

De la flore au microbiote, de nouvelles perspectives en médecine

Jacques Croizé

Ancien MCU-PH Bactériologie

UFR Médecine-CHU Grenoble Alpes

Veillée conférence Culture et Montagne

Salle Giono Clelles 26 avril 2023

Livre indispensable



De flore au microbiote ...

Pourquoi ce changement?

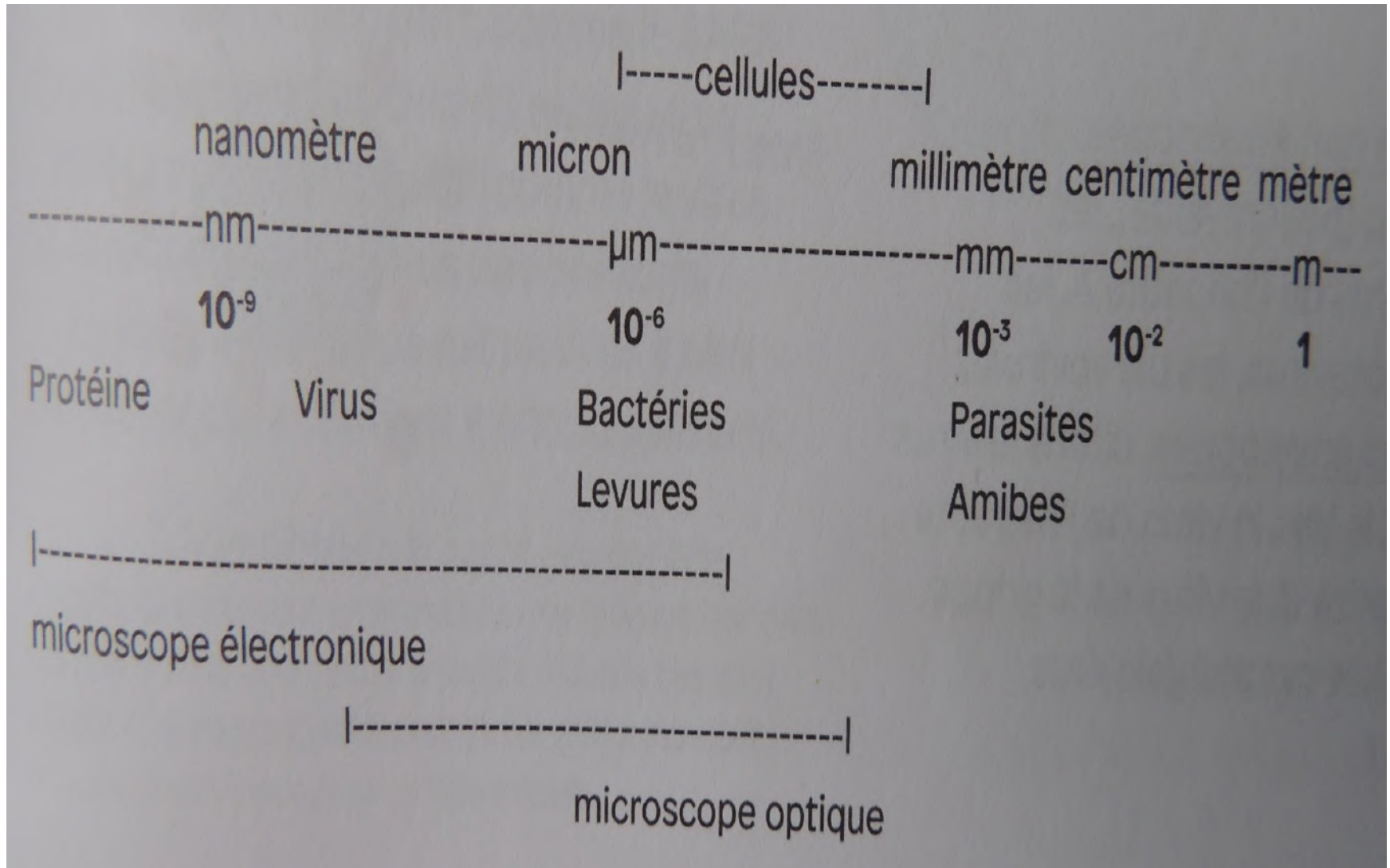
Flore bactérienne: Sa composition était fondée sur les cultures aérobies et anaérobies (10 à 20% de la flore seulement analysées, soit 10 milliards), mais en utilisant la métagénomique 100 000 milliards !!! Et 1000 espèces différentes

- La question fondamentale...Quels rôles jouent ces bactéries ? Arrivera-t-on à les isoler?

Définition

- **Les « Microbes »** : *Charles Sédillot* en 1878 a donné ce nom à tous les êtres vivants vus au microscope du plus petit au plus grand : les virus, bactéries, champignons, vers ... terme accepté par Académie de Médecine et approuvé par Littré.
- Selon leur structure cellulaire (*Stanier et Van Niel*) le monde vivant est divisé en procaryotes (cellules sans noyau) et eucaryotes (cellules avec noyau)
- **Les bactéries sont dans le groupe des procaryotes**
- Puis secondairement en fonction de l'étude de ARN16S, les bactéries sont divisées en bacteria et archebacteria

Taille des microorganismes



Définitions

- Microbes : être petit / vivant
- Flore ou Ecosystème : ensemble de bactéries vivant dans un même environnement
- Microbiote : ensemble de micro-organismes (bactéries, amibes, virus)
- Microbiome : ensemble des micro-organismes selon leur génome
- Dysbiose : perturbation du microbiote (changement alimentation, antibiotiques..)

Rappel Historique

- Découvertes des **bactéries pathogènes** années 1860
- Découvertes des **sulfamides puis antibiotiques** 1939
- Découvertes **bactéries commensales, saprophytes,** de l'environnement 1930-1950
- Statut de **flore reconnue dans les années 50**
- A la fois découverte de nouveaux outils, notamment en biologie moléculaire (Génome, PCR, métagénomique,) et nouvelle procédure d'identification des bactéries par spectrométrie de masse (technique rapide)

Grandes étapes de l'évolution des connaissances en bactériologie

- **XIX siècle : Pasteur et Koch et leurs élèves** : découverte du monde microbien (pathogène surtout ; commensal avec Metchnikoff). Traquent les bactéries pathogènes : *M. leprae* 1873, *B. anthracis* 1876, *S. typhi*, 1880 *M. tuberculosis* 1882, *V cholerae* 1883, *C. tetani* 1884, *E coli* 1885, *S. pneumoniae* 1886, *C. Botulinum* 1896 etc...
- **XX siècle : Domagk sulfamides/ Fleming- Florey -Chain pénicilline / Waskman Streptomycine**
- **XXè siècle** : Dernières bactéries pathogènes majeures : ***B. burgdorferi* 1975, *L.pneumophila* 1976 et *H. pylori* 1984** puis Analyse des génomes complets des bactéries et autres découvertes : acides nucléiques ; PCR ; spectrométrie de masse ; Toll récepteur
- **XXI siècle** : Etude approfondie du microbiome : complète la culture (découverte de « nouvelles » espèces incriminées dans des phénomènes non infectieux)

Techniques de colorations

- Appliquées universellement
- Fondamentales pour visualiser le prélèvement au microscope optique
- Deux colorations fondamentales
 - Coloration de Gram (Hans Christian Gram 1853-1938 (inventé en 1894).
 - Coloration de Ziehl – Neelsen (l'un médecin allemand, le second) coloration des mycobactéries BK
- Autres méthodes :
 - Immunofluorescence
 - Examen de la mobilité

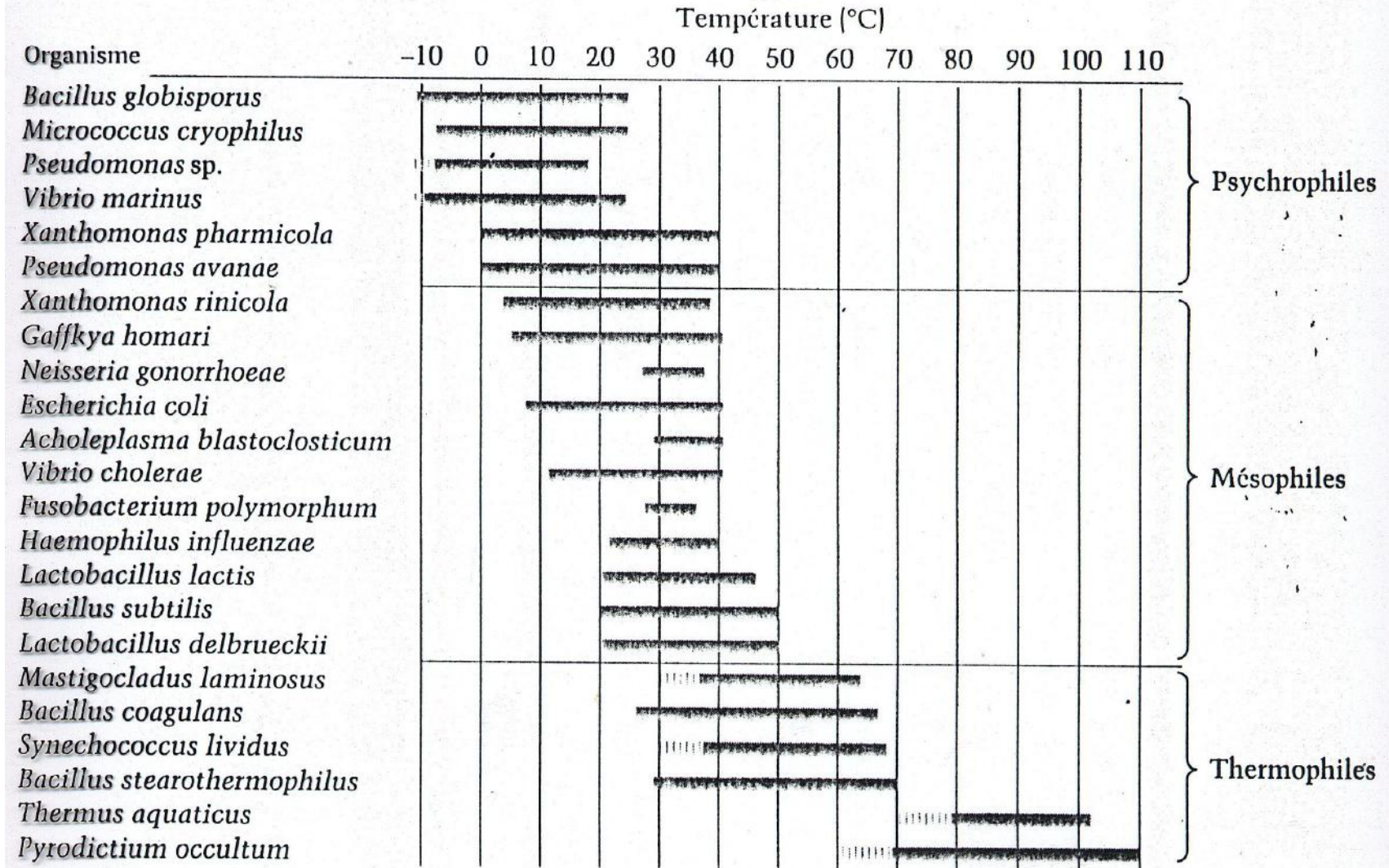
Particularités des prélèvements (3)

- Prélèvements « stériles » provenant de **sphères ou zones elles-mêmes stériles** à l'état physiologique: sang, LCR, urines..(eh oui!!), liquide pleural
- Prélèvements venant de **sphères ou zones colonisées par des bactéries commensales** : selles, sphère rhino-pharyngée, ORL expectoration, prélèvement vaginal

Particularités de la culture bactérienne

- Utilisation de milieux de culture gélosés spécifiques ou non ou milieux liquides (Boite de Pétri)
- Trois paramètres fondamentaux
 - Température (37°C)
 - Rapport avec oxygène : en milieu aérobie, sous CO₂ ou en anaérobiose
 - Temps incubation variable
- Conséquence : une bactérie donne un clone bactérien matérialisé par une colonie

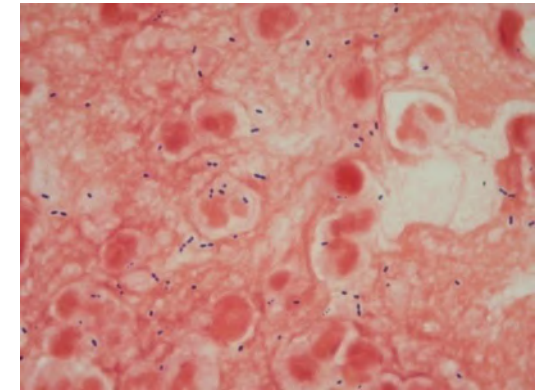
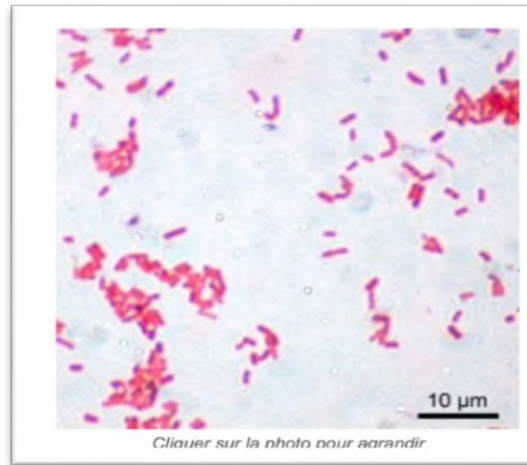
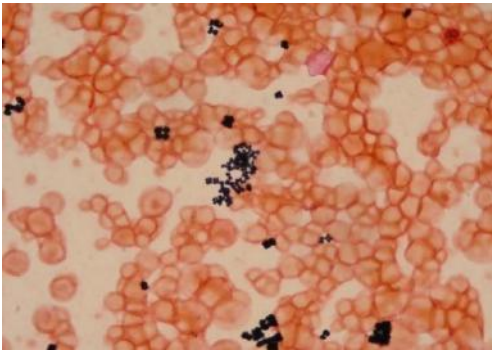
Particularités : Température de croissance variable selon espèces



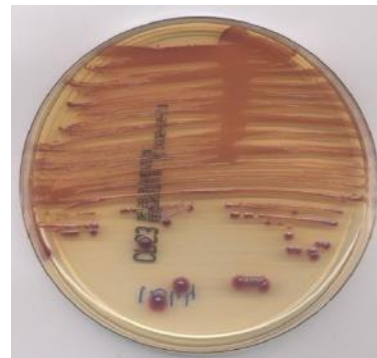
Technique d'identification

- Recherche de caractères phénotypiques à partir des cultures (caractères biochimiques)
→ deux à 10 jours
- Recherche par spectrométrie de masse à partir des cultures, des protéines ribosomales:
→ 10 minutes.
- Diagnostic par PCR (Polymérase Chain reaction)

De l'examen direct (microscope x 500 ou 1000) à la culture (gélose différente selon les bactéries recherchées)



Staphylocoques



E. coli



Pneumocoque

Objectifs du diagnostic

- Diagnostic d'une maladie infectieuse bactérienne :
 - **Identification** bactérienne : différentes approches
 - **Antibiogramme** : quels antibiotiques sont actifs?
diffusion, dilution, CMI, biologie moléculaire

Diagnostic rapide biochimique

SPECTROMÉTRIE DE MASSE MALDI-TOF EN BACTÉRIOLOGIE CLINIQUE OU COMMENT IDENTIFIER UNE BACTÉRIE EN UNE MINUTE

J. DESCY (1), C. MEEX (2), P. MELIN (3), M.P. HAYETTE (4), P. HUYNEN (5), P. DE MOL (6)

RÉSUMÉ : La principale application de la spectrométrie de masse MALDI-TOF en microbiologie clinique est l'identification des microorganismes par analyse de leurs protéines totales (protéines ribosomales et protéines associées aux membranes). Cette technique permet d'identifier la plupart des bactéries en quelques minutes seulement. La méthode est rapide, précise, fiable et coût-efficace par comparaison aux méthodes phénotypiques conventionnelles. D'autres applications de la spectrométrie de masse MALDI-TOF sont en cours de développement, telles que la mise en évidence de toxines bactériennes ou de mécanismes de résistance aux antibiotiques.

MOTS-CLÉS : *Spectrométrie de masse - MALDI-TOF - Identification bactérienne - Echantillons cliniques*

MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY IN CLINICAL BACTERIOLOGY OR HOW TO IDENTIFY A BACTERIA WITHIN ONE MINUTE

SUMMARY : The major application of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology is the bacterial identification based on the analysis of all their proteins (ribosomal and membrane-associated proteins). This technology allows the identification of most of bacteria within a few minutes. The method is fast, accurate, reliable and cost-effective by comparison to conventional phenotypic techniques. Other applications of MALDI-TOF mass spectrometry are still under development, as the detection of bacterial toxins or resistance mechanisms to antimicrobial agents.

KEYWORDS : *Mass spectrometry - MALDI-TOF - Bacterial identification - Clinical samples*

INTRODUCTION

La prise en charge d'un patient avec une

Rapport bactérie/hôte

- **Bactérie commensale** : bactérie vivant en symbiose avec son hôte et lui apportant des propriétés bénéfiques (défense, production de vitamines, stimulation de l'immunité) rarement pathogène sauf en cas d'affaiblissement de l'immunité de l'hôte, de pénétration dans un site stérile, d'acquisition de nouveaux facteurs de virulence.
- **Bactérie saprophyte** : bactérie nécessitant des conditions de croissance différentes de celles trouvées chez l'homme, les rendant peu aptes à se multiplier et possédant peu ou pas de facteurs de virulence
- **Bactérie pathogène** : bactérie entraînant des infections par des facteurs de virulence spécifiques.

Les portes d'entrée de la maladie

- Voie respiratoire
- Voie digestive
- Voie sexuelle
- Voie cutanée
- Vectorielle : puces, tiques, moustiques

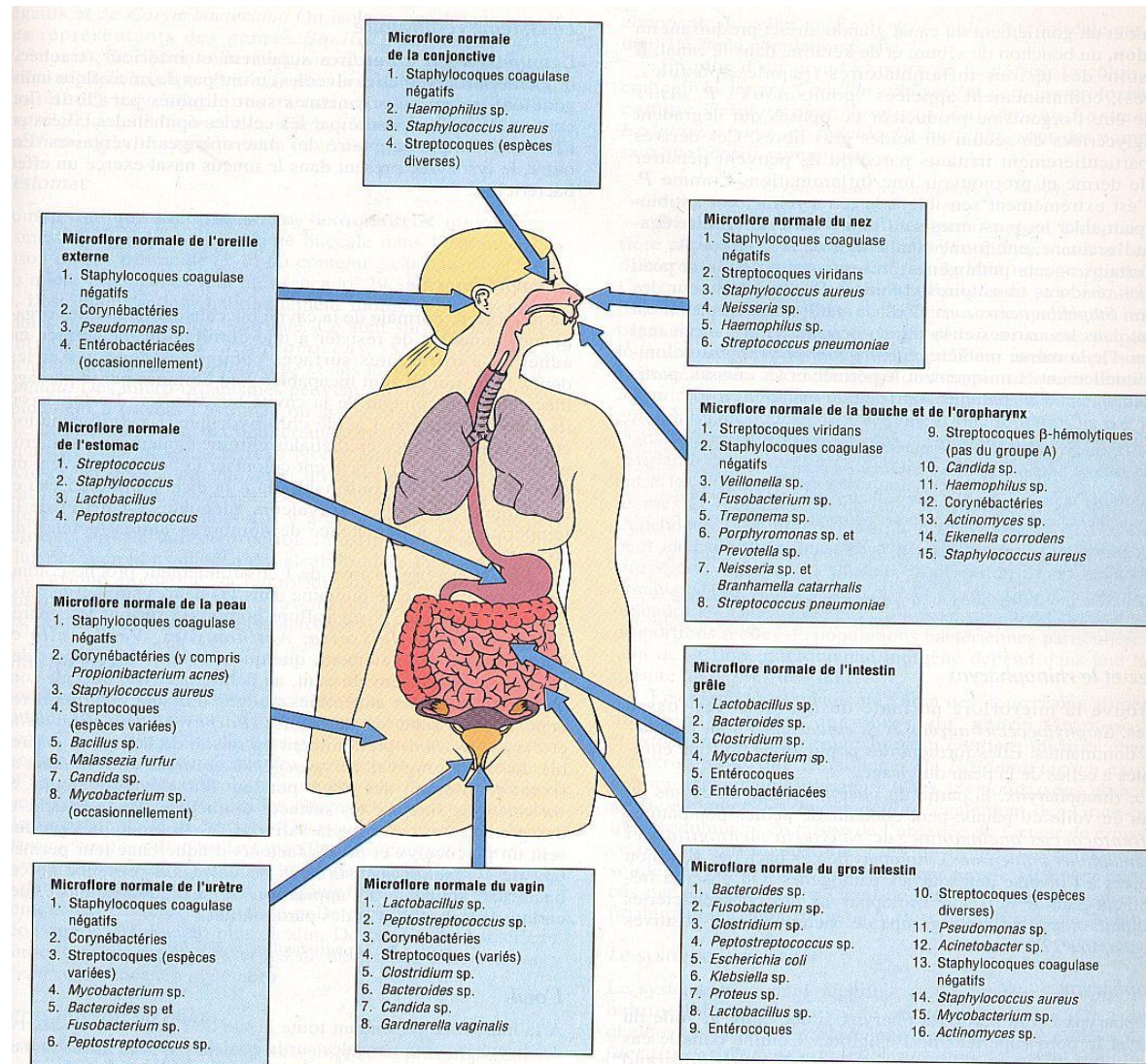
FLORES : l'acquis

Les six flores humaines

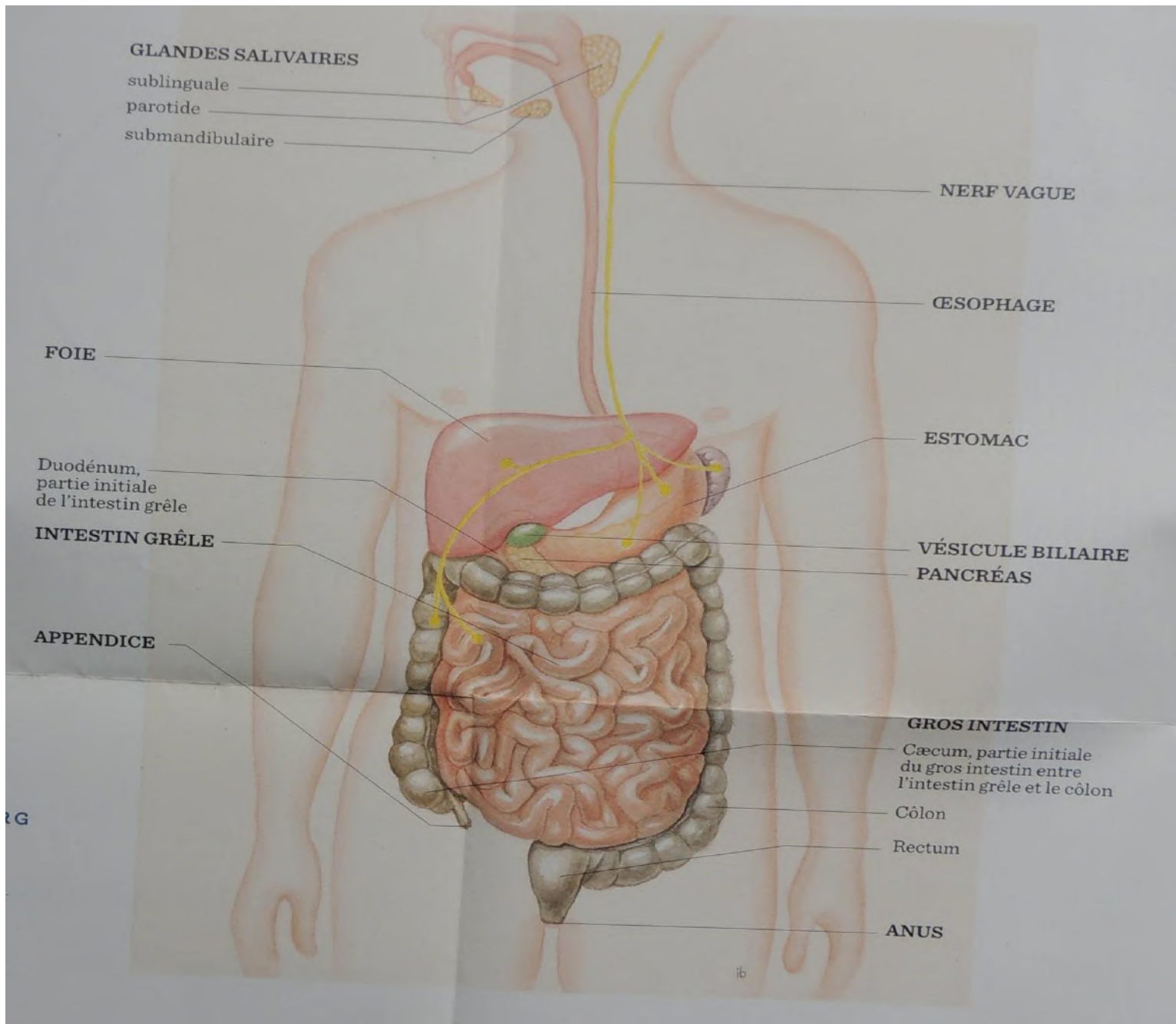
- Flore buccale
- Flore intestinale
- Flore vaginale
- Flore cutanée
- Flore ORL
- Flore urinaire

Flores bactériennes commensales

in Prescott et al.

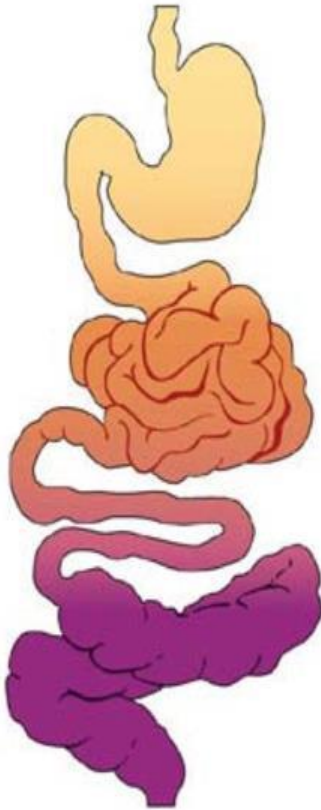


La flore intestinale



Flore digestive humaine

L'homme est un hybride primate-microbes



Estomac: 10^1 - 10^3 CFU/ml,
Lactobacillus, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, Entérobactéries,
Helicobacter, levures

Duodénum et jéjunum: 10^2 - 10^5 CFU/ml,
Lactobacillus, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, Entérobactéries,
Staphylococcus, levures

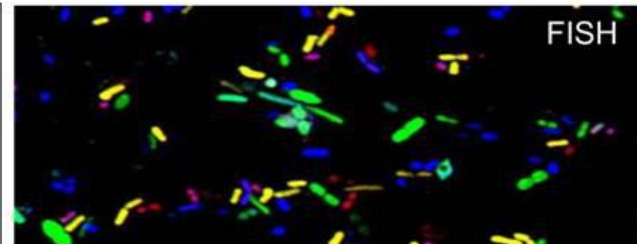
Iléon et caecum: 10^3 - 10^9 CFU/ml,
Bifidobacterium, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, Entérobactéries,
Staphylococcus, *Clostridium*

Colon (500-1000 espèces, peut être 10000-30000 !): 10^{10} - 10^{12} CFU/g,
Bacteroides, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*,
Fusobacterium, *Lactobacillus*, Entérobactéries, *Staphylococcus*, levures,
Anaérobies méthanogènes (archaeobactéries en symbiose avec eubactéries
anaérobies strictes: *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*)

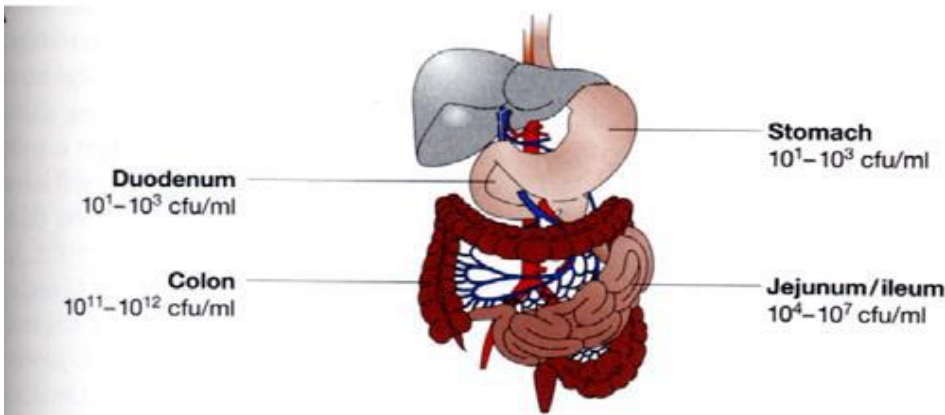
Les bactéries résidentes sont 10 fois plus nombreuses que les cellules somatiques et germinales du corps humain et représentent, combinées, un métagénome dont le nombre de gènes est 100 fois supérieur à celui du génome humain (Shanahan, 2002).

La flore intestinale a une activité métabolique globale égale à celle d'un organe comme le foie (Bocci, 1992).

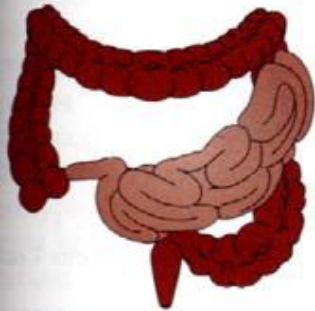
La séquence du métagénome de flores intestinales est en cours.



Rôle de la flore commensale intestinale ++++



| Anaerobic genera | Aerobic genera |
|------------------------|----------------------|
| <i>Bifidobacterium</i> | <i>Escherichia</i> |
| <i>Clostridium</i> | <i>Enterococcus</i> |
| <i>Bacteroides</i> | <i>Streptococcus</i> |
| <i>Eubacterium</i> | <i>Klebsiella</i> |



| Protective functions | Structural functions | Metabolic functions |
|--|--|--|
| Pathogen displacement Nutrient competition Receptor competition Production of anti-microbial factors e.g., bacteriocins, lactic acids | Barrier fortification Induction of IgA Apical tightening of tight junctions Immune system development | Control IEC differentiation and proliferation Metabolize dietary carcinogens Synthesize vitamins e.g., biotin, folate Ferment non-digestible dietary residue and endogenous epithelial-derived mucus Ion absorption Salvage of energy |
| <p>Commensal bacteria</p> | <p>IgA</p> | <p>Short-chain fatty acids</p> <p>Mg²⁺ Ca²⁺ Fe²⁺</p> <p>Vitamin K Biotin Folate</p> |

Rôle bénéfique du microbiote

- Diffusion sanguine de produits bactériens comme Vitamines (notamment B12 et K)
- Stimulation du système nerveux entérique (neurones) qui communique avec le cerveau par le nerf vague (par production bactérienne de neurotransmetteurs) 200 millions de neurones au niveau beaucoup plus nombreux que dans le cerveau intestinal. Rôle de la sérotonine. D'où le nom de deuxième cerveau!!!!
- Stimulation du système immunitaire

le microbiote intestinal

ses quatre fonctions majeures

aide au bon
fonctionnement
du tube digestif

favorise la digestion
en aidant l'absorption
des nutriments



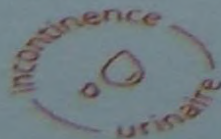
barrière contre
les agents pathogènes
et les toxines

rôle défensif dans
le développement du
système immunitaire

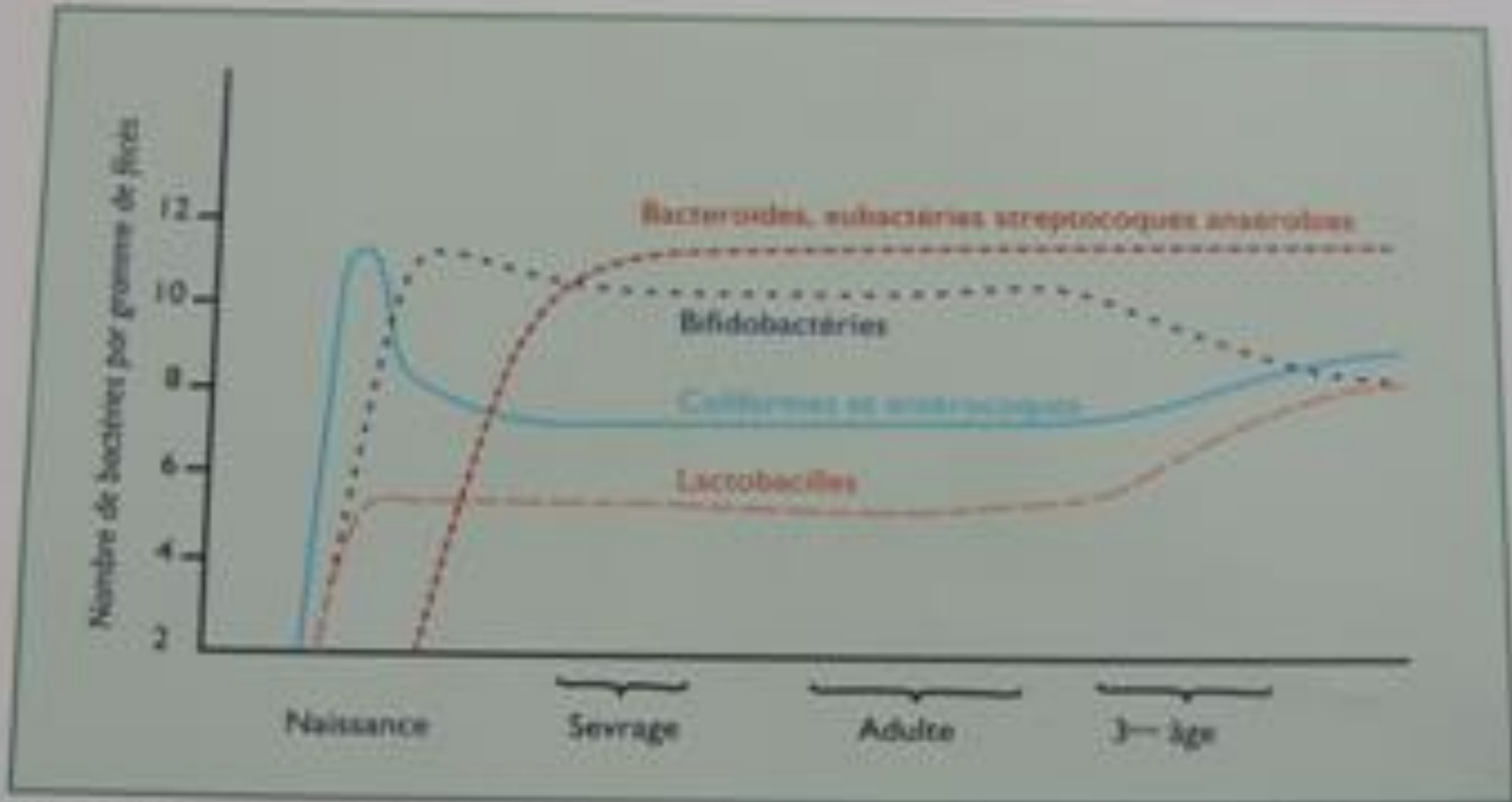
le microbiote urinaire

un microbiote encore à explorer

✓ protège contre



Variations de la composition de la flore intestinale humaine en fonction de l'âge.



D'après Mitsuoka T. 1989 in : Bifidobacteria : their potential for use in american dairy products. DB Hughes and DG Hoover. Food Technology April 1991 : 74-83.

Numération maximale **10 puissance 12 bactéries** par g de selle

Les Bifidus

En naissant l'enfant quitte son environnement stérile et rencontre les flores vaginale et fécale qui se multiplieront dans une atmosphère aéro-anaérobie. C'est Henri Tissier qui observera en 1899, cette flore « bleue ». comportant essentiellement à la naissance des **bactéries bifides Gram positive qu'il appellera Bifidus.**

Elles se développeront surtout chez les enfants nourris au sein, le lait maternel comportant des facteurs de croissance. Elles seront en place durant cette nourriture au sein.

Microbiote vaginal

- Encore appelée *Flore de Doderlein* (découverte en 1892), Doderlein les apparente aux *Lactobacillus*. Ils viennent du rectum d'où ils colonisent le vagin. Ils entraînent une acidité vaginale protectrice des infections (au moins 20 espèces différentes)
- Sous influence hormonale
- Flore peut changer selon le pH (degré d'acidité) vaginal ou après des lavages vaginaux.
- Lors d'infection vaginale apparition de nouvelle flore.

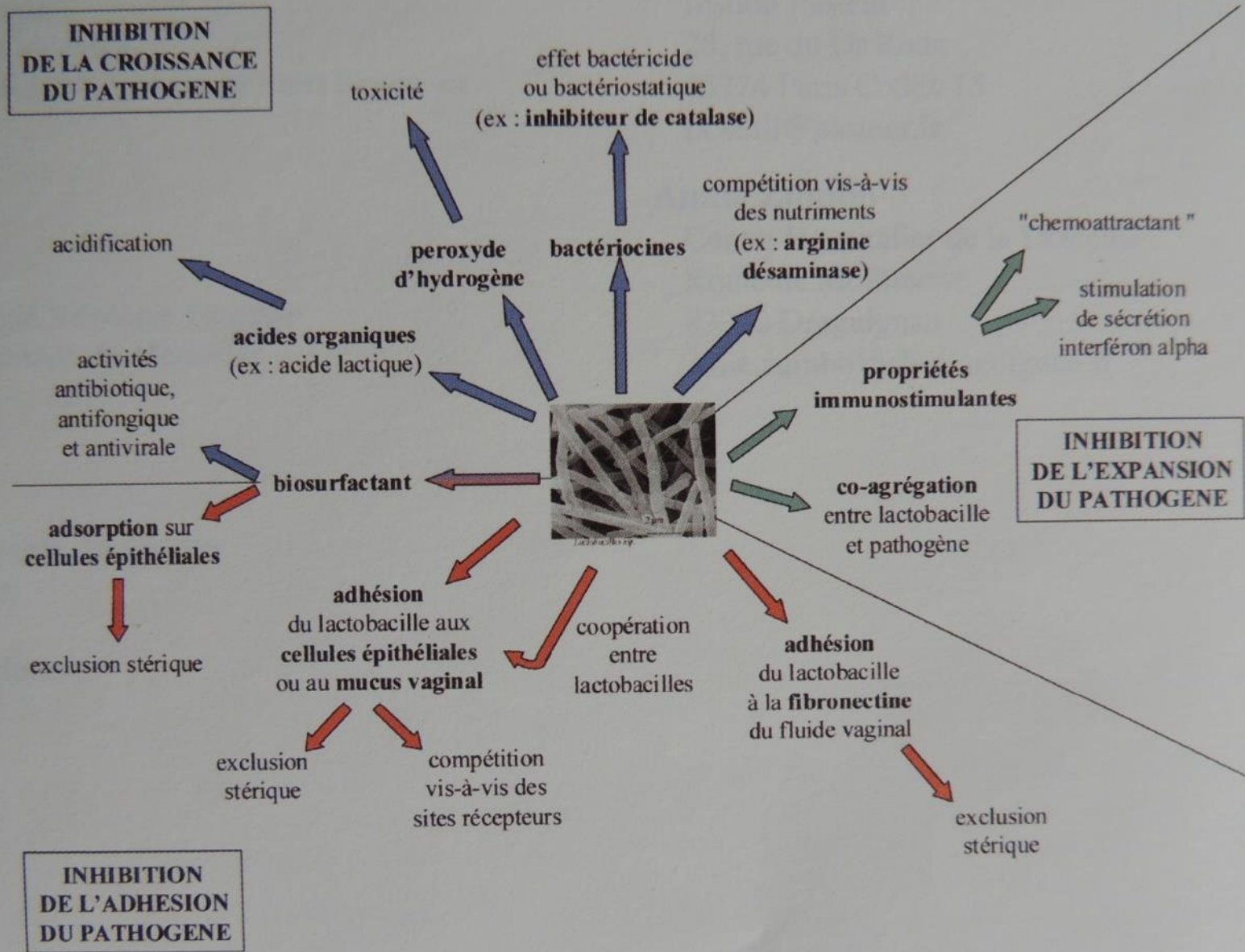
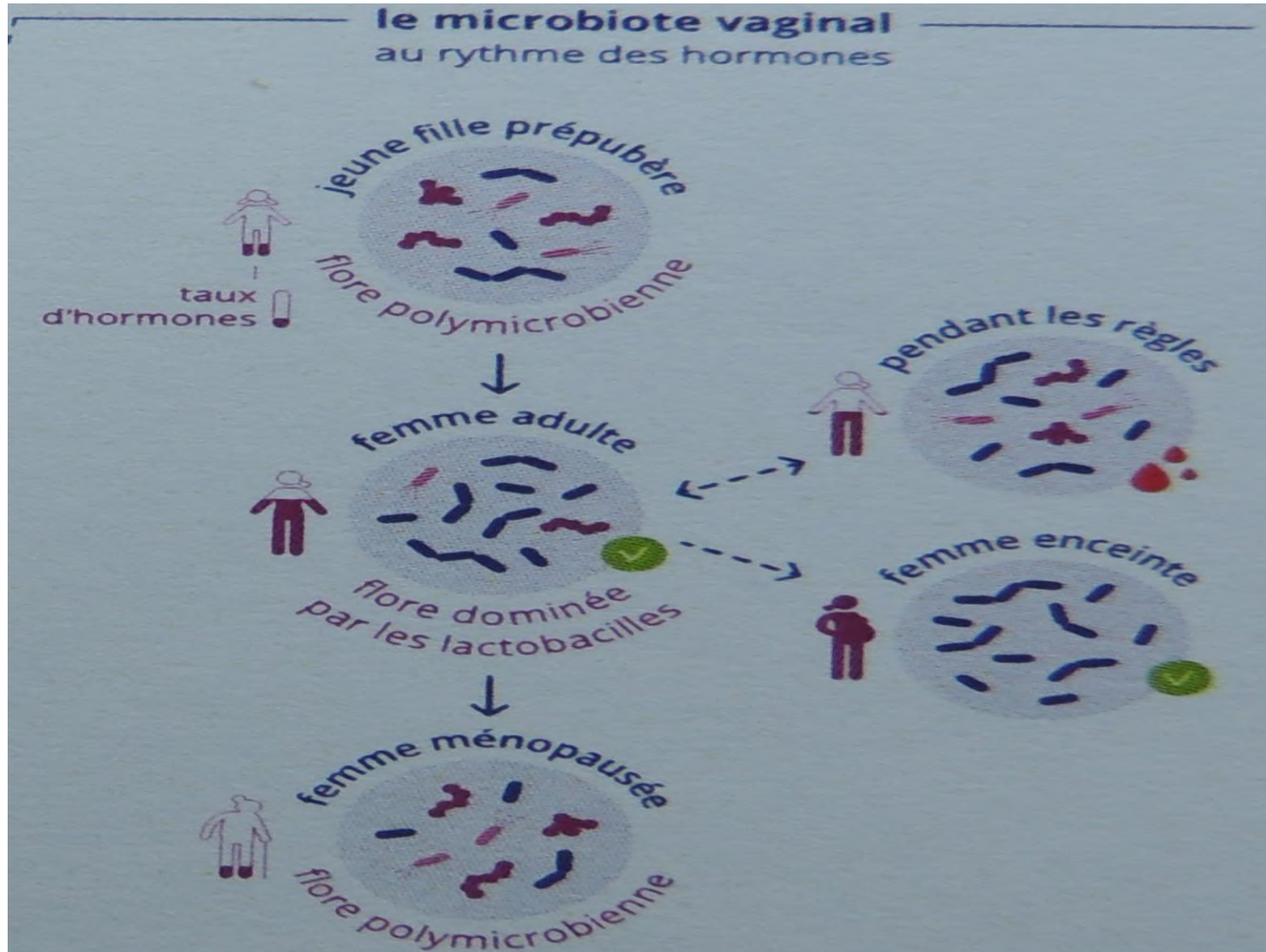


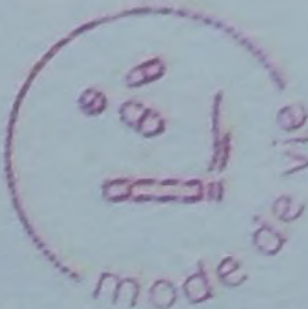
Figure 2. Effets des lactobacilles vaginaux sur les souches à potentiel pathogène (chapitre 19, p. 3)

Le microbiote vaginal au rythme des hormones



Microbiote pulmonaire

le microbiote pulmonaire
un microbiote fragile sous influence...



Portage de *S. aureus* : pourcentage de portage selon les parties du corps

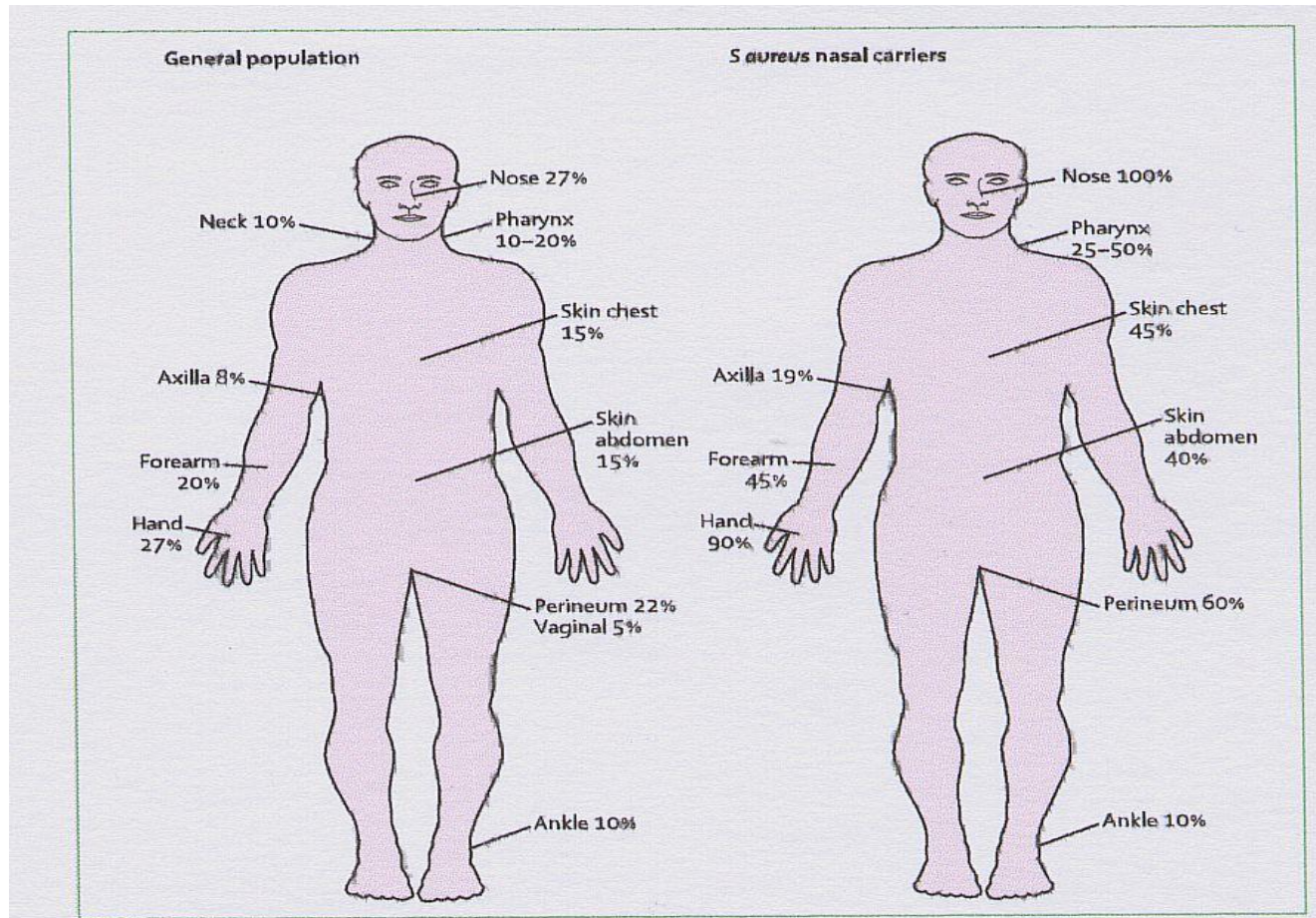


Figure 2: *S. aureus* carriage rates per body site in adults

There is an increase in carriage rates at extra-nasal sites within nasal *S. aureus* carriers. The mentioned rates are approximations using data from the literature cited in the text.

Nouvelle approche complétant la flore : le microbiote

Nouvelle technologie → nouvelle définition (début année 2005)

La métagénomique est un procédé
méthodologique qui vise à étudier le microbiome.

L'analyse métagénomique peut être
réalisée par le séquençage d'un ou plusieurs
gènes particuliers, notamment le gène
ribosomal 16S ARN

Analyse informatique des résultats

Impact des nouveaux outils de métagénomique sur notre connaissance du microbiote intestinal et de son rôle en santé humaine

Enjeux diagnostiques et thérapeutiques

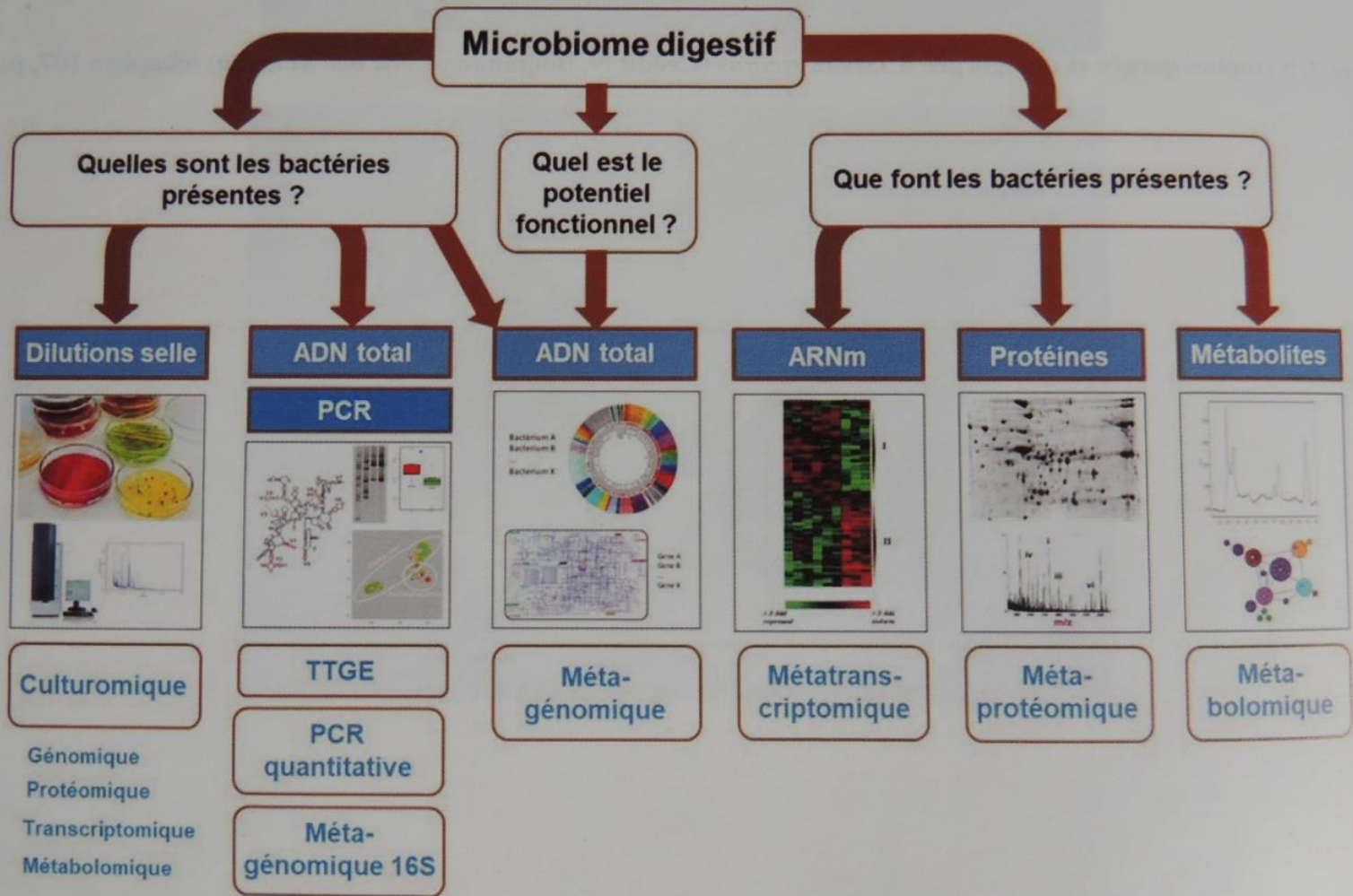
Hervé M. Blottière^{1,2}, Joël Doré^{1,2}

Micalis



Méthodes d'étude du microbiote intestinal

Figure 1. Méthodes d'étude du microbiote intestinal (chapitre 21, p. 357)



Pipeline de métagénomique quantitative

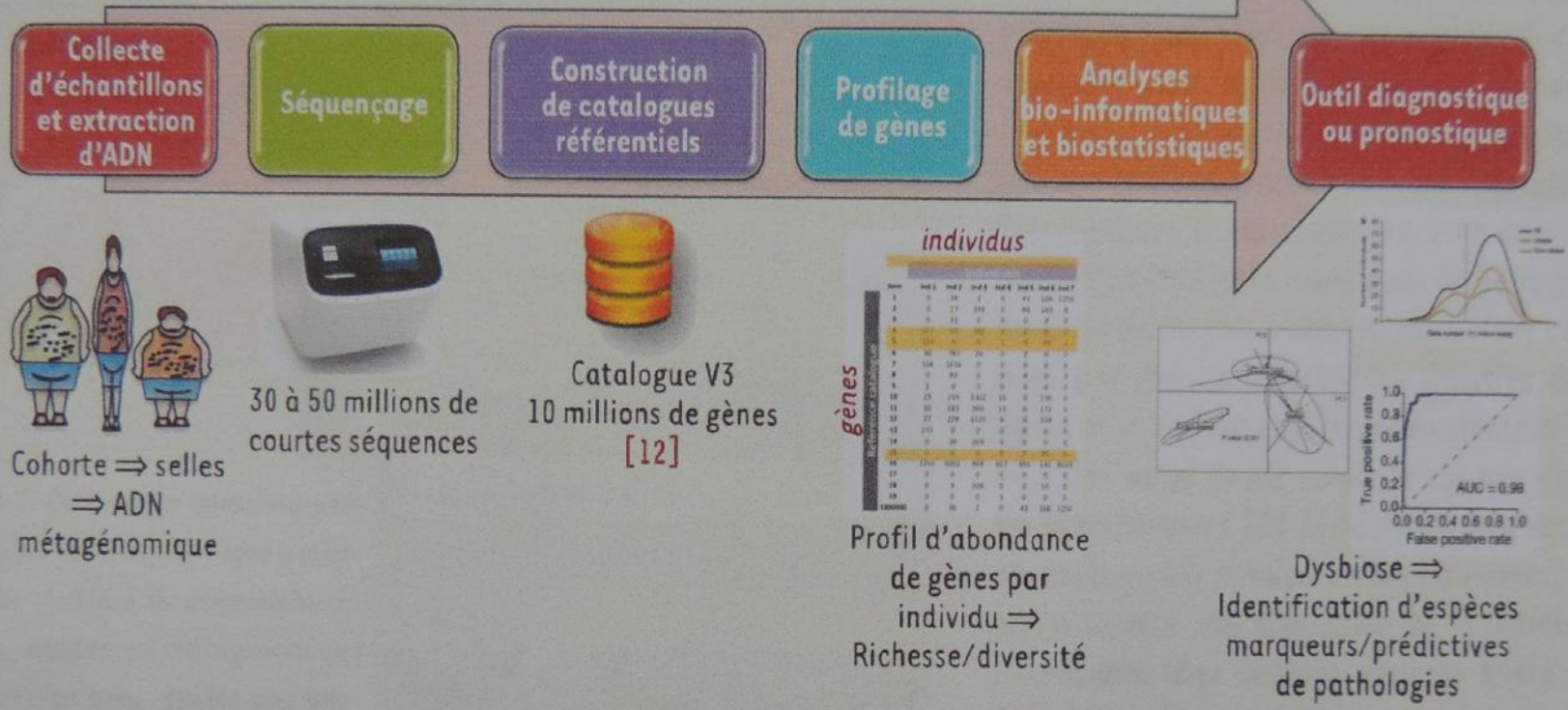


Figure 1. Pipeline de métagénomique quantitative. L'étude du microbiote intestinal tel qu'il est effectué à MétaGénoPolis commence par la réception d'échantillons de selles issus de cohortes ou d'études cliniques. L'ADN contenu dans l'échantillon est extrait et préparé pour le séquençage. Trente à 50 millions de courtes séquences sont obtenues et « mappées » sur un catalogue référentiel des gènes bactériens présents dans l'intestin humain. Un profil d'abondance est ainsi obtenu pour chaque individu. Les analyses bio-informatiques et biostatistiques permettent alors d'identifier les espèces bactériennes associées à un phénotype clinique.

Applications potentielles

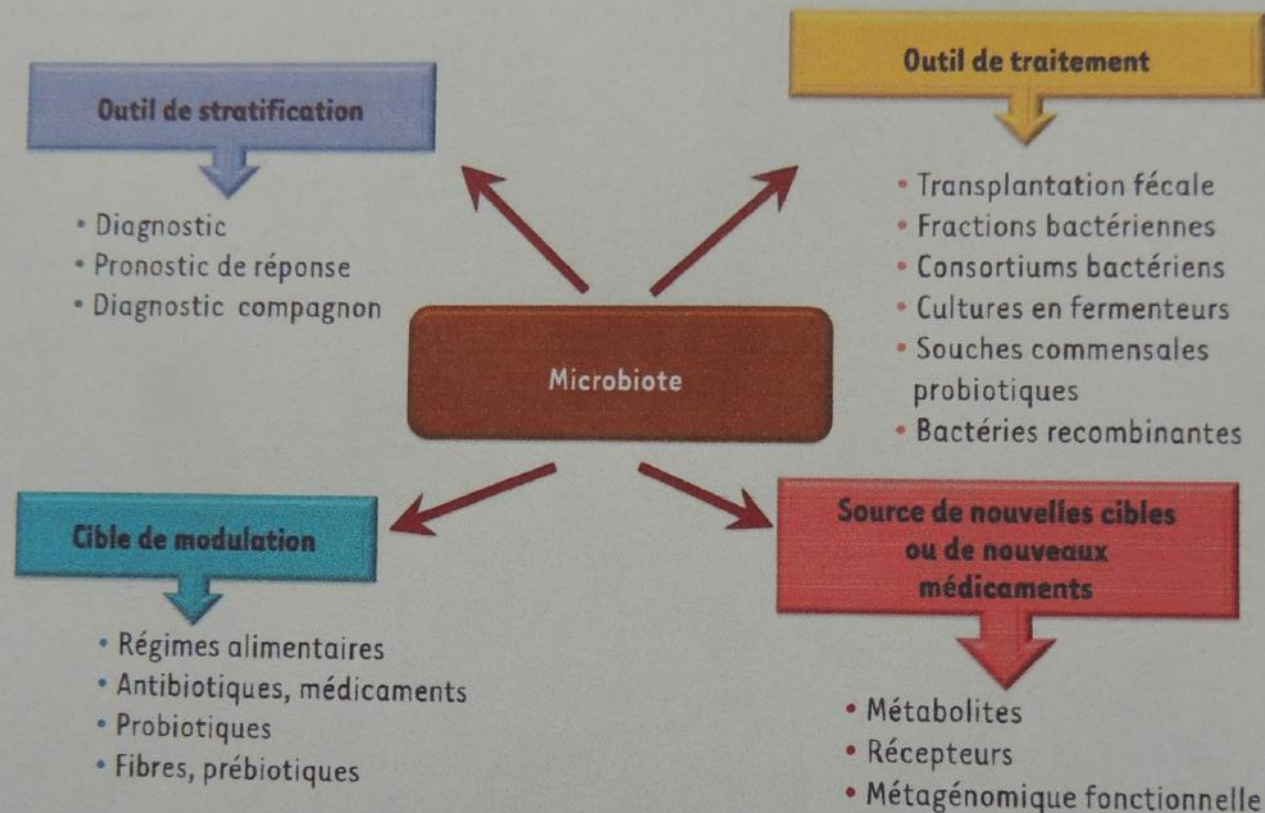


Figure 5. Applications potentielles du microbiote en santé humaine. Ces applications vont dans quatre directions différentes. La caractérisation précise d'un microbiote intestinal constitue un moyen de stratifier les patients en vue d'une médecine plus personnalisée. Différentes approches interventionnelles en vue de modifier le microbiote intestinal peuvent également être envisagées. Le microbiote ou certaines de ses composantes peuvent constituer des outils thérapeutiques potentiels. Enfin, certains métabolites/molécules provenant de bactéries commensales, ou de récepteurs à ces métabolites peuvent avoir un intérêt thérapeutique.

Ré-définition du Rôle du microbiote

- Stimulation du système nerveux entérique (neurones) qui communique avec le cerveau par le nerf vague (production bactérienne de neuro-médiateurs)
- Diffusion sanguine de produits bactériens à distinguer de la translocation bactérienne (bactéries entières)
- Stimulation du système immunitaire

Les quatre groupes (ou phylum) bactériens du microbiote intestinal

Poids : 1,5 kg, 500 à 1000 espèces, 100 000 milliards bactéries, **60 à 70% d'espèces non cultivées**. Stable vers deux /trois ans et puis se modifie avec l'âge.

- **Firmicutes** le plus abondant (60 à 80% du microbiote), (BGP) avec 250 genres dont *Lactobacilles*, *Streptocoques*, *Clostridium*, *Faecalibacteria*.
- **Bacteroidetes** (10 à 40% du microbiote) 50 genres dont *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*.
- **Actinobacteria** : (1% du microbiote) Bifidobacteria
- **Proteobacteria** : entérobactéries

Article princeps Nature mars 2010

Vol 464 | 4 March 2010 | doi:10.1038/nature08821

nature

ARTICLES

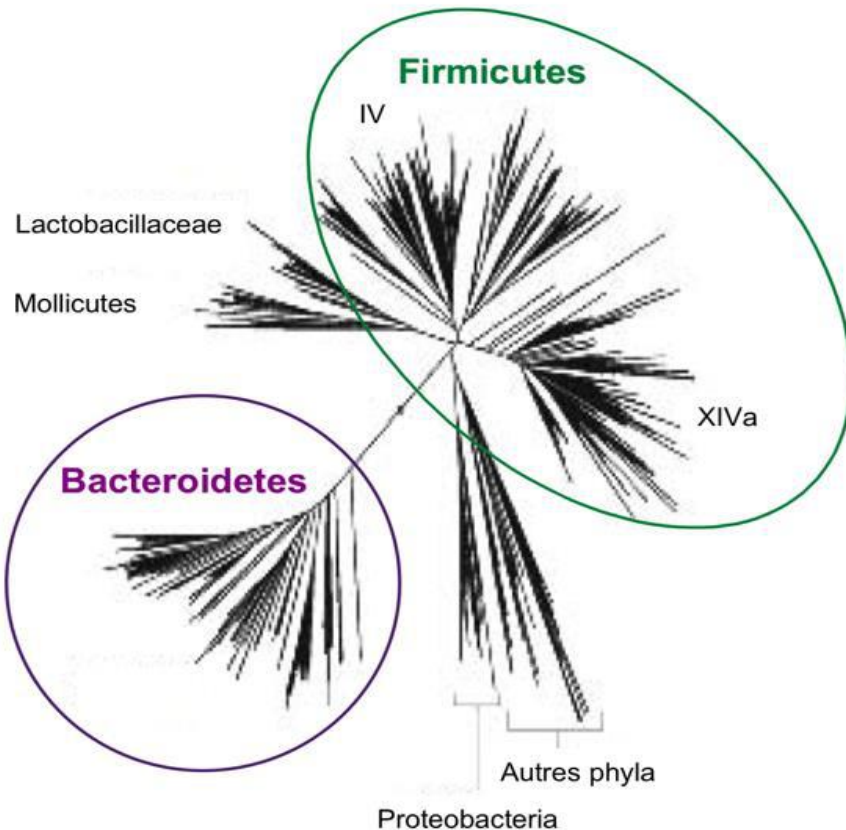
A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing

Junjie Qin^{1*}, Ruiqiang Li^{1*}, Jeroen Raes^{2,3}, Manimozhayan Arumugam², Kristoffer Solvsten Burgdorf⁴, Chaysavanh Manichanh⁵, Trine Nielsen⁴, Nicolas Pons⁶, Florence Levenez⁶, Takuji Yamada², Daniel R. Mende², Junhua Li^{1,7}, Junming Xu¹, Shaochuan Li¹, Dongfang Li^{1,8}, Jianjun Cao¹, Bo Wang¹, Huiqing Liang¹, Huisong Zheng¹, Yinlong Xie^{1,7}, Julien Tap⁶, Patricia Lepage⁶, Marcelo Bertalan⁹, Jean-Michel Batto⁶, Torben Hansen⁴, Denis Le Paslier¹⁰, Allan Linneberg¹¹, H. Bjørn Nielsen⁹, Eric Pelletier¹⁰, Pierre Renault⁶, Thomas Sicheritz-Ponten⁹, Keith Turner¹², Hongmei Zhu¹, Chang Yu¹, Shengting Li¹, Min Jian¹, Yan Zhou¹, Yingrui Li¹, Xiuqing Zhang¹, Songgang Li¹, Nan Qin¹, Huanming Yang¹, Jian Wang¹, Søren Brunak⁹, Joel Doré⁶, Francisco Guarner⁵, Karsten Kristiansen¹³, Oluf Pedersen^{4,14}, Julian Parkhill¹², Jean Weissenbach¹⁰, MetaHIT Consortium†, Peer Bork², S. Dusko Ehrlich⁶ & Jun Wang^{1,13}

To understand the impact of gut microbes on human health and well-being it is crucial to assess their genetic potential. Here we describe the Illumina-based metagenomic sequencing, assembly and characterization of 3.3 million non-redundant microbial genes, derived from 576.7 gigabases of sequence, from faecal samples of 124 European individuals. The gene set, ~150 times larger than the human gene complement, contains an overwhelming majority of the prevalent (more frequent) microbial genes of the cohort and probably includes a large proportion of the prevalent human intestinal microbial genes. The genes are largely shared among individuals of the cohort. Over 99% of the genes are bacterial, indicating that the entire cohort harbours between 1,000 and 1,150 prevalent bacterial species and each individual at least 160 such species, which are also largely shared. We define and describe the minimal gut metagenome and the minimal gut bacterial genome in terms of functions present in all individuals and most bacteria, respectively.

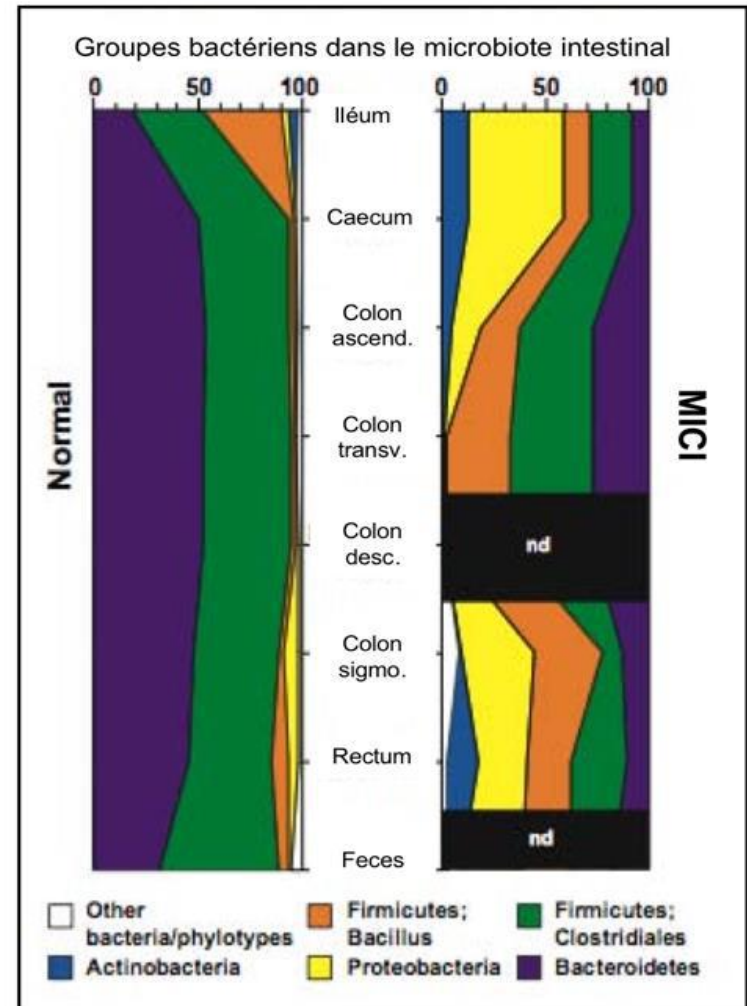
Microbiote intestinal humain (Sansonetti - immunologue)

Le microbiote de l'intestin humain



La majorité des bactéries intestinales appartiennent aux Firmicutes, surtout les « clusters » XIVa et IV regroupant des anaérobies à Gram positif de bas GC % extrêmement sensibles à l'oxygène (EOS) et largeent incultivables, et aux Bacteroidetes regroupant des anérobies à Gram négatif.

D'après Frank & Dale, 2007



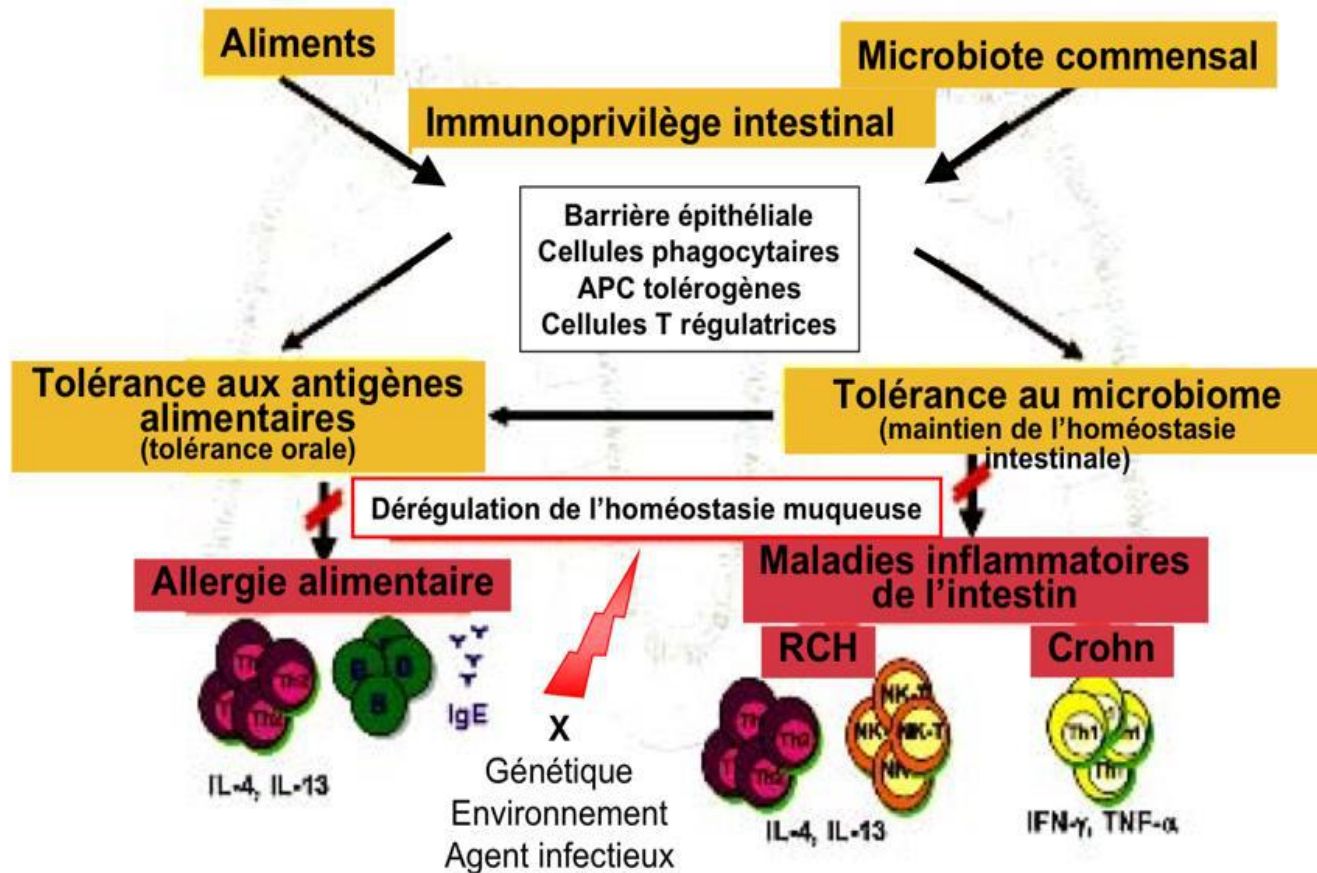
D'après Peterson et coll., 2008

Etude des populations de Microbiote intestinal

- Les individus seraient répartis en trois groupes ou entérotypes selon la signature bactérienne caractérisée par un genre prépondérant :
 - Bacteroidetes : graisses animales, protéines
 - Prevotella : hydrates de carbone
 - Clostridiales
- Exemple d'une peuplade (« Hadza ») ne consommant jamais de produits laitiers : absence de Bifidobacterium dans leur intestin

Tolérance au microbiote commensal (Sansonetti - immunologue)

Immunoprivilège intestinal: tolérance aux antigènes alimentaires
et au microbiote commensal



Microbiote intestinal

- **Bouche** : 320 espèces différentes, plusieurs millions par millilitre de salive; celles qui adhèrent surtout : le streptocoque. Attention aux caries, lysozyme enzyme salivaire détruit des bactéries. Production d'anticorps.
- **Estomac**. L'acidité détruit des bactéries mais pas toutes notamment *Helicobacter* qui peut s'installer, résistant à l'acidité gastrique, provoquant l'ulcère.

le microbiote ORL

trois microbiotes en un

microbiote



O

auriculaire

microbiote



R

nasopharyngé

microbiote



L

oral

protège contre



otites



sinusites



caries

rhinites

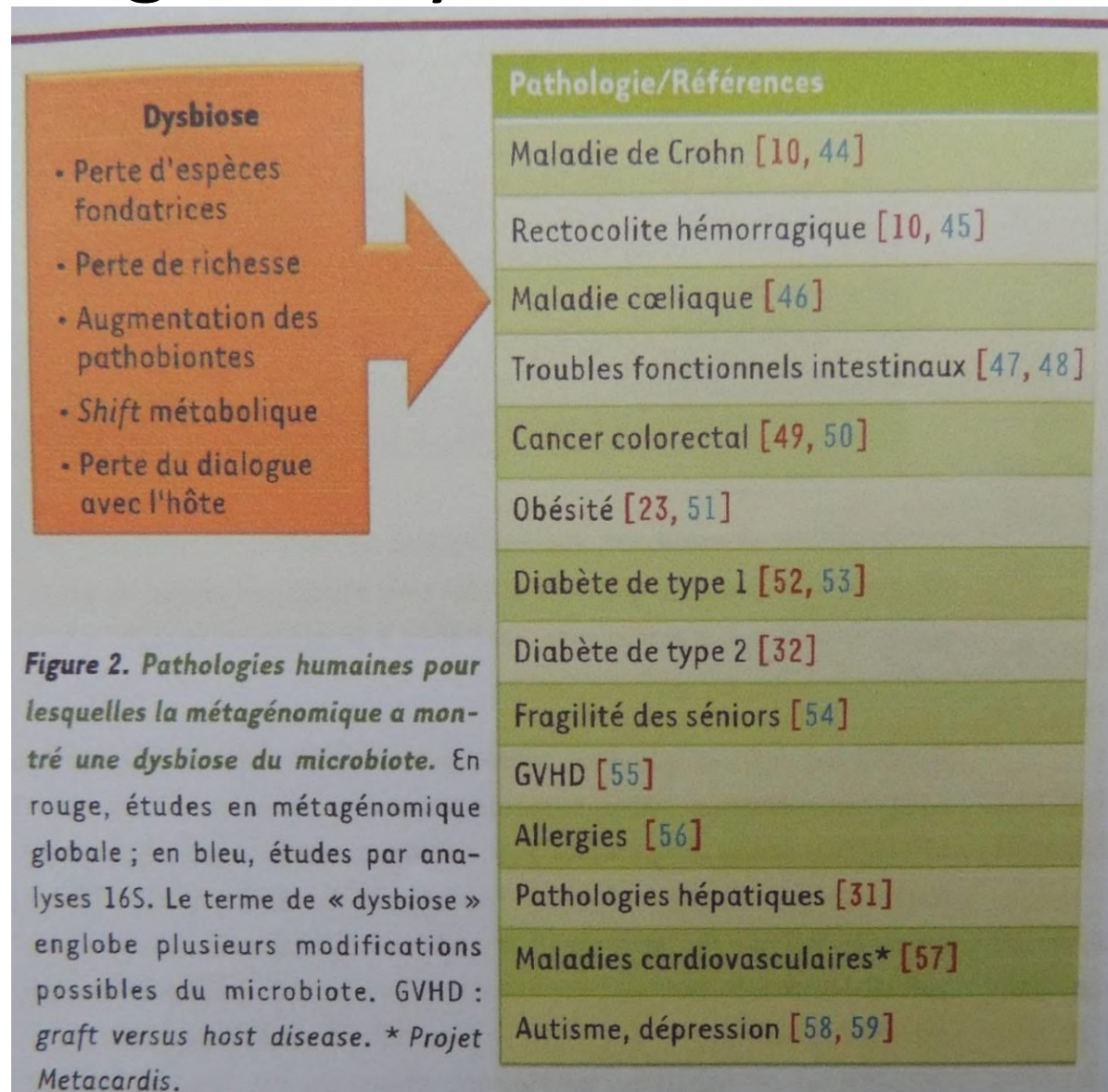


allergiques



parodontie

Pathologie et dysbiose du microbiote



Nouveaux regards sur ces nouvelles bactéries

Nouvelle bactérie : *Akkermansia muciniphila*



médecine/sciences 2017 ; 33 : 373-92

NOUVELLE

***Akkermansia muciniphila*,
une bactérie pour lutter contre
le syndrome métabolique**

**Optimisation des effets bénéfiques
et évaluation de la sûreté chez l'homme**

Hubert Plovier, Patrice D. Cani

Akkermansia muciniphila renforce la barrière intestinale

***Akkermansia muciniphila*, TLR2 et barrière intestinale**

Les *Toll-like receptors* (TLR) interviennent dans la reconnaissance des constituants bactériens par le système immunitaire. Ils participent ainsi aux interactions entre l'hôte et son microbiote, et peuvent également moduler l'homéostasie intestinale et le métabolisme de l'hôte. Nous avons évalué le potentiel d'*A. muciniphila* à activer différents TLR, et avons montré que la bactérie pouvait spécifiquement interagir avec le TLR2..

De nombreux résultats montrent que l'activation du TLR2 au niveau intestinal permet de renforcer la fonction de barrière de l'intestin, en modulant des protéines de jonction serrée. Nous avons pu observer qu'*A. muciniphila* et Amuc_1100* augmentent l'expression de plusieurs de ces protéines, telles que l'occludine et la claudine 3, indiquant ainsi une nouvelle voie **contribuant au renforcement de la barrière intestinale par la bactérie.**

Akkermansia

- Surpoids et obésité problème de santé publique.
- Obésité prédispose au diabète de type 2 et maladies cardiovasculaires encore appelées maladies métaboliques.
- *A. mucinophila* diminue chez ces patients et leur administration dans les premiers essais chez l'homme montre une efficacité.

Pathologies ou troubles associés à des dysbioses du microbiote intestinal

Tableau 1 : Pathologies ou troubles fonctionnels associés à des dysbioses du microbiote intestinal.

| Pathologies | Observations les plus pertinentes et corrélations potentielles |
|--|---|
| Maladie de Crohn | Diminution de la diversité du microbiote Réduction de <i>F. prausnitzii</i> |
| Rectocolite hémorragique | Diminution de la diversité du microbiote Réduction de <i>A. muciniphila</i> |
| Syndrome de l'intestin irritable | Augmentation de <i>Dorea</i> et de <i>Ruminococcus</i> |
| Infection à <i>Clostridium difficile</i> | Forte diminution de la diversité du microbiote Présence de <i>C. difficile</i> |
| Cancer colorectal | Variation des <i>Bacteroides</i> Augmentation des Fusobacteria |
| Allergie / Atopie | Diversité altérée Signatures microbiennes spécifiques |
| Maladie cœliaque | Composition altérée particulièrement dans l'intestin grêle |
| Diabète de type 1 | Signature microbienne particulière |
| Diabète de type 2 | Signature microbienne particulière |
| Obésité | Rapport <i>Bacteroidetes/Firmicutes</i> spécifique |

Diabète de type 2

- Une alimentation déséquilibrée est associée à un dérèglement du microbiote intestinal qui favorise les maladies métaboliques comme le diabète.
- Des chercheurs de l'Inserm, de Sorbonne Université, de l'AP-HP et d'INRAE en collaboration avec une équipe suédoise, montrent que des changements dans la composition du microbiote intestinal entraînent une augmentation des niveaux sanguins d'une molécule appelée le propionate d'imidazole*, au sein d'une large cohorte européenne.
- Cette molécule est connue pour rendre les cellules de l'organisme résistantes à l'insuline et augmenter le risque de diabète de type 2. Les résultats sont publiés dans le journal Nature 2020

* provient de la dégradation de histidine

MICI et Microbiote intestinal

- Maladie inflammatoire de l'intestin regroupe maladie de Crohn et Rectocolite hémorragique (RCH)
- Inflammation due à l'interaction prédisposition génétique et facteurs environnementaux dont le microbiote.
- Après un TT antibiotique, *Ruminococcus*, en faible quantité se multiplie et dégrade le mucus

Microbiote et cancer (Marine Fidelle)

université PARIS-SACLAY



AGARO
Association grenobloise d'aide
et de recherche en oncologie

ClinicoBiome

Microbiote et Cancer

Marine FIDELLE, PharmD, PhD



GUSTAVE ROUSSY

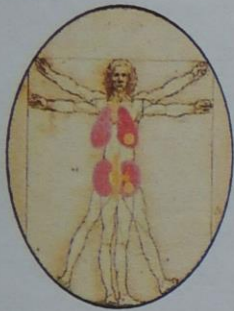


Inserm
Institut national
de la santé et de la recherche médicale

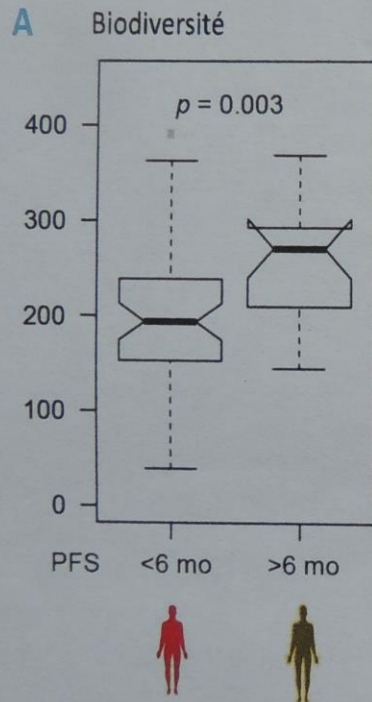


Akkermansia : Bénéfique

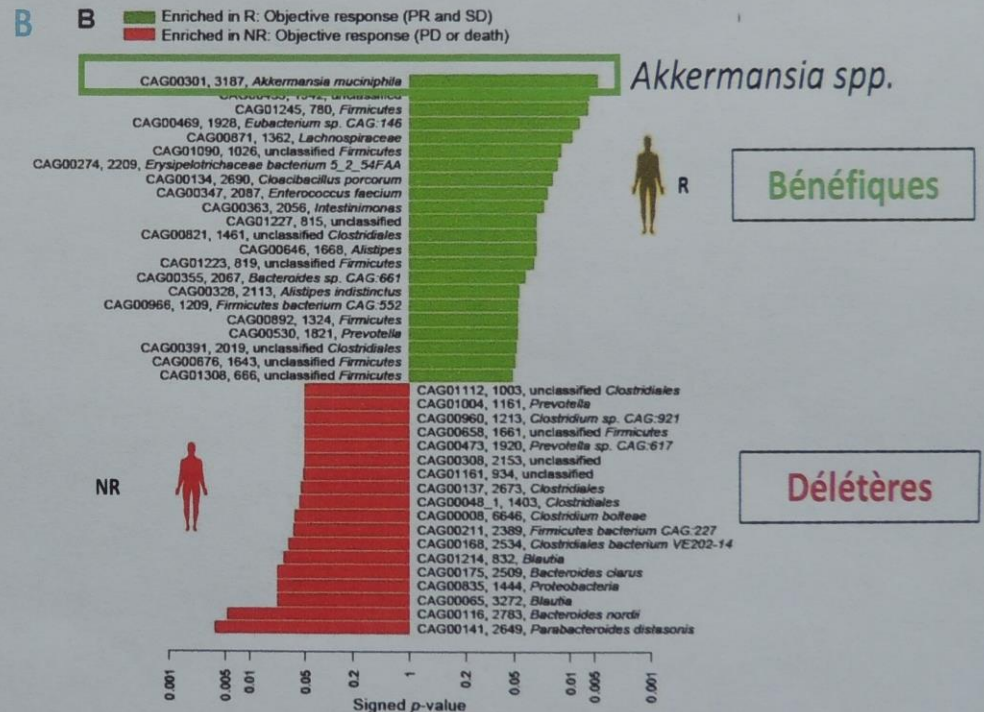
La diversité et la composition du microbiote intestinal sont différentes entre les répondeurs (R) et les non-répondeurs (NR) à l'immunothérapie



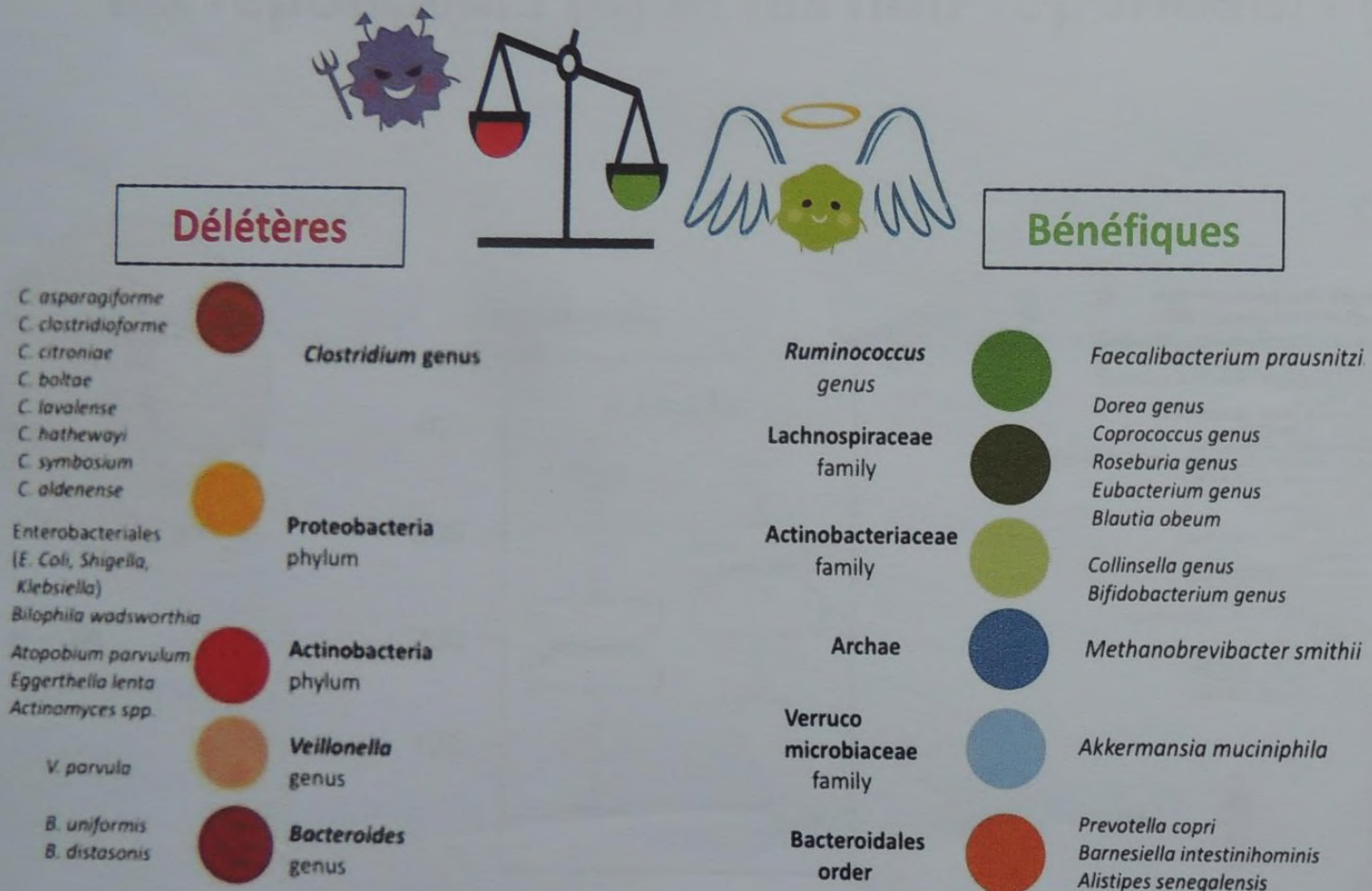
N = 100
Etude prospective



Composition



Bonnes contre mauvaises commensales de l'intestin : Sortez les calculatrices!



(Yonekura et al. 2022; Spencer et al. 2021; Lee et al. 2022; Tsay et al. 2021; McCulloch et al. 2022).

(Gopalakrishnan et al. 2018; Messaoudene et al. 2022).

Métabolisme du tryptophane et microbiote intestinal

[Le tryptophane est un des 20 acides aminés qui entre dans la composition des protéines]

Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease

Allison Agus ¹, Julien Planchais ¹, Harry Sokol ²

Affiliations

PMID: 29902437 DOI: 10.1016/j.chom.2018.05.003

Free article

Abstract

The gut microbiota is a crucial actor in human physiology. Many of these effects are mediated by metabolites that are either produced by the microbes or derived from the transformation of environmental or host molecules. Among the array of metabolites at the interface between these microorganisms and the host is the essential aromatic amino acid tryptophan (Trp). In the gut, the three major Trp metabolism pathways leading to serotonin (5-hydroxytryptamine), kynurenine (Kyn), and indole derivatives are under the direct or indirect control of the microbiota. In this review, we gather the most recent advances concerning the central role of Trp metabolism in microbiota-host crosstalk in health and disease. Deciphering the complex equilibrium between these pathways will facilitate a better understanding of the pathogenesis of human diseases and open therapeutic opportunities.

Keywords: AhR; Crohn disease; IBD; autism; cerative colitis; gut microbiota; kynurenine; serotonin; tryptophan metabolism.

Dégradation du tryptophane

- Trois voies essentielles de son métabolisme
- Intervient dans Crohn, colites
 - Soit voie en dérivés **indole** capables d'activer un récepteur des hydrocarbures aromatiques présent sur des cellules immunitaires et cellules épithéliales intestinales ;
activation inter-leukine 22
 - Soit celle de **la sérotonine** : 80% de sa production vient de l'intestin, impliquée dans de nombreuses pathologies.
 - Soit voie de la **kynurénine** impliquée dans le processus immunitaire

Schéma dégradation du tryptophane

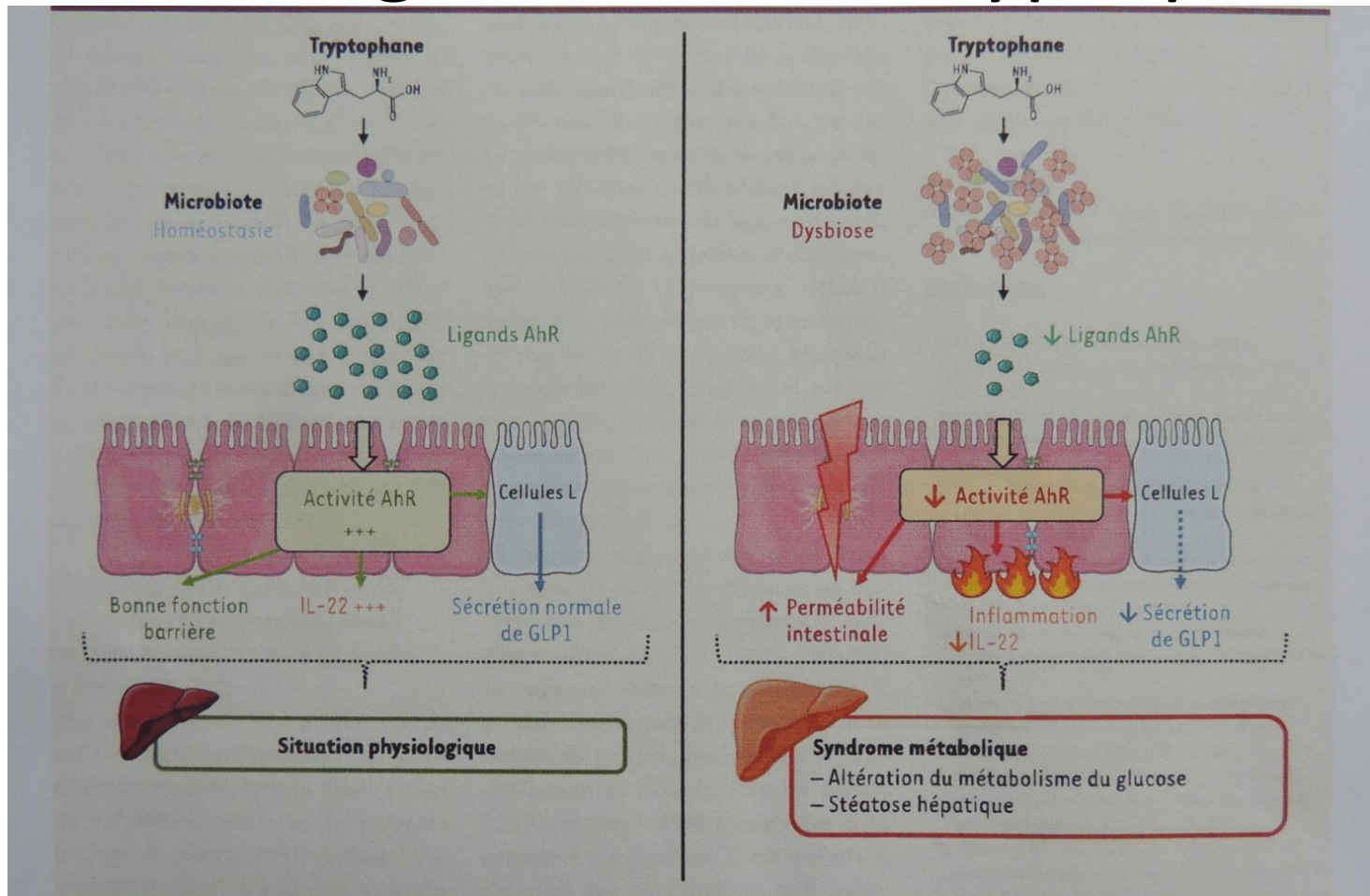


Figure 1. Modèle démontrant le lien fort entre microbiote intestinal, métabolisme du tryptophane et syndrome métabolique. Dans un contexte de syndrome métabolique, le microbiote intestinal dit « dysbiotique » est incapable, à partir du tryptophane, de produire autant d'agonistes AhR (*aryl hydrocarbon receptor*) que dans une situation physiologique. Ce défaut d'activation de AhR induit une diminution de production d'interleukine-22 (IL-22), une augmentation de perméabilité intestinale associée à une diminution de sécrétion de l'hormone glucocœrétine GLP-1 (*glucagon-like-peptide-1*). Ces multiples altérations facilitent le développement d'un syndrome métabolique qui se caractérise par un dysfonctionnement du métabolisme du glucose et une stéatose hépatique.

**Des bactéries résident à
l'intérieur de cellules tumorales**
29 mai 2020 dans la
revue *Science*

Microbiote dans tumeurs malignes du sein

L'étude a révélé que le microbiote des tumeurs malignes du sein est significativement plus riche et divers que celui associé à d'autres cancers. En moyenne, plus de 14 espèces bactériennes différentes ont été dénombrées dans les échantillons de tumeurs mammaires, contre moins de 9 dans d'autres types de cancer.

Des bactéries vivantes

Tumeurs provenant de cinq femmes ayant été opérées pour un cancer du sein. Plus d'un millier de colonies bactériennes ont poussé à partir de chacune de ces tumeurs. L'analyse génétique a montré que ces colonies représentaient au total 37 espèces bactériennes différentes. Ces bactéries vivantes appartenaient principalement aux groupes des Protéobactéries, des Firmicutes et des Actinobactéries.

Un composant entrant dans la composition de la paroi bactérienne a été détecté dans chacun des quatre échantillons tumoraux analysés. Un résultat qui, selon les auteurs, « *plaide en faveur de l'hypothèse selon laquelle les tumeurs hébergent des bactéries vivantes intracellulaires* ».

L'observation de bactéries intracellulaires associées à une tumeur soulève néanmoins une autre hypothèse, non exclusive de la précédente, à **savoir que certaines bactéries aient pu parvenir à l'intérieur de la tumeur, intactes ou sous forme de fragments, par des cellules immunitaires ou cancéreuses ayant migré jusqu'au site tumoral.**

Un microbiote spécifique de la variété de cancer

- L'étude montre surtout un microbiote distinct selon le type de cancer. Il a ainsi été montré que les bactéries présentes dans les tumeurs colorectales appartiennent aux groupes des Firmicutes et des Bacteroidetes.
- En revanche, dans le cancer du pancréas, le groupe bactérien prédominant est composé de Protéobactéries, largement présentes dans le microbiote au niveau du duodénum (partie initiale de l'intestin grêle). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que des bactéries migrent dans le pancréas en remontant dans le conduit pancréatique qui débouche dans le duodénum.

Transfert du Microbiote Fécal (TMF)

dans les colites pseudo-
membraneuses à *Clostridium*
difficile résistants


Transplantation du microbiote fécal

Rapport ANSM mars 2014



La transplantation de microbiote fécal et
son encadrement dans les essais cliniques

Mars 2014



Transplantation fécale (ANSM)

La transplantation de microbiote fécal consiste en l'introduction des selles d'un donneur sain dans le tube digestif d'un patient receveur afin de rééquilibrer la flore intestinale altérée de l'hôte.

Cette approche thérapeutique suscite un intérêt grandissant et a fait l'objet de plusieurs études montrant des résultats certes encourageants mais qui restent néanmoins limités.

Ainsi, s'agissant d'un écosystème complexe, la connaissance plus approfondie du microbiote et les moyens efficaces pour le rééquilibrer ou le modifier afin d'influer sur l'évolution de pathologies associées

**Intérêt actuel dans les traitements des colites
pseudomembraneuses dues au Clostridium difficile résistant aux
antibiothérapies**

Le transplant

A. ORIGINE DU TRANSPLANT ET PROCÉDURE D'INOCULATION

Dans cette étude, les donneurs de TMF sont principalement des inconnus pour les patients (72%). Lors des premières TMF, les donneurs de TMF étaient des proches des patients. Puis, les dons de selles ont été effectués par un seul volontaire sain, afin de diminuer le coût des TMF et d'augmenter la quantité de transplants disponibles. En effet, les donneurs sont fidélisés afin de limiter les frais de dépistage. Le donneur est dépisté une première fois (*confer* III.B.1) et si les résultats sont bons, on prélève ses selles pendant une période donnée, avant de refaire un dépistage. A la suite de ces derniers examens, toutes les selles émises dans cette période inter-dépistages pourront être gardées et utilisées pour les TMF.

Transplantation microbiote fécal

La TMF se déroule en 6 étapes :

- 1 – Validation de l'indication de la TMF
- 2 – Sélection du donneur
- 3 – Préparation des selles du donneur
- 4 – Choix du mode et du contexte d'administration
- 5 – Préparation
- 6 – Administration en elle-même

Schéma d'action

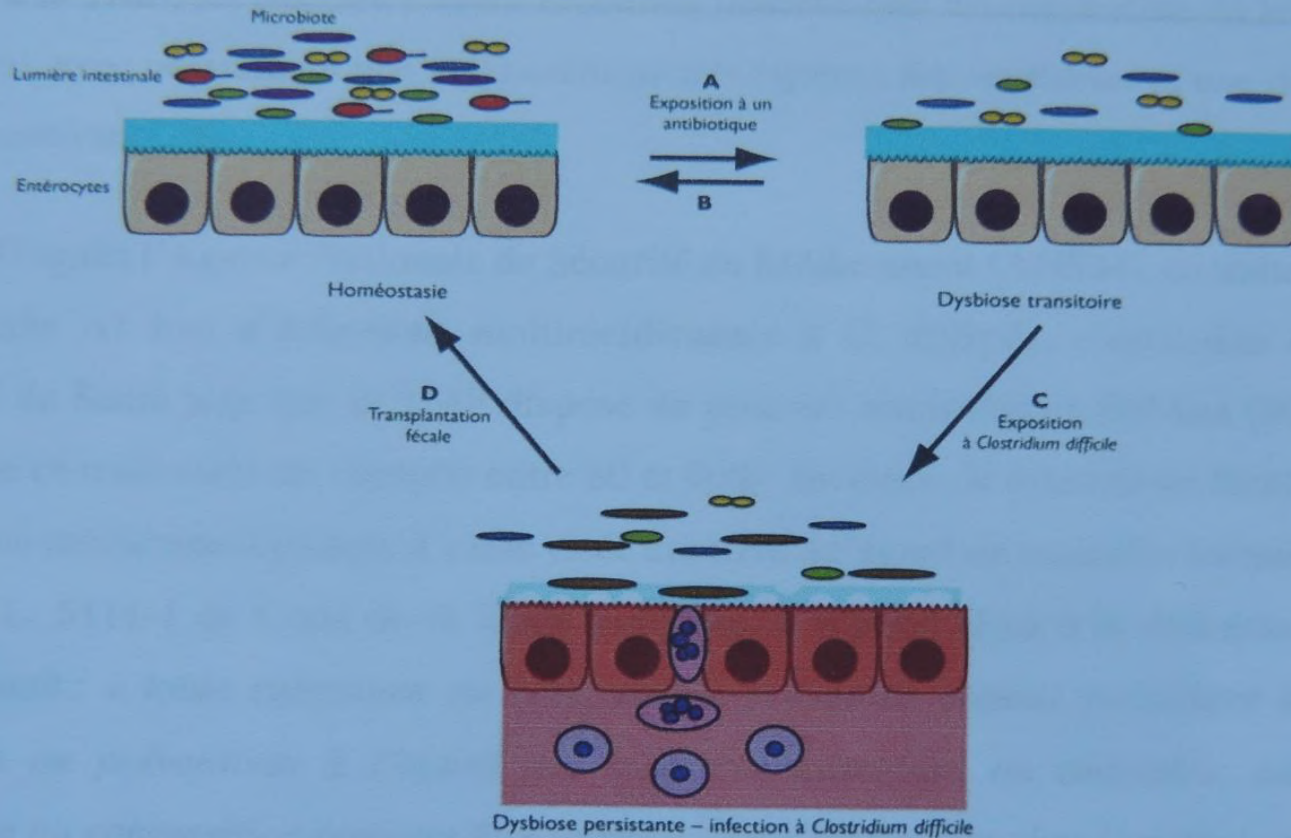


Figure XXXIII : Perturbation de l'homéostasie du microbiote intestinal par les antibiotiques et l'infection à *C. difficile* et correction de la dysbiose suite à la transplantation fécale (89)

Les probiotiques

Historique : le yaourt premier probiotique alimentaire (2)

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1908



Ilya Ilyich Mechnikov
Prize share: 1/2



Paul Ehrlich
Prize share: 1/2

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1908 was awarded jointly to Ilya Ilyich Mechnikov and Paul Ehrlich "in recognition of their work on immunity"

Arrivée de **Metchnikoff** savant ukrainien (1845-1916), naturalisé français, travaillant à Institut Pasteur, Prix Nobel de Médecine en 1908 pour ses recherches en immunologie, avait constaté les effets bénéfiques du yaourt sur la longévité des montagnards du Caucase et des Balkans. Il est à la base du développement du yaourt en Europe occidentale.

1917 : **Isaac Carasso** (1874-1939) médecin espagnol teste sur la base des hypothèses de Mechnikoff le lait fermenté chez des enfants souffrant de troubles digestifs. Il les vend en pharmacie.

1919 : production yaourt industriel à Barcelonne

1929 : son fils Daniel (né en 1905) lance la production en France, sous le nom de Danone (Danon petit Daniel).

Probiotique : définition

« C'est un **microorganisme vivant** qui, lorsqu'il est consommé en quantité adéquate, produit un bénéfice pour la santé de l'hôte » . (FAO/OMS 2001).

Les principaux microorganismes classés comme probiotiques sont des **lactobacilles**, des **bifidobactéries**, et la levure *Saccharomyces boulardii*.



Décret n°88-1203 du 30 décembre 1988 relatif aux laits fermentés et au yaourt ou yoghourt

🕒 Dernière mise à jour des données de ce texte : 16 mars 2017

NOR : ECOC8800150D

Version en vigueur au 22 avril 2023

Le Premier ministre,

Sur le rapport du ministre d'Etat, ministre de l'économie, des finances et du budget, du garde des sceaux, ministre de la justice, du ministre de l'agriculture et de la forêt et du ministre de la solidarité, de la santé et de la protection sociale, porte-parole du Gouvernement,

Article 2

La dénomination "yaourt" ou "yoghourt" est réservée au lait fermenté obtenu, selon les usages loyaux et constants, par le développement des seules bactéries lactiques thermophiles spécifiques dites *Lacto-bacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini, à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme rapportées à la partie lactée.

La quantité d'acide lactique libre contenue dans le yaourt ou yoghourt ne doit pas être inférieure à 0,7 gramme pour 100 grammes lors de la vente au consommateur.

Historique du lait fermenté au Bifidus : de Tessier à « Activia »



Deux fabricants de « Probiotiques » complément alimentaire

Gamme ERGYPHILUS®
Des synergies uniques de souches

Plus de 20 ans d'histoire et d'expérience
Depuis la création de la gamme ERGYPHILUS® en 1998, le laboratoire Nutergia élabore des formules synergiques, composées de Lactobacilles et Bifidobactéries, dans le respect de la qualité des matières premières.

Depuis 2018, dans un souci d'amélioration et de transparence vis-à-vis du consommateur, les souches sont clairement identifiées par leur numéro de collection nationale ou internationale.

- Souches vivantes non microencapsulées d'origine européenne
- Adhésion à la muqueuse intestinale démontrée*
- Diversité et complémentarité des souches pour un spectre d'action élargi
- Résistance à l'acidité gastrique garantie*
- Gamme sans gluten, sans lactose**, sans soja
- Lactobacilles et Bifidobactéries naturellement présents dans le microbiote

FORMULE OPTIMISÉE

6 synergies ERGYPHILUS®,
pour des solutions adaptées aux besoins de chacun

* Tests *in vitro* réalisés sur produits finis par un laboratoire indépendant
** Sauf ERGYPHILUS® Enfants

MICROBIOTE

Toutes nos souches sélectionnées pour la gamme Lactibiane répondent à nos critères de qualité :

- Survie et résistance tout au long du tube digestif (acidité gastrique, bile...)
- Adhésion aux cellules de l'épithélium intestinal
- Stabilité testée dans le produit fini (lors d'une conservation à température inférieure ou égale à 20°C)

Elles sont déposées et enregistrées dans les collections privées de l'Institut Pasteur.
Tous nos Lactibiane sont **fabriqués en France**.

LACTIBIANE Tolérance 10 milliards par gélule

► Complément alimentaire à base de 5 souches microbiotiques dosées à 10 milliards par gélule et sachet de 2,5 g

Lactibiane Tolérance est composé de **5 souches microbiotiques** :

- *Bifidobacterium lactis* LA 303
- *Lactobacillus acidophilus* LA 201
- *Lactobacillus plantarum* LA 301
- *Lactobacillus salivarius* LA 302
- *Bifidobacterium lactis* LA 304

INGRÉDIENTS (gélule): Agent de charge: amidon de maïs, ferments lactiques (support amidon de maïs), gélule d'origine végétale, anti-agglomérant: stéarate de magnésium.

INGRÉDIENTS (sachet): Fécule de pomme de terre, inuline de chicorée, maltodextrines de maïs, ferments lactiques.

CONSEILS D'UTILISATION : 1 gélule par jour à avaler avec un grand verre d'eau ou 1 sachet par jour à diluer dans un verre d'eau. À prendre avant un repas. À conserver dans un endroit frais et sec.

30 GÉLULES 30 SACHETS DE 2,5 G
30 SACHETS DE 1 G (4 MILLIARDS)
30 SACHETS DE 5 G (20 MILLIARDS)

6 CES COMPLÉMENTS ALIMENTAIRES NE PEUVENT SE SUBSTITUER À UNE ALIMENTATION VARIÉE, ÉQUILIBRÉE ET À UN MODE DE VIE SAIN

Probiotiques

« compléments alimentaires »

- Comportent différentes espèces de lactobacillus et/ou de Bifidus, associés parfois à des prébiotiques (inuline comportant du fructose)
- Indications variées sans preuves scientifiques manifestes

Probiotiques médicamenteux appoint du traitement contre la diarrhée

- **Ultra-levure** : *Saccharomyces boulardii*. Traitement d'appoint de la diarrhée. Il transite vivant dans le tube digestif sans le coloniser. Disparaît 2 à 5 jours après arrêt du traitement.
- **Lactéol** : *Lactobacillus inactivés* par la chaleur 10 milliards (*L. fermentum* et *L. delbrueckii*) En complément de la réhydratation, traitement symptomatique d'appoint de la diarrhée.
- **Carbolevure** : charbon activé + *Saccharomyces cerevisiae* 10.8 par gramme. Traitement symptomatique des manifestations intestinales avec météorisme.

Probiotiques médicamenteux vaginaux

- **Trophigil : gélule vaginale** contenant cultures lyophilisées de *L. casei variété rhamnosus* Doderleini, Oestriol, progestérone.

Indications sécheresse vaginale.

- **Florgynal : gélule vaginale** contenant cultures lyophilisées de *L. casei variété rhamnosus* Doderleini, Oestriol, progestérone..

Un test possible avec Eurofins



Biomnis

Eurofins Biomnis lance son test « Microbiote intestinal » pour toute personne en recherche de bien-être

Le microbiote intestinal, composé de 100 000 milliards de bactéries, est propre à chacun et occupe une place centrale dans la physiologie de l'organisme. Eurofins Biomnis, leader dans la biologie médicale spécialisée, lance un nouveau test permettant d'identifier et cartographier l'ensemble des bactéries présentes dans l'intestin à partir d'un simple échantillon de selles, grâce à la technique de séquençage à haut débit (NGS). Toute personne soucieuse de son équilibre intestinal ou souffrant de troubles digestifs peut se procurer le test en laboratoire de proximité ou sur le site internet www.juvenalis.com. Chaque individu bénéficiera de la signature bactérienne de son microbiote intestinal et de conseils thérapeutiques personnalisés.

Merci de votre attention !