hôte et Microbiote

dépendent l'un de l'autre pour maintenir un état stable d'homéostasie que l'on peut qualifier de "santé".



- Les " quorum signals " sont des signaux moléculaires envoyés par les bactéries à leurs congénères.
- Les acronymes AMP, LPS, PGN, SCFA, TMA désignent des métabolites, c'est-à-dire des produits intermédiaires qui se forment dans l'organisme au cours d'un processus métabolique.

Microbiote et Pathologies

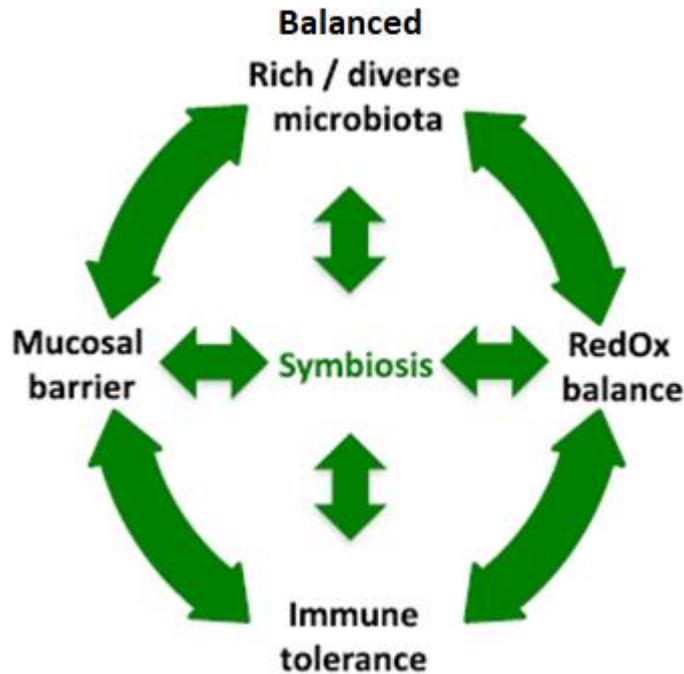
SYMBIOSE

Microbiote intestinal riche et diversifié: EUBIOSE

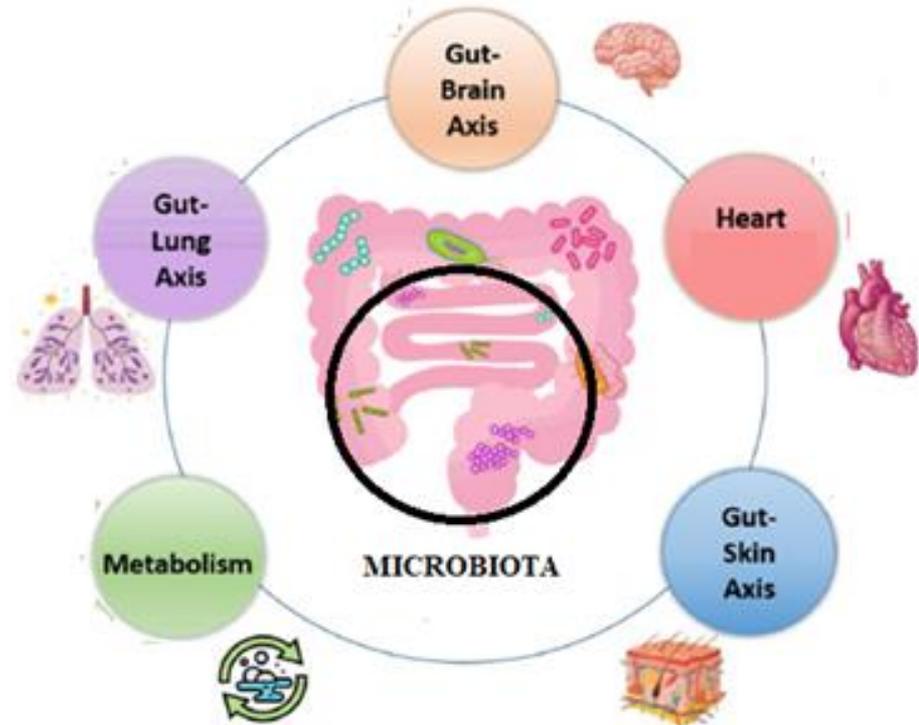
Hôte en état stable d'homéostasie

« Etat de Santé »

Les effets du microbiote intestinal s'exercent localement mais aussi à distance via des axes corporels



Van de Guchte et al. *Microbiome* (2018)



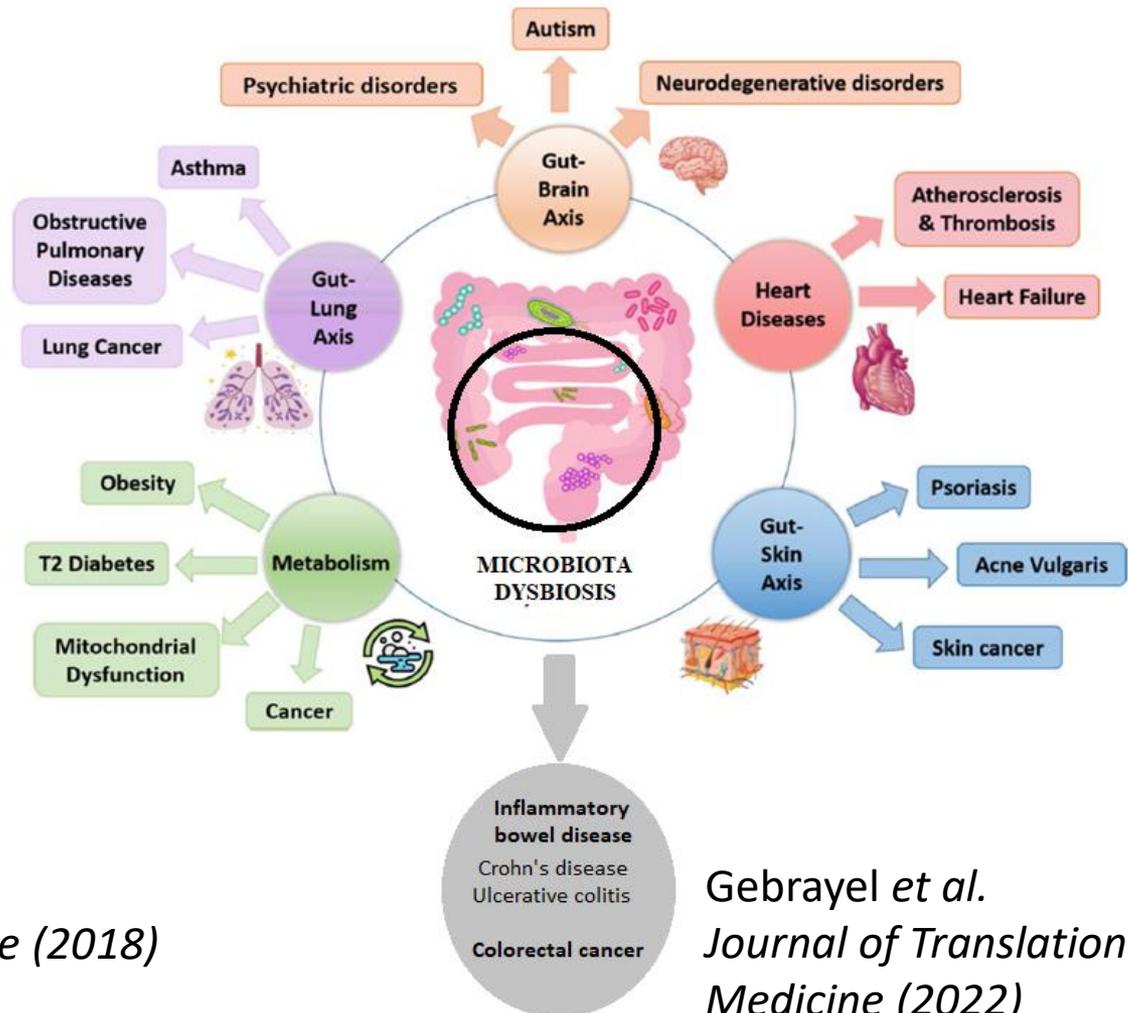
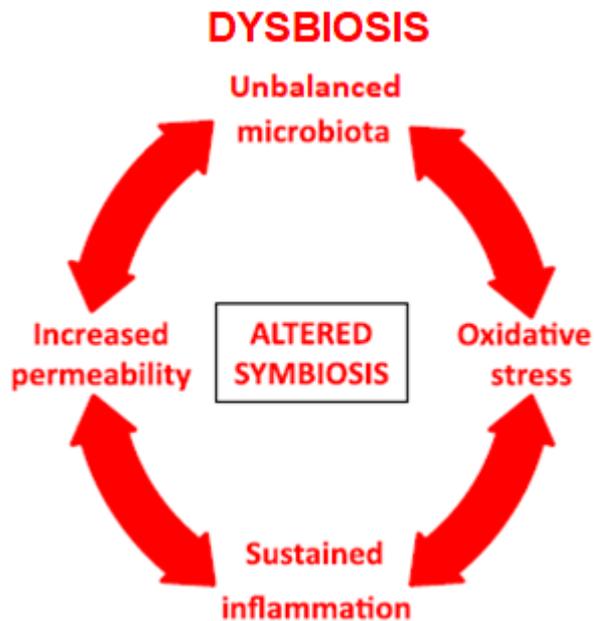
Gebrayel et al.
Journal of Translational Medicine (2022)

SYMBIOSE altérée

Composition du microbiote perturbée: **DYSBIOSE**

L'Hôte n'est pas en état stable d'homéostasie

Etat pathologique

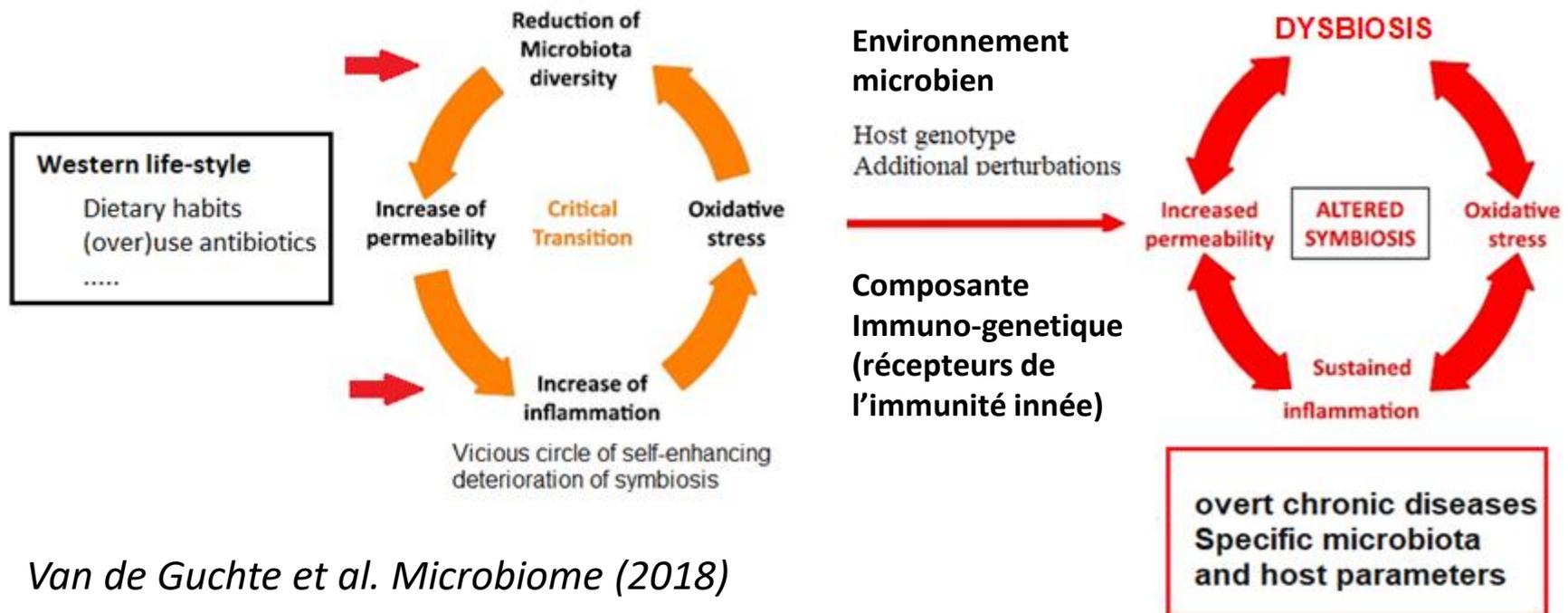


Van de Guchte et al. *Microbiome* (2018)

Gebrayel et al.
*Journal of Translational
Medicine* (2022)

Un mode de vie « occidental » aseptisé basé sur une alimentation carnée, riche en graisse et en produits transformés, l'utilisation précoce des antibiotiques favoriserait un appauvrissement de la flore bactérienne

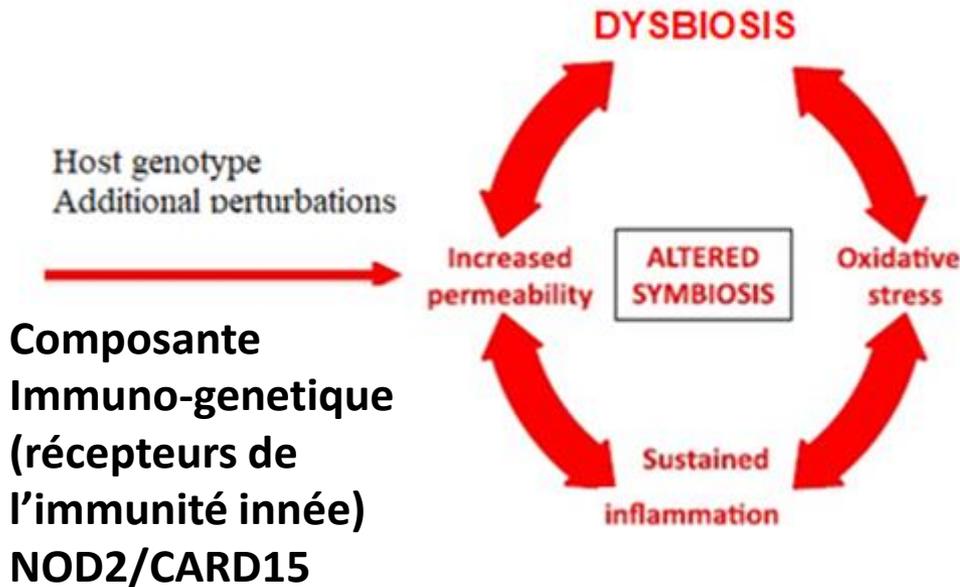
La biodiversité et la richesse spécifique sont des caractéristiques importantes dans le maintien de la stabilité d'un écosystème car elles aident à sa résistance et sa résilience en cas de perturbation



Van de Guchte et al. Microbiome (2018)

Pathologies associées à un déséquilibre du microbiote (Dysbiose)

Exemple de la maladie de Crohn



Marteau P, 2018

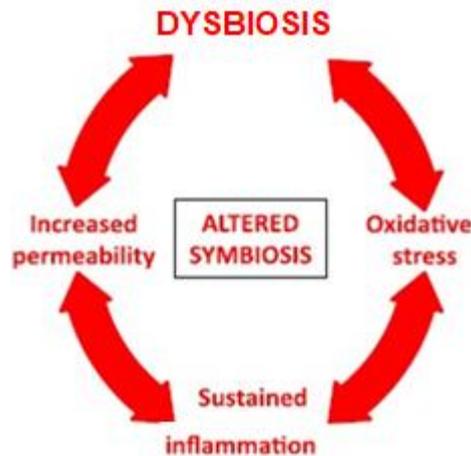
DYSBIOSE:

- ❑ Instabilité de la composition du microbiote dominant
- ❑ Diminution de la richesse
- ❑ Restriction de la biodiversité des firmicutes
- ❑ Diminution des micro-org bénéfiques product butyrates
 - Faecalibacterium prausnitzii* (action anti-inflammatoire)
 - Roseburia* et *Akkermansia*
- ❑ Augmentation pathobiontes
 - Enterobacteries dont *E.coli* adhérent invasif

Pathologies associées à un déséquilibre du microbiote (Dysbiose)

Exemple de la maladie de Crohn

VISION HOLISTIQUE

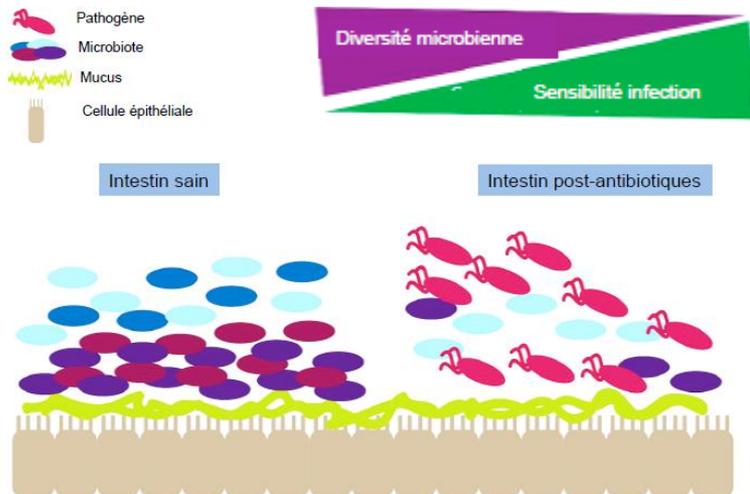
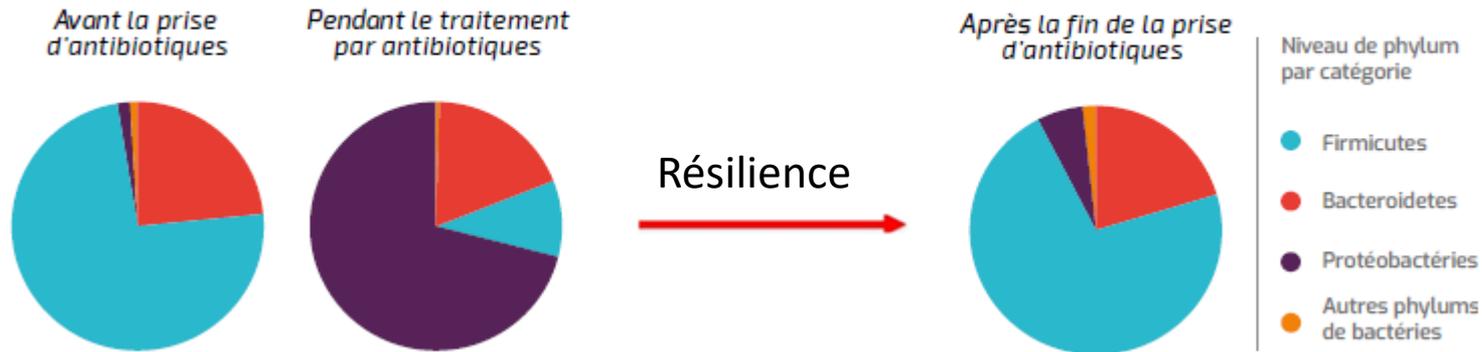


❑ Objectif de PRISE en Charge : rompre cet état de maladie auto-entretenu → Approche combinée visant le microbiote et l'inflammation

L'écosystème intestinal du patient : état alternatif stable où microbiote et hôte se soutiennent mutuellement dans une situation de symbiose altérée

ACTION des ANTIBIOTIQUES

• Modification du microbiote en réponse à la prise d'antibiotiques oraux chez l'homme



Diarrhée associée aux antibiotiques

- Prolifération de micro-organismes pathogènes favorisée par la perte de l'effet barrière
- altération des fonctions métaboliques du microbiote

Possibilité de développement/expression virulence

✓ *Candida albicans* (adhésion et filamentation des levures)

✓ *Clostridium difficile* (adhésion et germination des spores)

CONCLUSION

- Le microbiote apparaît être un écosystème d'une complexité bien supérieure à celle imaginée. Beaucoup d'informations mais pas de certitude cause à effet (pathologies) => Beaucoup reste à faire
- Grand progrès dans la prévention
- Nécessité d'identifier (i) biomarqueurs de dysbiose ou (ii) d'espèces bactériennes utilisables à des fins thérapeutiques.

Le microbiote accessible dans les échantillons fécaux peut en être la source

➔ La bactérie *Faecalibacterium prausnitzii* capable d'exercer des effets anti-inflammatoires est un exemple de ces nouveaux probiotiques

- Transplantation fécale a donné d'excellent résultats pour la prise en charge des infections à *Clostridium difficile* (le patient ayant éliminé sa propre flore), implanter durablement de nouvelles souches chez un individu avec un microbiote constitué n'est pas une opération simple

Projet de Recherche fédérée « Microbiote et Santé »

Un Consortium de recherche (5 LRs)

Un CIC localisé à l'HHT – Une Plateforme technologique (IPT)

