Nantes Université

Pôle Santé
UFR des Sciences pharmaceutiques et biologiques

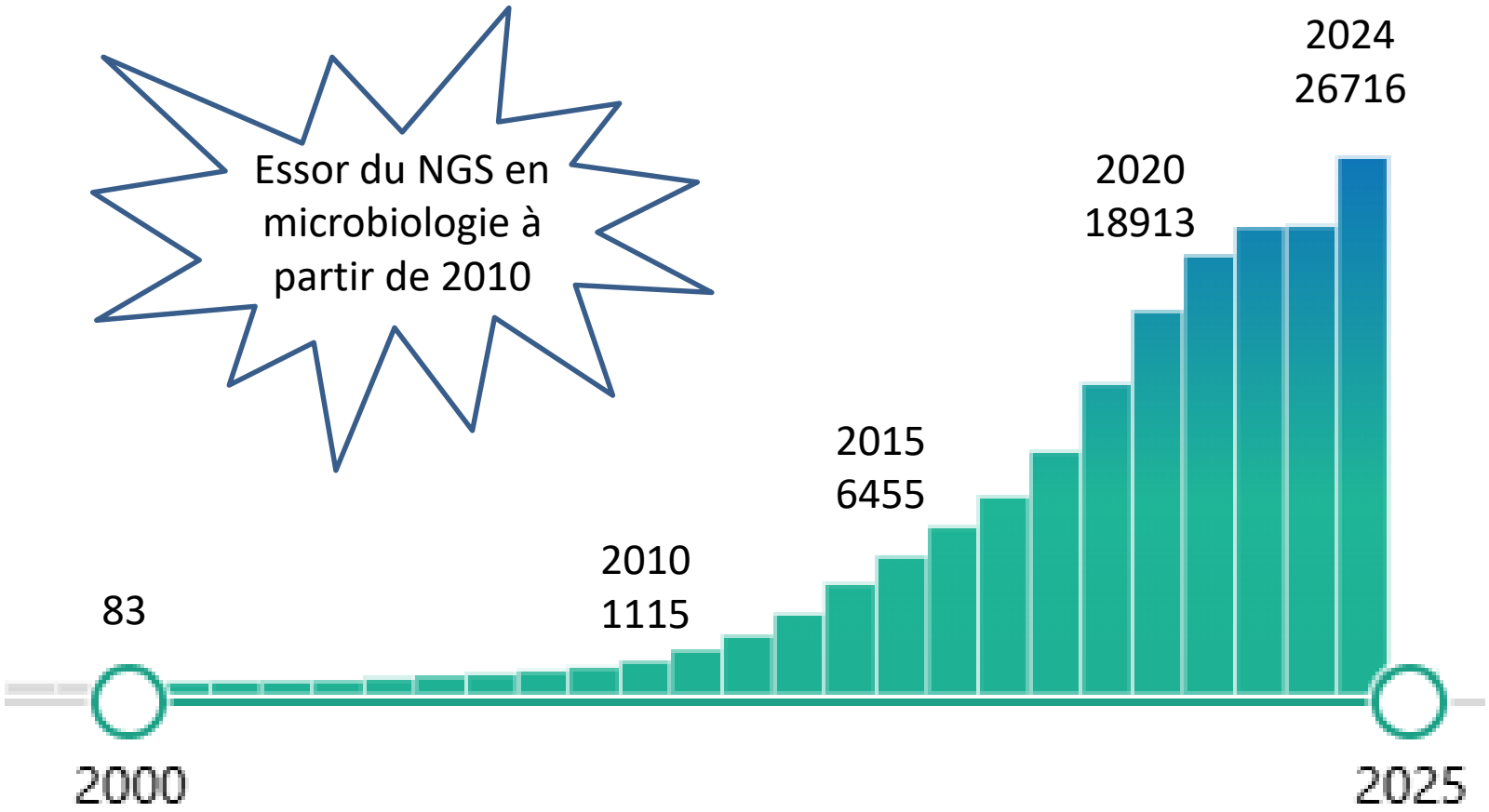
LE MICROBIOTE INTESTINAL

UN NOUVEL ORGANE

Dr Lise CREMET - MCU-PH
Service de Bactériologie - CHU de Nantes
Faculté de Pharmacie de Nantes
UMR 1064 - CR2TI Equipe 6, IRS2 Nantes Biotech
lise.cremet@univ-nantes.fr / lise.cremet@chu-nantes.fr

Janvier 2025

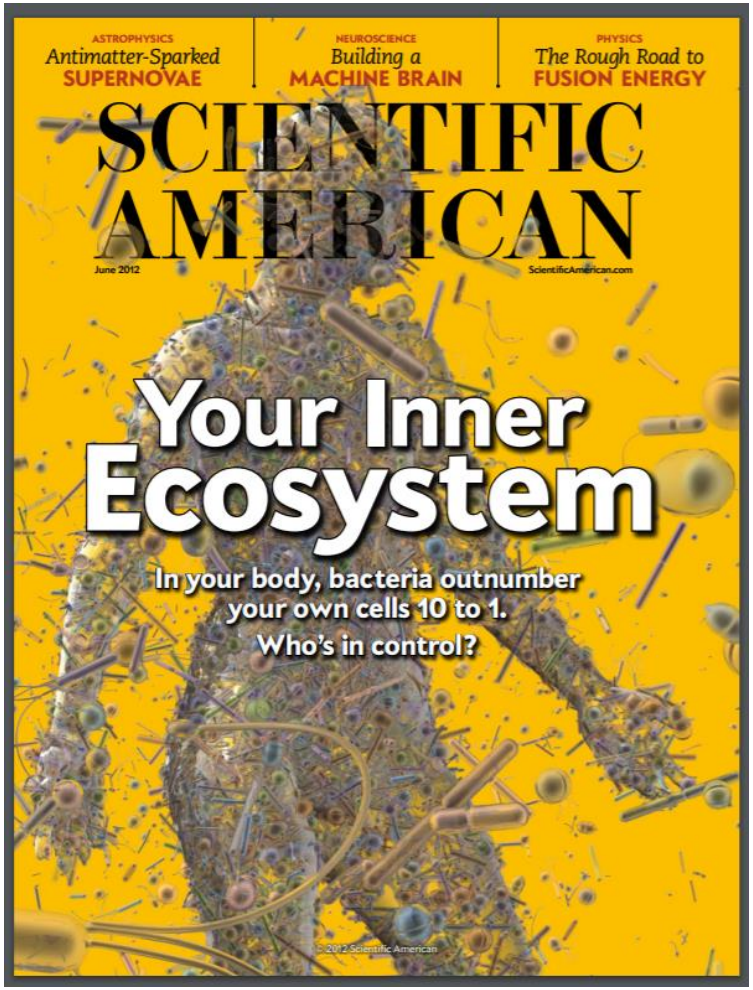
La Science du microbiome est en pleine expansion



Publication de la 1ère métaséquence de microbiomes humains : MetaHit Consortium (Quin et al. 2010. Nature)

Le microbiote intestinal, un nouvel organe au potentiel extraordinaire

- 100 000 milliards de bactéries vivant dans notre intestin
- 1-10 fois plus que le nombre de cellules humaines
- Pèse 2 kg à lui tout seul
- > 10^{11} bactéries/g de selles
- 100 fois plus de gènes que notre propre génome
- Un des écosystèmes microbiens les plus densément peuplés de la planète



Une relation symbiotique

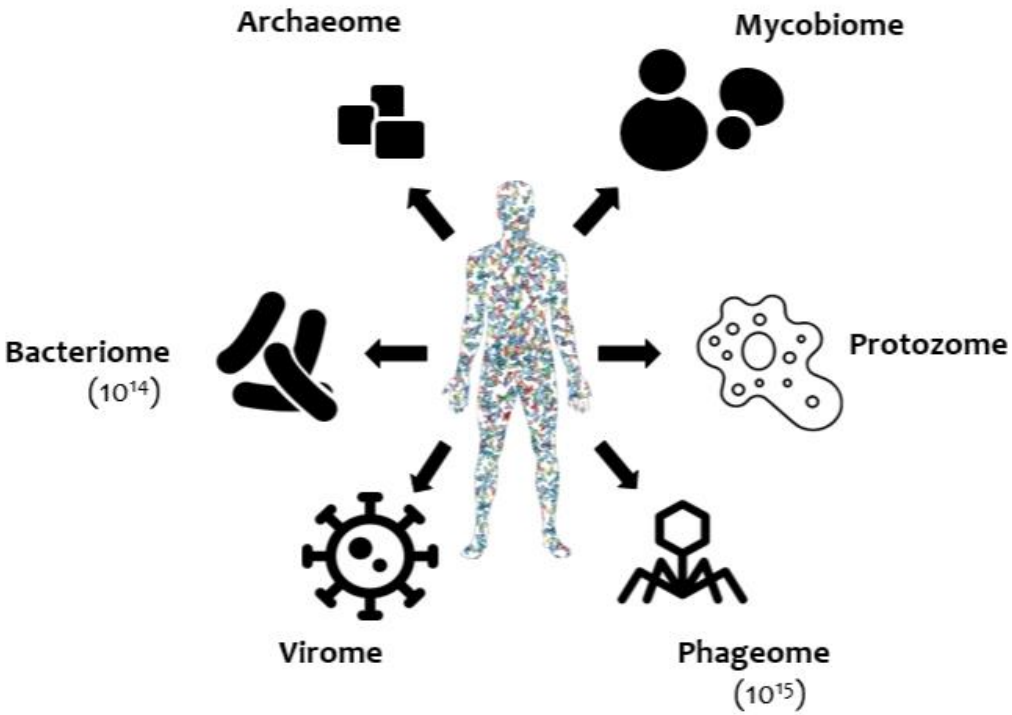
Les bactéries profitent d'un environnement stable :
- température
- oxygène
- pH
- nutriments

L'hôte gagne :

- un large spectre de capacités digestives, métabolique et nutritionnelles
- une capacités de protection contre l'intrusion de microorganisme allogènes/pathogènes (effet barrière)
- une stimulation contrôlées de son immunité

- Un déséquilibre dans sa composition = **DYSBIOSE**

Microbiome = Bactériome + …

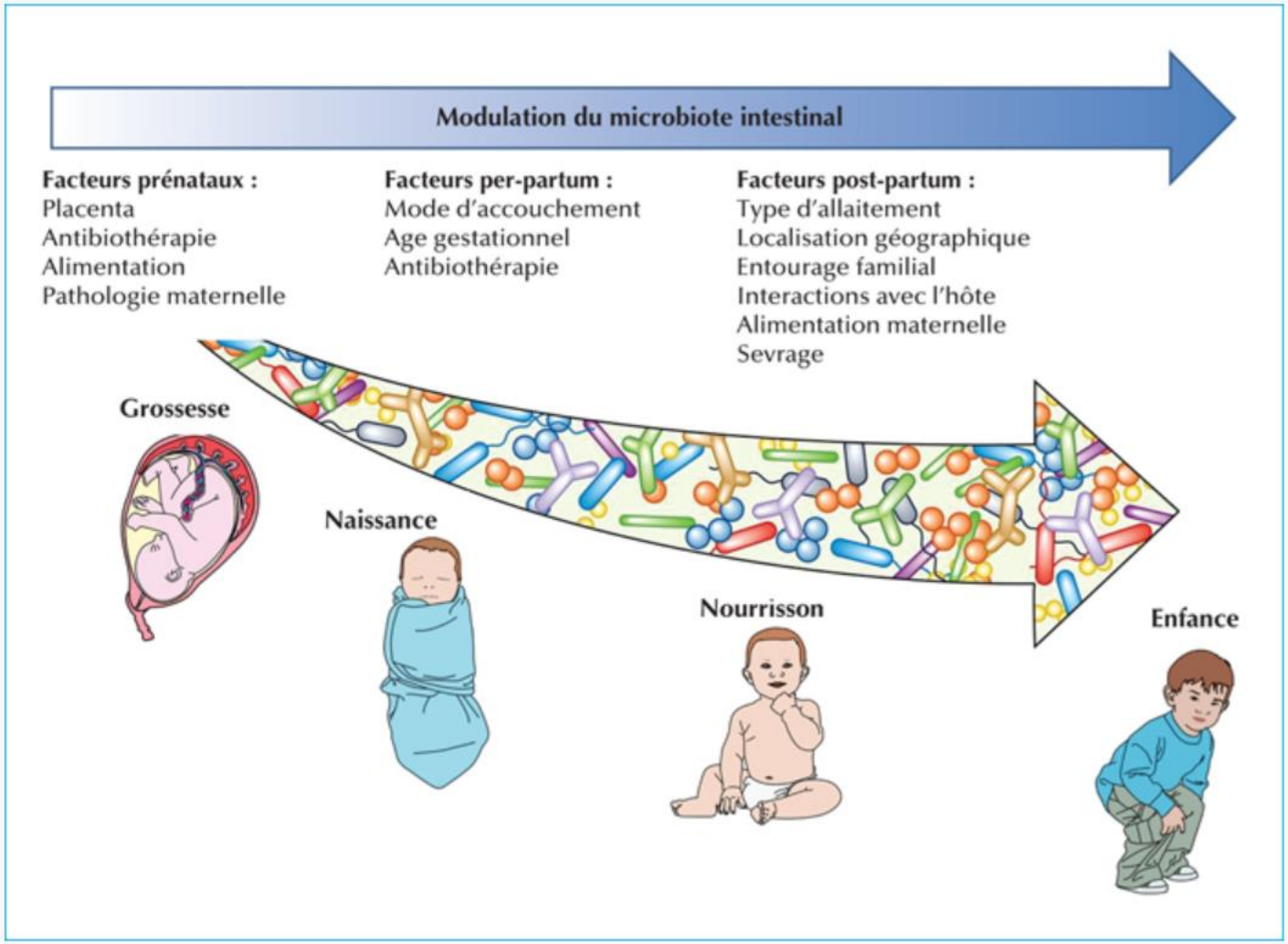


Residents
(permanent)
Visitors
(temporary)
Tourists
(probiotics)
Invaders
(pathogens)

Microbiote = ensemble des micro-organismes (bactéries, levures, champignons, protistes, virus) vivant dans un environnement spécifique.

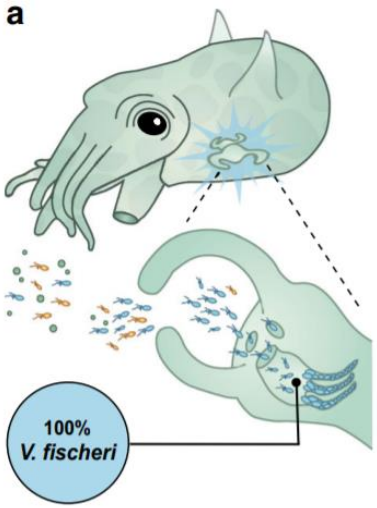
Microbiome = ensemble des génomes de micro-organismes vivant dans un organisme. Ce sont les données génétiques du microbiote

Etablissement du microbiote intestinal

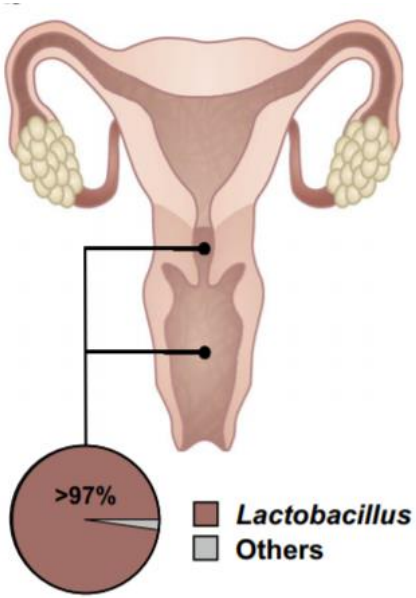


Le microbiote est considéré comme stable aux alentours de 3 ans

Contrôle de l'hôte sur son microbiote



- **Seiches sépioles bioluminescentes :**
  - Hébergent une seule espèce bactérienne
  - Utilisent la lumière symbiotique produite par *Vibrio fischeri*



- **Flore vaginale humaine :**
  - Dominée par Lactobacillus (Firmicutes)
  - Fermentation du glycogène produit sous contrôle hormonal (œstrogènes), en acides organiques
  - Production de substances antimicrobiennes (H_2O_2, bactériocines) et compétition vis-à-vis de certains nutriments (arginine)
  - Rôle protecteur vis-à-vis d'autres pathogènes

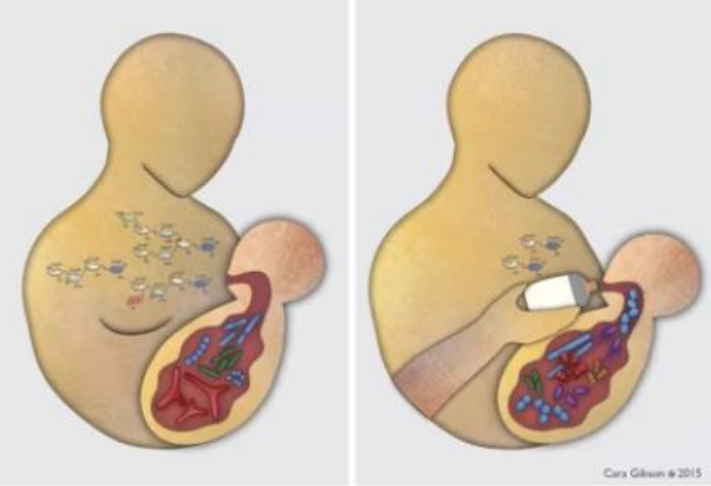
Contrôle de l'hôte sur son microbiote

- **Etablissement du microbiote à la naissance**

Lait maternel

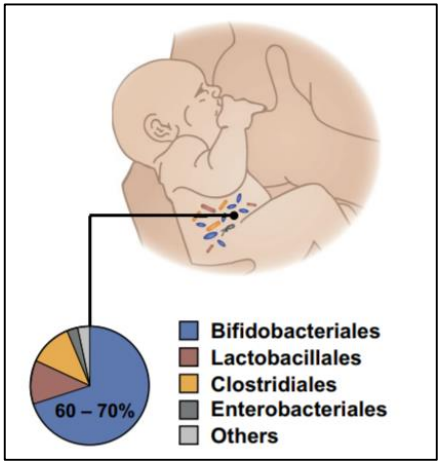
Très riche en oligosaccharides complexes non digérés par le bébé

Un assemblage unique de bactéries



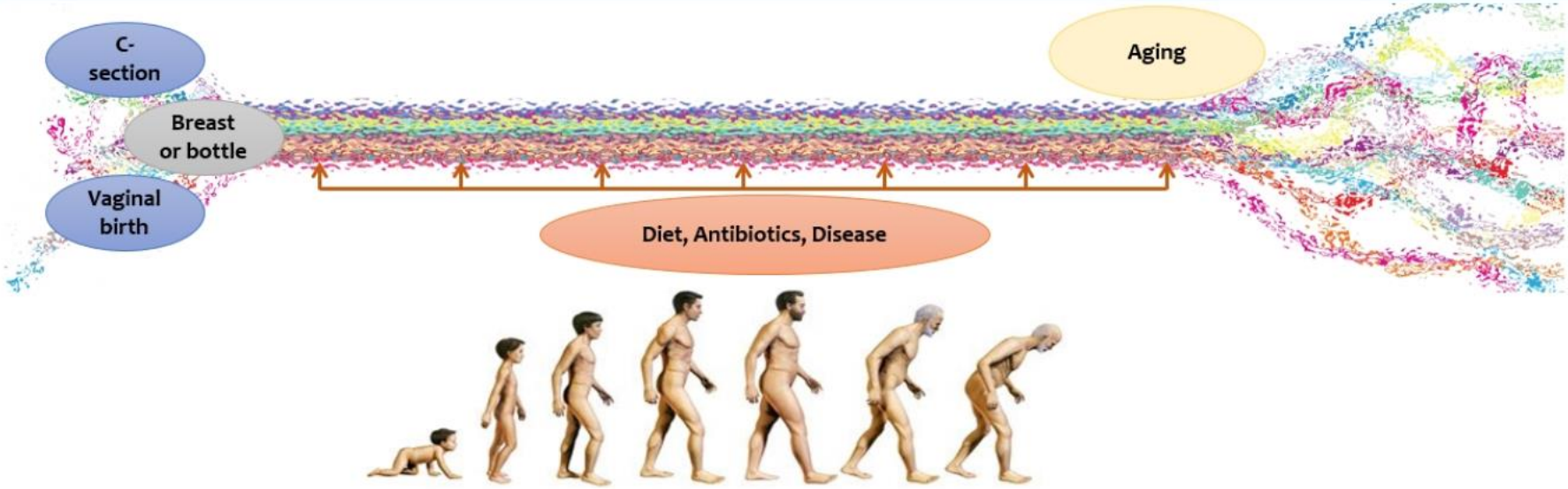
Lait maternisé

Plus ou moins supplémenté en fructo et galacto-oligosaccharides



- L'allaitement favorise l'établissement d'un microbiote dominé par des Bifidobactéries (phylum Actinobacteria), considéré comme bénéfique
- Le nné nourri au lait maternisé possède un microbiote plus diversifié
- Cette diversité pourrait être néfaste chez les nnés dont le système immunitaire est en développement
- Les divers oligosaccharides contenus dans le lait maternel pourraient permettre de contrôler les abondances relatives des différentes espèces bactériennes

Stabilisation du microbiote



- Le microbiote dominant d'un individu à l'âge adulte subit peu de variations (**résilience**)
- Il est difficile de définir un microbiote fécal normal puisqu'il existe des variations interindividuelles
- Le microbiote est caractéristique de l'individu, similaire à une « empreinte digitale »
- Cette stabilité souligne une adaptation à l'écosystème intestinal

Facteurs modulant la composition du microbiote

FACTEURS ENDOGÈNES

Génotype de l'hôte

Système immunitaire

Mucus, pH, apport O_2

Rythme circadien

Pathologies

FACTEURS EXOGÈNES

Micro-organismes en transit

Alimentation

Antibiotiques

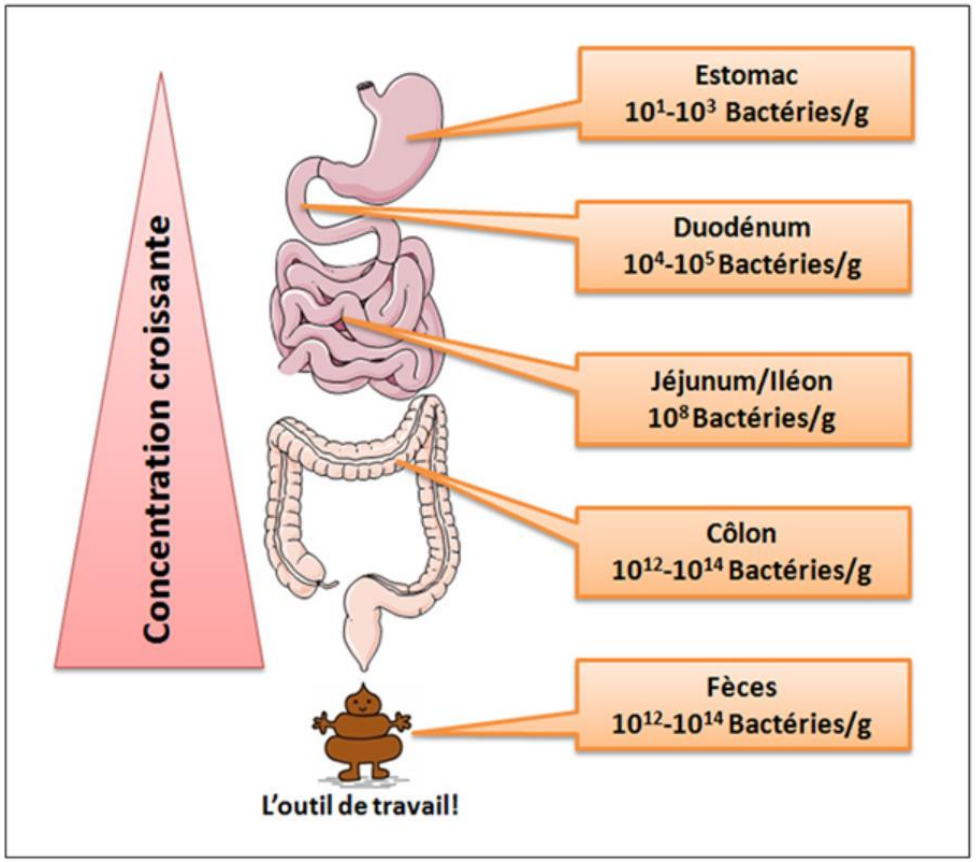
Probiotiques
Prébiotique

Environnement
(polluants, toxiques…)

Médicaments

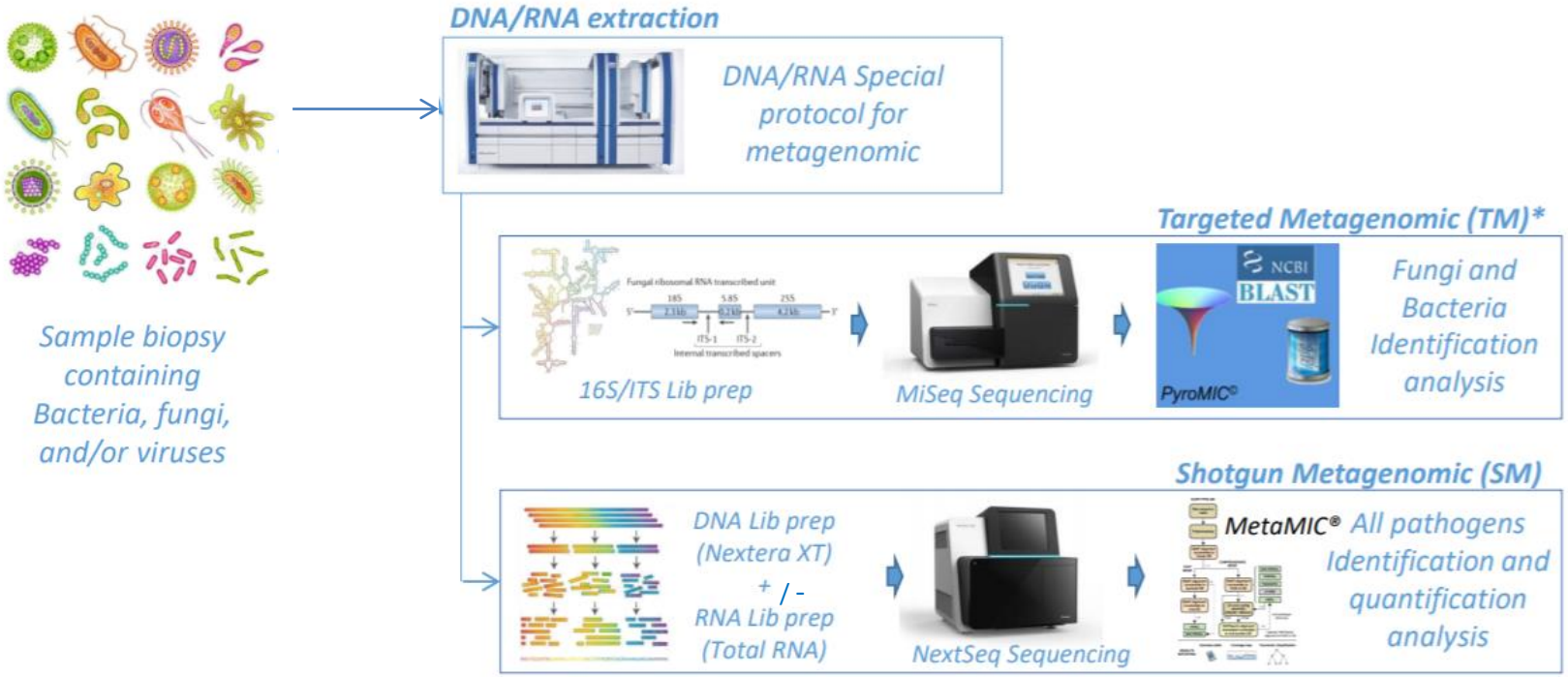
Composition du microbiote intestinal

- Diversement réparti le long du tractus gastro-intestinal
- Concentration et biodiversité les plus élevées au niveau du côlon



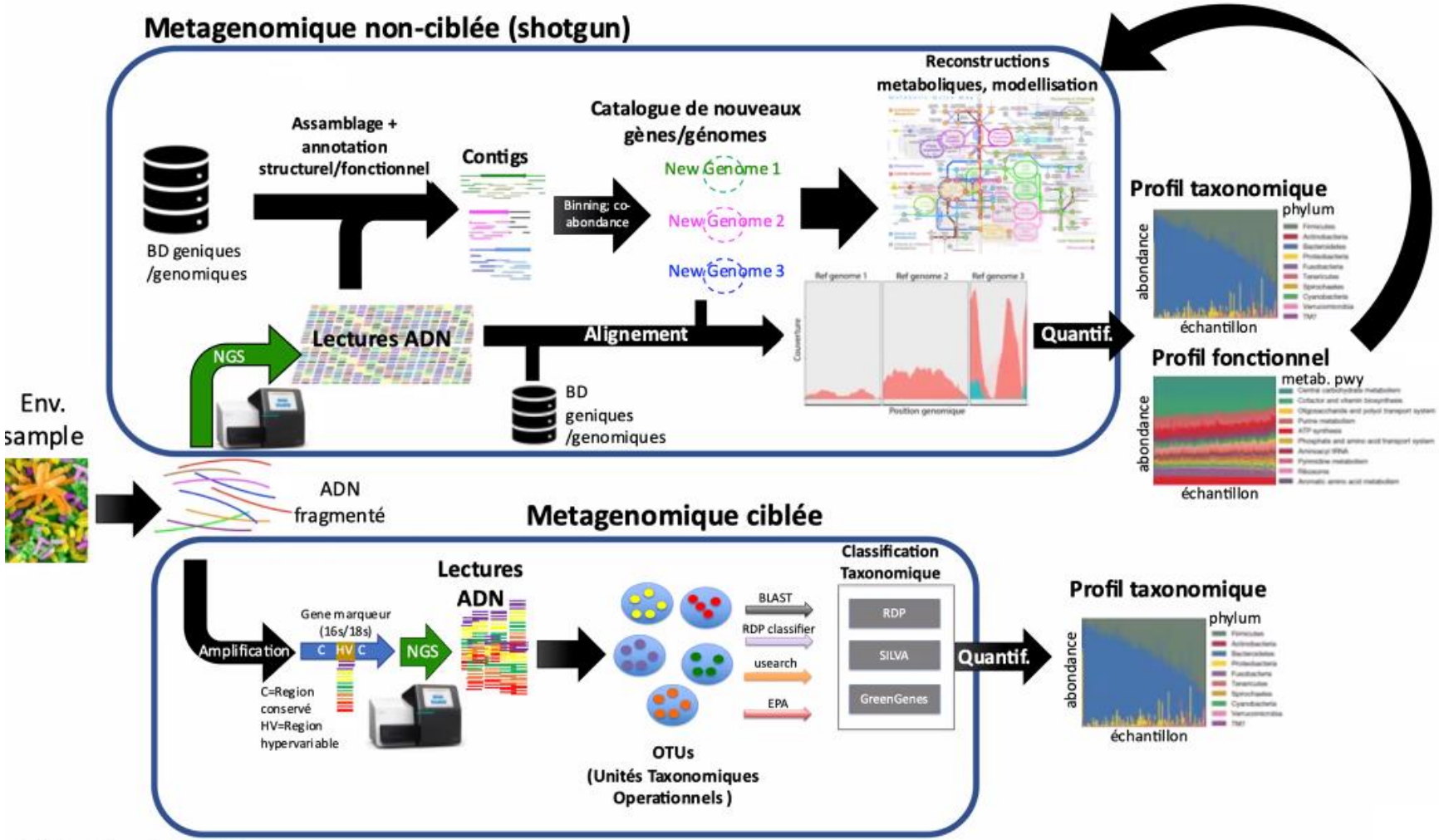
Reflet imparfait du microbiote intestinal !

Analyse métagénomique du microbiote



- Nécessité d'une standardisation des techniques et des méthodes d'analyse des données pour améliorer la comparabilité
- Comparaisons et méta-analyses limitées dans leur interprétabilité

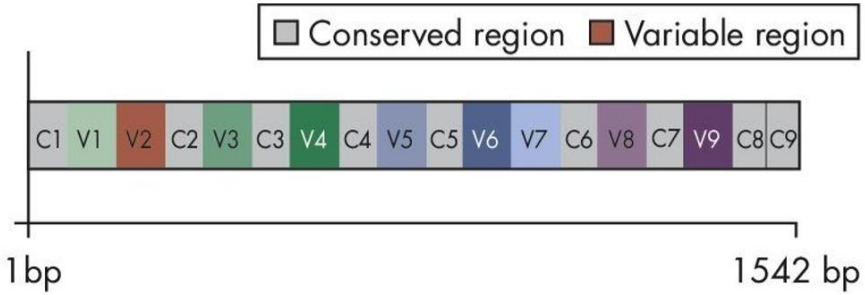
Analyse métagénomique du microbiote



E Belda, E Prifti ©

Limites du "16S" en fonction des groupes taxonomiques

- L' ADNr 16S est un **GÈNE UNIVERSEL** = chez toutes les **bactéries**
  (NB = 18S ou ITS chez les Protistes et Fungi)



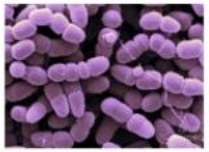
- Les régions variables n'ont pas de rôle fonctionnel important et peuvent diverger au cours de l'évolution sous l'effet des mutations neutres. Elles vont permettre de discriminer les taxons bactériens

- L'ADNr 16S est :
  - suffisamment **conservé** pour permettre une amplification et un alignement fiable
  - suffisamment **variable** pour permettre l'affiliation taxonomique et l'analyse phylogénétique

Taxonomie microbienne

Kingdom	**Bacteria**	**Bacteria**	**Bacteria**
Phylum	Proteobacteria	Firmicutes	Bacteroidetes
Class	γ Proteobacteria	Clostridia	Bacteroidia
Order	Enterobacteriales	Clostridiales	Bacteroidales
Family	Enterobacteriaceae	Clostridiaceae	Bacteroidaceae
Genus	*Escherichia*	*Clostridium*	*Bacteroides*
Species	*coli*	*perfringens*	*intestinalis*
strains			

16S rRNA OTU



OTU « unité taxonomique opérationnelle » : C'est l'équivalent d'une espèce moléculaire.

Une OTU correspond à un ensemble de bactéries dont les séquences de l'ADNr 16S présentent au moins 97% d'identité entre elles.

Composition du microbiome

- **Chaque individu adulte héberge dans son microbiote plus d'1 millier d'espèces bactériennes qui peuvent être regroupées en 5 phyla majoritaires :**

Bacillota

Firmicutes
–*Clostridium*
–*Roseburia*
–*Faecalibacterium*
–*F Prausnitzili*
–*Blautia*
–*Dorea*
–*Lactobacillus*
–*Peptostreptococcus*
–*Eubacterium*
–*Streptococcus*
–*Staphylococus*
–*Butyrivibrio*

Bacteroidota

Bacteroidetes
–*Bacteroides*
–*Prevotella*

Pseudomonadota

Proteobacteria
–*Escherichia*
–*Klebsiella*
–*Desulfovibrio*

Actinomycetota

Actinobacteria
–*Bifidobacterium*
–*Collinsella*

Fusobacteria
Fucobacteriaceae

Fusobacteriota

Verrucomicrobia
–*Akkermansia*

Verrucomicrobiota

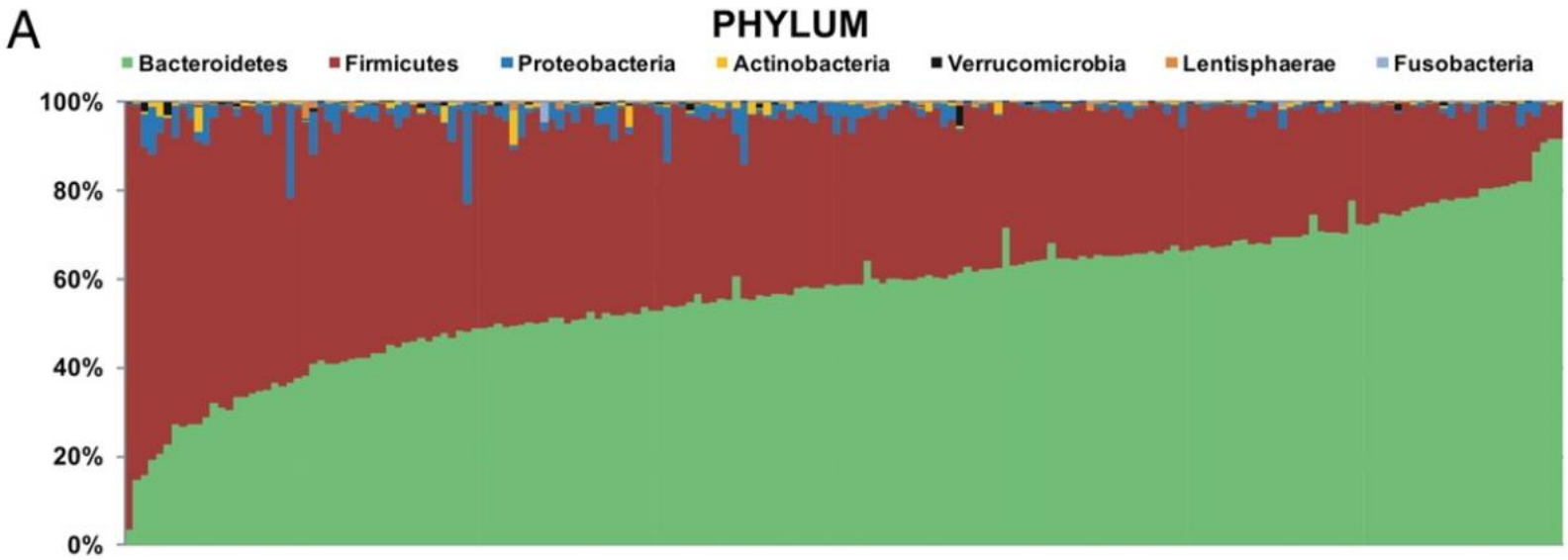
Archaea
–*Methanobrevibacter*
-*M Smithii*

Main phyla and genera with selected examples of human gut microbiota

- En très grande majorité des bactéries non cultivables par les méthodes classiques

Composition du microbiome

- Les Firmicutes et les Bacteroidetes représentent à eux seuls 90 à 99% de l'ensemble des bactéries



Gut microbiome of 170 elderly subjects

Claesson *et al*, 2011, PNAS

Composition du microbiote intestinal

- Plus d'un millier d'espèces bactériennes différentes réparties le long du système digestif
  - 99,9% bactéries anaérobies strictes
  - 0,1% bactéries anaérobies facultatives
- Les espèces du microbiote dominant sont uniquement trouvées dans les écosystèmes intestinaux (humain et animal)
- Un noyau d'espèces conservées (communauté résidente) joue un rôle majeur dans de nombreuses fonctions physiologiques du tractus gastro-intestinal

Stratification en entérotypes

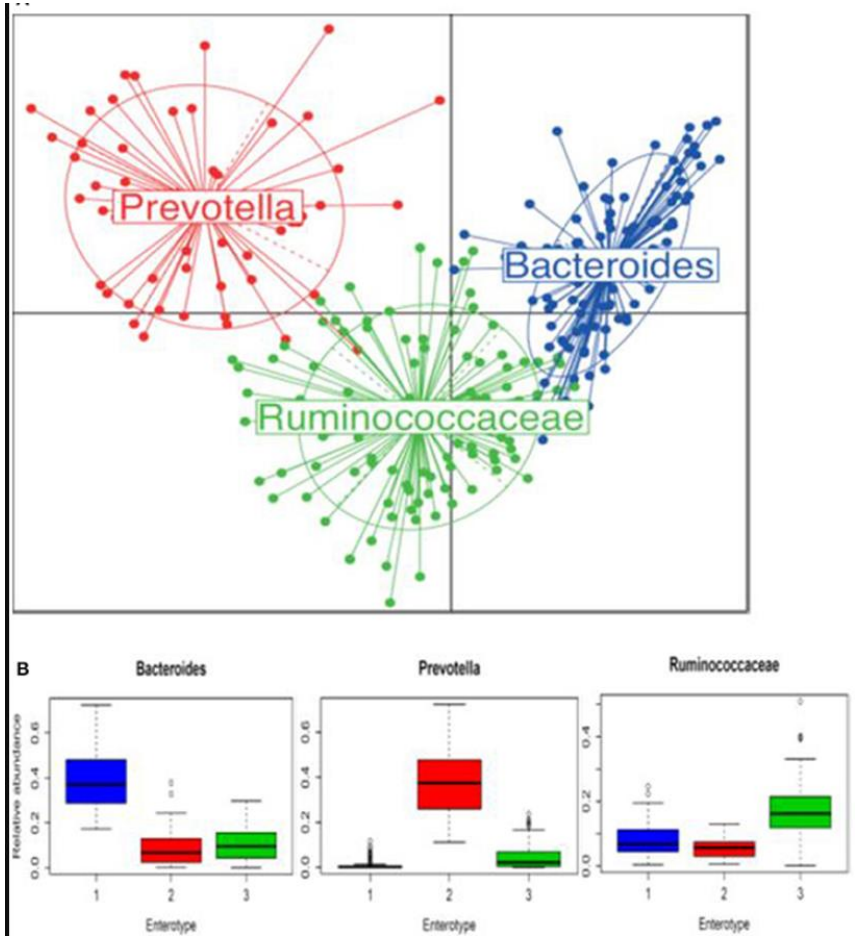
A l'image des groupes sanguins, les microbiotes coliques humains oscillent entre 3 entérotypes qui diffèrent par leur composition :

- **Type 1 : riche en Bacteroides**
  Lié aux régimes riches en protéines, sucres simples et graisses animales

- **Type 2 : riche en Prevotella**
  Lié aux régimes riches en fibres et en glucides

- **Type 3 : riche en Ruminococcus**

Indépendants de l'âge, du sexe ou de l'origine géographique, mais liés aux habitudes alimentaires

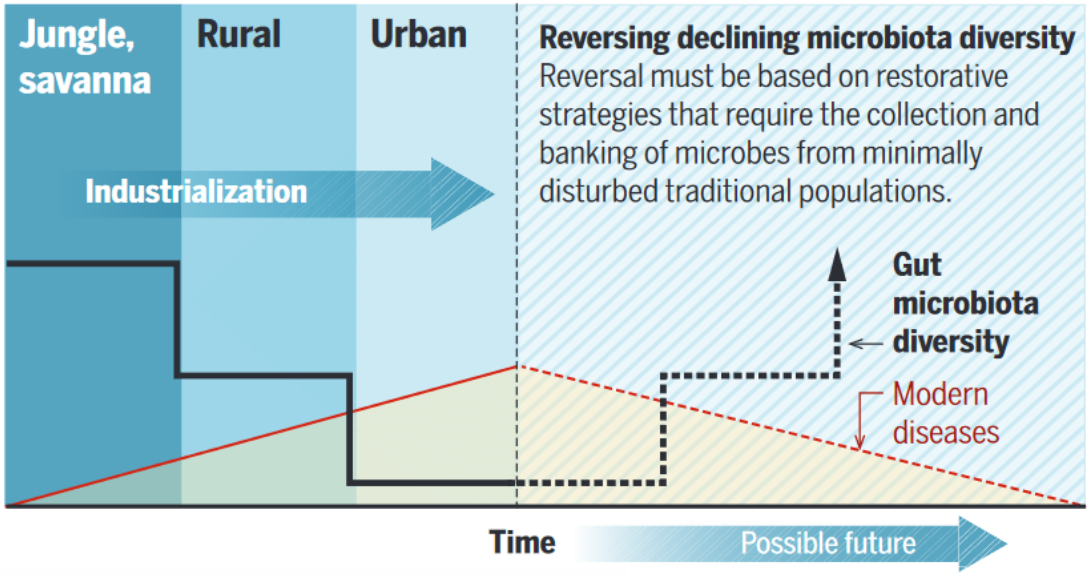


Stratification en fonction de la diversité/richesse en gènes/espèces

- La richesse/diversité en espèces dominantes est un **marqueur de santé, de la symbiose entre le microbiote et son hôte**

Declining human intestinal microbial diversity with industrialization

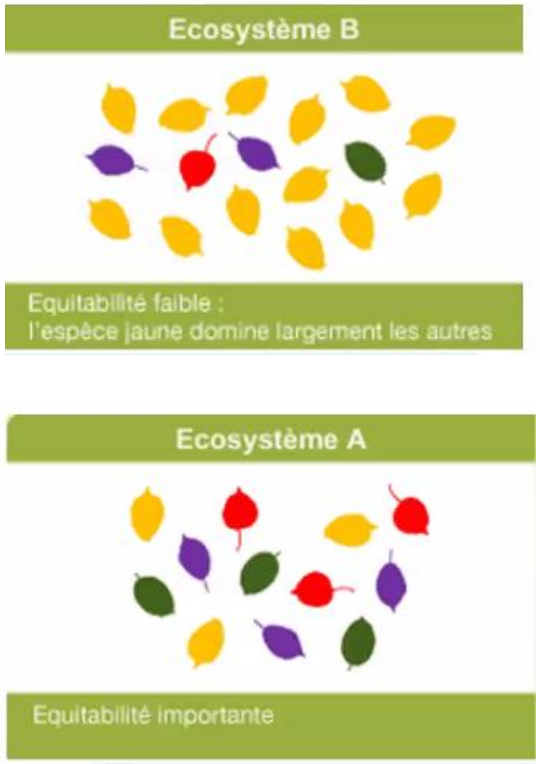
There has been a progressive decline in human gut microbiota diversity with industrialization. The compounded effects of chlorinated water, antibiotics, antiseptics, cesarean section birthing, and formula feeding may all contribute. This decline has been linked to the rise of modern diseases: obesity, asthma, food allergies, diabetes, inflammatory bowel disease, and cognitive disorders.



Dominguez Bello et al. Science 2018;362:33-4.

Stratification en fonction de la diversité/richesse en gènes/espèces

- La richesse/diversité en espèces dominantes est un **marqueur de santé, de la symbiose entre le microbiote et son hôte**
  - **Diversité alpha:** au sein d'un échantillon unique (reflète le nombre d'espèces et leur abondance relative) ***Ex. indice de Shannon***
  - **Richesse:** Nombre d'espèces par échantillon



Shannon minimal :

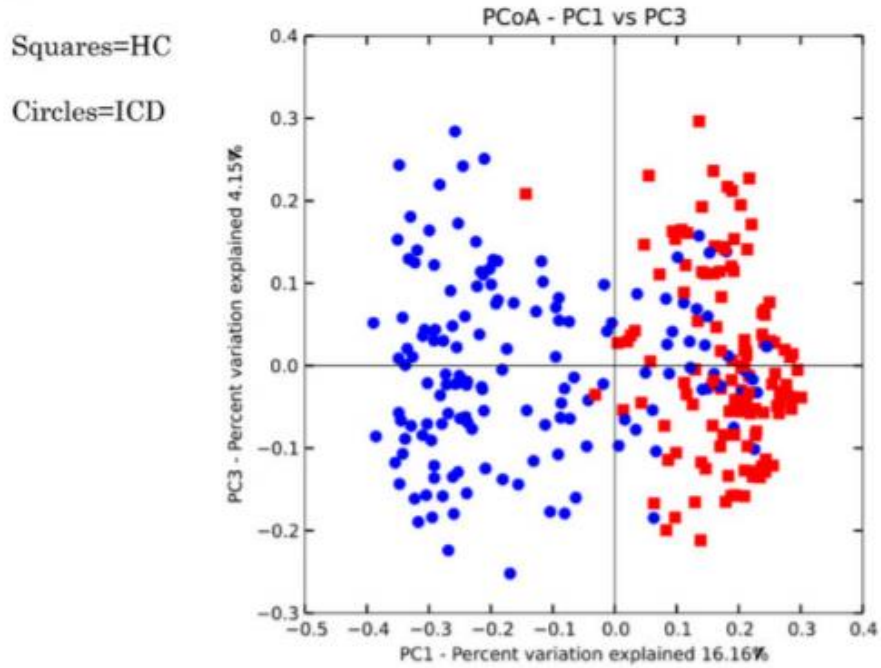
Diversité la plus faible, tous les individus de la population sont de la même espèce (ou une seule espèce est sur-représentée alors que toutes les autres ne contiennent qu'un seul individu)

Shannon maximal :

Tous les individus sont équitablement répartis entre les espèces

Stratification en fonction de la diversité/richesse en gènes/espèces

- La richesse/diversité en espèces dominantes est un **marqueur de santé, de la symbiose entre le microbiote et son hôte**
  - **Diversité beta:** comparaison entre différents échantillons, fréquemment représentée sous forme d'une ***analyse en coordonnées principales (PCoA)***

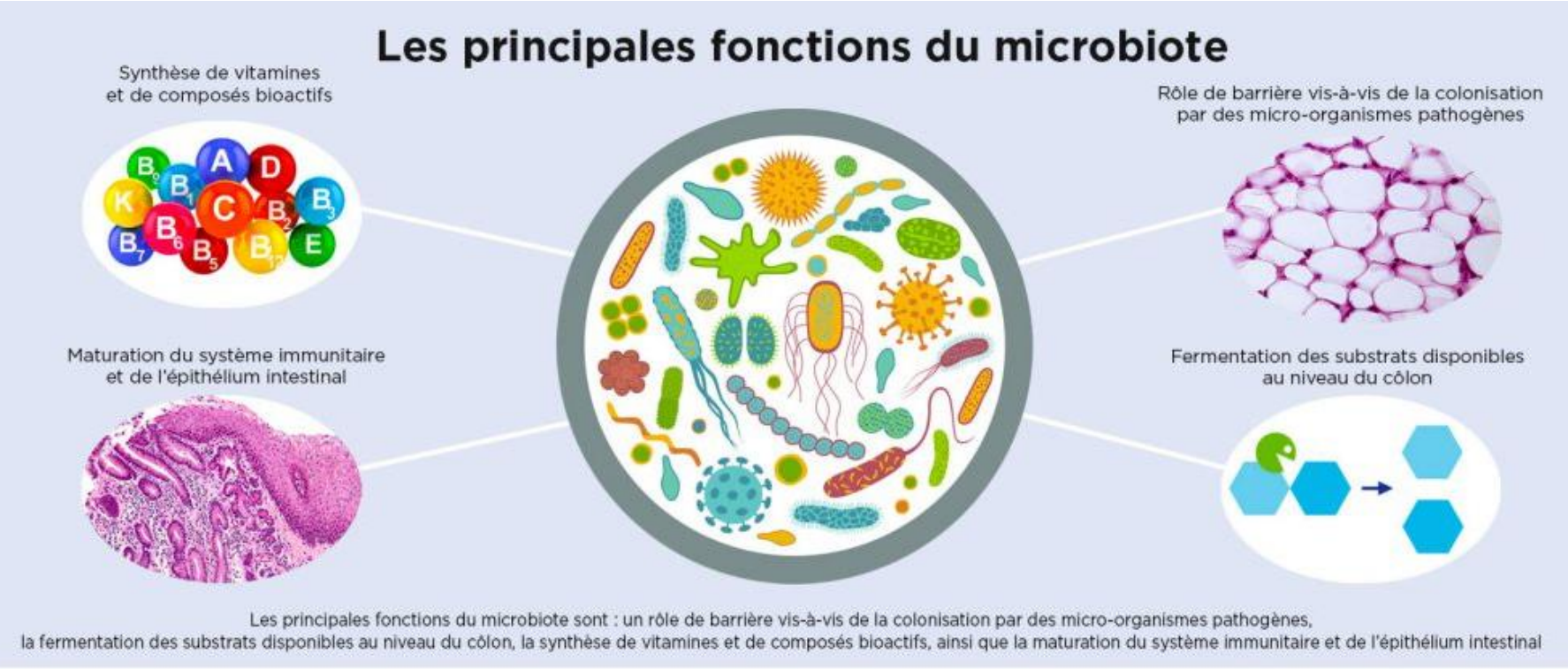


- Sujets sains
- Maladie de Crohn

Figure 10. PCoA plots of healthy controls versus subjects with IBD

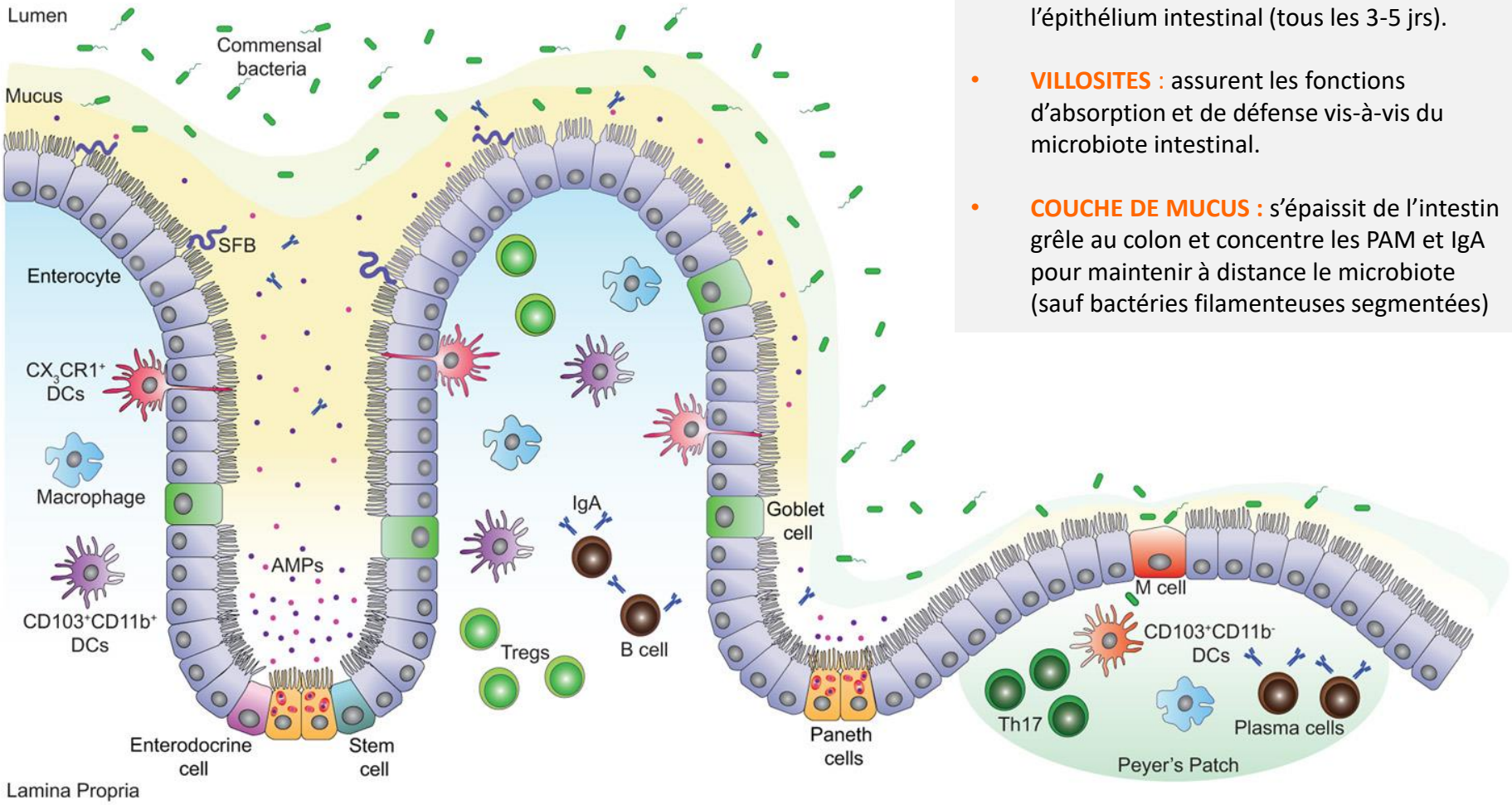
FEBS Lett. 2014 November 17; 588(22): 4223–4233.

Pourquoi sommes-nous hôtes d'un microbiote intestinal ?



Les principales fonctions du microbiote sont : un rôle de barrière vis-à-vis de la colonisation par des micro-organismes pathogènes, la fermentation des substrats disponibles au niveau du côlon, la synthèse de vitamines et de composés bioactifs, ainsi que la maturation du système immunitaire et de l'épithélium intestinal

Epithélium intestinal et microbiote : une relation contrôlée et appréciée

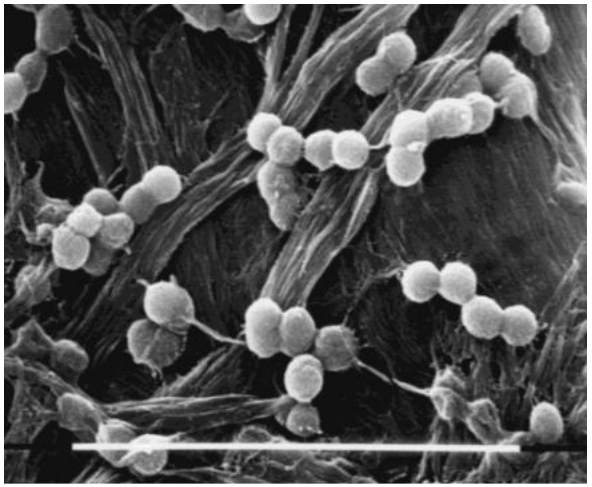


- **CRYPTES :** zone de prolifération cellulaire qui permet le renouvellement constant de l'épithélium intestinal (tous les 3-5 jrs).
- **VILLOSITES :** assurent les fonctions d'absorption et de défense vis-à-vis du microbiote intestinal.
- **COUCHE DE MUCUS :** s'épaissit de l'intestin grêle au colon et concentre les PAM et IgA pour maintenir à distance le microbiote (sauf bactéries filamenteuses segmentées)

Microbiote intestinal et capacités métaboliques

- L'activité métabolique du microbiote intestinal correspond à la capacité des espèces bactériennes à transformer les composés alimentaires (protéines, glucides, fibres alimentaires non digérés dans la partie supérieure du tractus digestif) en molécules plus petites (métabolites) assimilables par l'hôte
- La biotransformation de ces substrats implique l'**existence d'une variété d'activités métaboliques** des microorganismes en présence
- La majorité des métabolites formés ont des **effets bénéfiques** pour la santé (ex. acides gras à chaine courte, vitamines…) mais certains peuvent avoir des **effets délétères** (ex. gaz, sulfures…)

***Ruminococcus* dégradant des fibres de cellulose**



Autres voies métaboliques

Table 1 | **Products of gut microbial fermentation of carbohydrates, protein and dietary polyphenols**

Metabolite	Pathway	Genera or species
Acetate	Pyruvate decarboxylation to acetyl-CoA	*Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Prevotella* spp., *Ruminococcus* spp.[21,26–28]
	Wood–Ljungdahl pathway	*Blautia hydrogenotropphica*, *Clostridium* spp., *Streptococcus* spp.[21,26–28]
Propionate	Acrylate pathway	*Coprococcus catus*, *Eubacterium hallii*, *Megasphaera elsdenii*, *Veillonella* spp.[21,26–28]
	Succinate pathway	*Bacteroides* spp., *Dialister* spp., *Phascolarctobacterium succinatutens*, *Veillonella* spp.[21,26–28]
	Propanediol pathway	*Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus obeum*, *Salmonella enterica*[21,26–28]
Butyrate	Classical pathway via butyrate kinase	*Coprococcus comes*, *Coprococcus eutactus*[21,26–28]
	Alternate pathway using exogenous acetate	*Anaerostipes* spp., *C. catus*, *E. hallii*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacteerium prausnitzii*, *Roseburia* spp.[21,27,28,35]
Short-chain fatty acids and branched-chain fatty acids	Amino acid fermentation through various dissimilatory proteolytic reactions	*Acidaminococcus* spp., *Acidaminobacter* spp., *Campylobacter* spp., Clostridia spp., *Eubacterium* spp., *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp.[21,26–28,44]
'Kynurenines' (kynurenine and its derivatives)	Various bacterial enzymes homologous to mammalian enzymes of the kynurenine pathway	*Lactobacillus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*[89], *Pseudomonas fluorescens*[95] Putative: *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp., *Burkholderia* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Shewanella* spp., *Bacillus* spp., members of Rhodobacteraceae, Micrococcaceae and Halomonadaceae families[95]
Indole	Hydrolytic β-elimination of tryptophan to indole (tryptophanase)	*Achromobacter liquefaciens*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides thetaiotamicron*, *Escherichia coli*, *Paracolobactrum coliforme*, *Proteus vulgaris*[11,89]
Indole derivatives	Multiple	*Bacteroides* spp., *Clostridium* spp. (*Clostridium sporogenes*, *Clostridium cadaveris*, *Clostridium bartlettii*), *E. coli*, *Lactobacillus* spp., *E. halli*, *Parabacteroides distasonis*, *Peptostreptococcus* spp. (*Peptostreptococcus anaerobius*)[4,11,89,167]

Krautkramer et al, Nature Rev Microbiol 2021;19:77–94.

Autres voies métaboliques

Table 1 | **Products of gut microbial fermentation of carbohydrates, protein and dietary polyphenols**

Metabolite	Pathway	Genera or species
Tryptamine	Decarboxylation of tryptophan	*C. sporogenes*, *Ruminococcus gnavus*[168]
Serotonin	Induction of host synthesis[a]	Indigenous spore-forming bacteria, dominated by *Clostridium* spp.[59] and *Turicibacter* spp.[103]
Histamine	Decarboxylation of histidine (histidine decarboxylase (HDC))	*E. coli*, *Morganella morganii*, *Lactobacillus vaginalis*[105] Putative: *Fusobacterium* spp.[101]
Imidazole propionate (ImP)	Non-oxidative deamination of histidine to urocanate followed by reduction of urocanate to ImP by urocanate reductase (UrdA)	*Aerococcus urinae*, *Adlercreutziae equolifaciens*, *Anaerococcus prevotii*, *Brevibacillus laterosporus*, *Eggerthella lenta*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Shewanella oneidensis*, *Streptococcus mutans*[106]
Dopamine	Decarboxylation of levodopa (L-DOPA) via tyrosine decarboxylase (TyrDC)	*Enterococcus* spp. (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, 77 human isolates of *Enterococcus* spp.), *Lactobacillus brevis*, *Helicobacter pylori*[107,108]
p-Cresol	From tyrosine or phenylalanine via two pathways: direct cleavage of the Cα–Cβ bond in tyrosine to yield *p*-cresol by tyrosine lyase; and a series of reactions involving transamination, deamination and decarboxylation of tyrosine or phenylalanine via formation of the cresol precursor phenylacetic acid[4,169]	Assay proven: *Blautia hydrogenotrophica*, *Clostridioides difficile*, *Olsenella uli*, *Romboutsia lituseburensis*[169] Predicted: *Acidaminococcus fermentans*, *Anaerococcus vaginalis*, *Anaerostipes* spp., *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium infantis*, *Blautia* spp., *Citrobacter koseri*, *Clostridium* spp., *Eubacterium siraeum*, *Fusobacterium* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus* spp., *M. elsdenii*, *Roseburia* spp., *Ruminococcus* spp., *Veillonella parvula*[169]
Phenylacetylglutamine (PAGln) and phenylacetylglycine (PAGly)	Synthesized during host hepatic phase II metabolism via conjugation of either glutamine or glycine to phenylacetic acid, an intermediate in microbial fermentation of phenylalanine[4,117]	Conjugation of phenylacetic acid to glutamine or glycine occurs in the host liver; see *p*-cresol (above) for information about its precursor, phenylacetic acid

[a]Despite studies identifying genomic potential within the microbiota for serotonin production[101], there are no reports to our knowledge of validated serotonin synthesis by the mammalian gut microbiota.

Krautkramer et al, Nature Rev Microbiol 2021;19:77–94.

Autres voies de biosynthèse

- **Vitamines :**
  - Vitamine K (Facteurs II, VII, IX, X – Coagulation)
  - Vitamine B12 (cobalamine – son déficit entraine une anémie)
  - Vitamine B8 (Biotine)
  - Vitamine B2 (Riboflavine)

- **Bactériocines** (toxines produites pour tuer/inhiber d'autres espèces bactériennes) **:**
  - Effet sur la régulation des populations commensales et effet barrière vis à vis des bactéries pathogènes

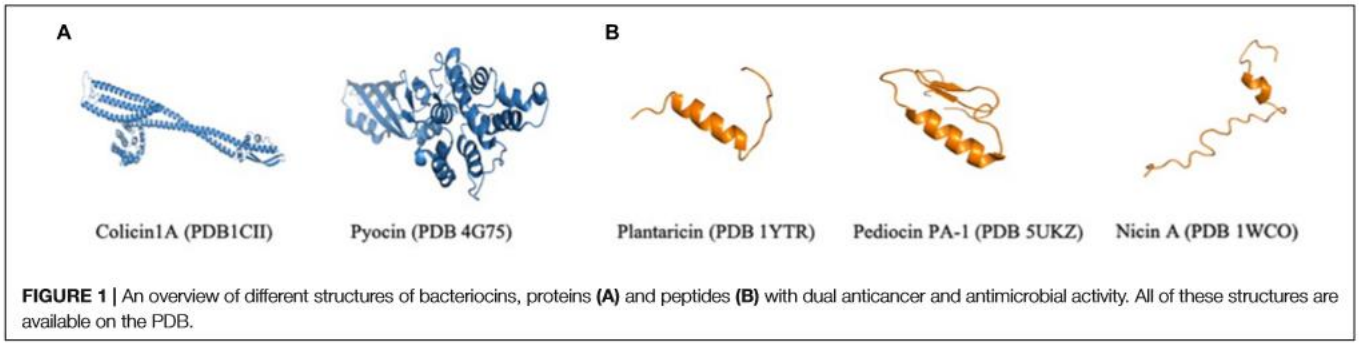
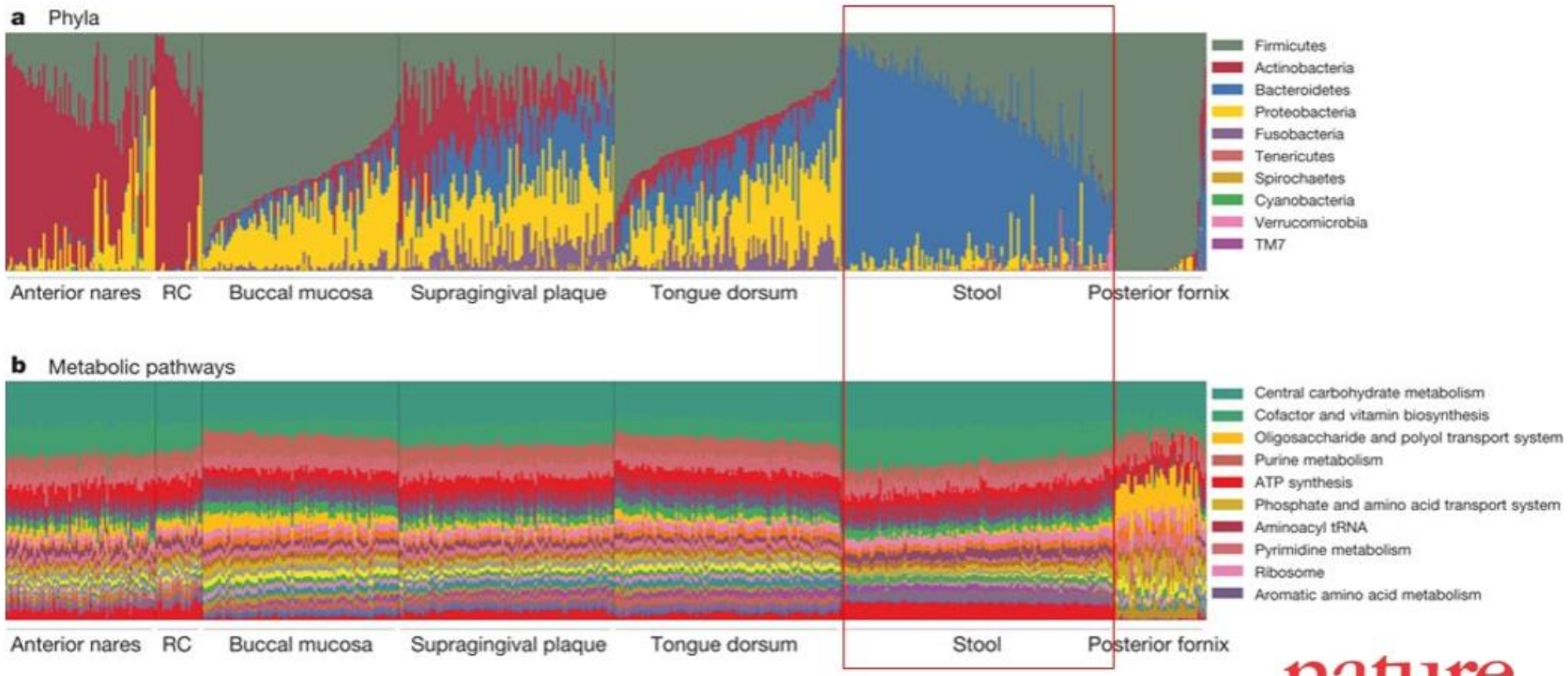


FIGURE 1 | An overview of different structures of bacteriocins, proteins **(A)** and peptides **(B)** with dual anticancer and antimicrobial activity. All of these structures are available on the PDB.

Rodrigues et al, 2019 Frontiers in microbiology

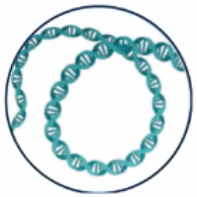
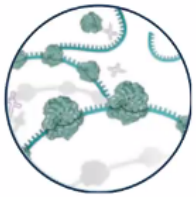
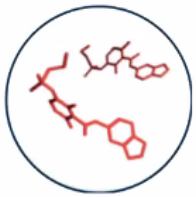
- Alors que la composition phylogénétique du microbiote peut être très différente d'un sujet sain à l'autre, **les fonctions exercées sont très semblables**



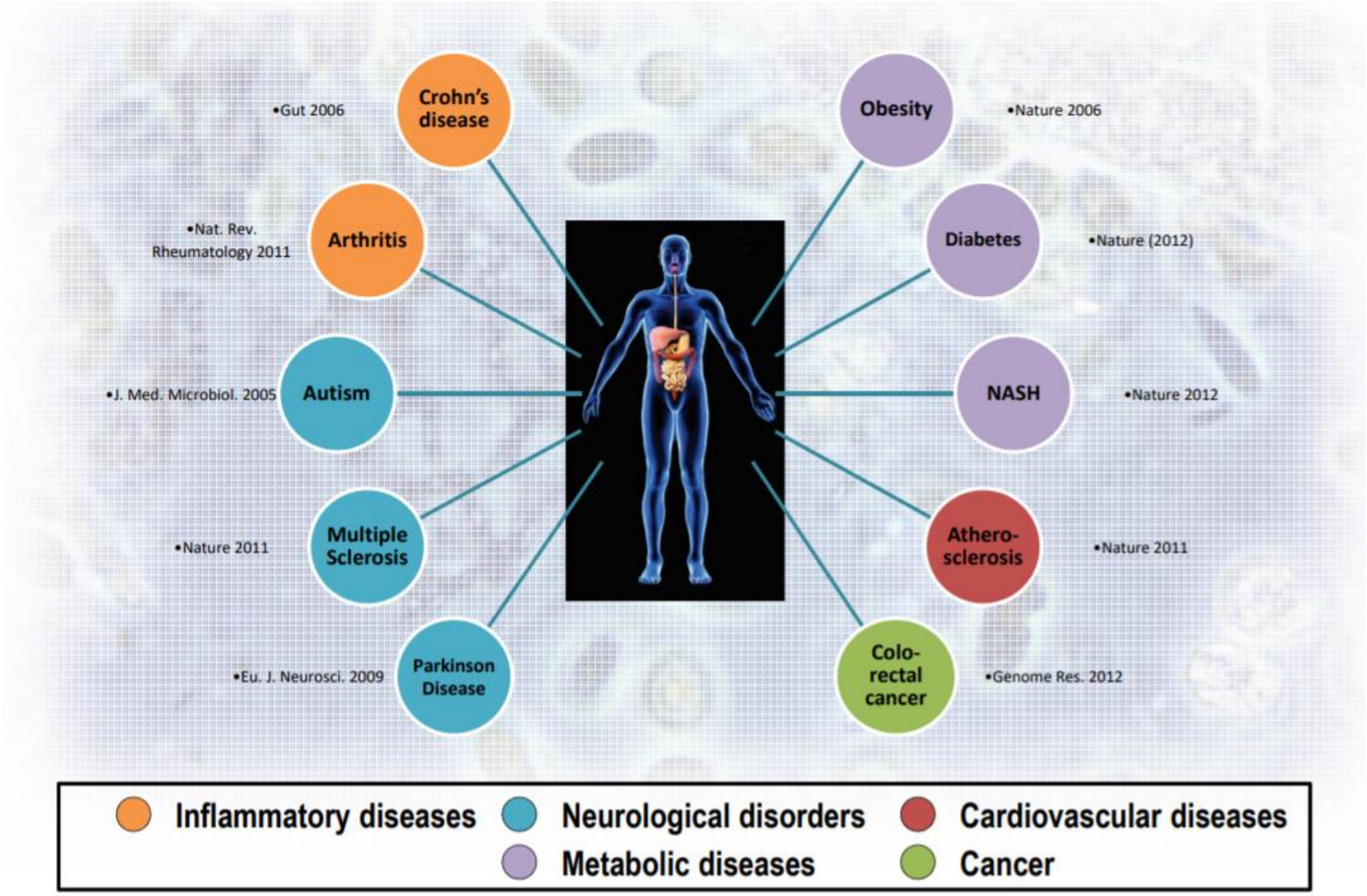
nature
486, 207-14 (2012)

- Cette homogénéité de fonction s'expliquerait par la **redondance**, entre diverses espèces bactériennes, d'un certain nombre **d'activités métaboliques essentielles** au fonctionnement de l'écosystème

The study of « Meta-omics »

Metagenomics	Metatranscriptomics	Metaproteomics	Metabolomics
			
16S sequencing Shotgun sequencing	RNA sequencing	Mass spectrometry (MS)	MS or Nuclear Magnetic Resonance (NMR)
Who is here? What can they do?	What are they doing?	What are the proteins operating in the system?	What are the chemical fingerprints that cellular processes leave behind?

Dysbiose et maladies



Le microbiome : pathologies et santé

The human superorganism

Human cells + microbial cells

Genome + Microbiome

FIXED **MUTABLE**

The microbiome represents both a target and a source of therapeutic or prophylactic interventions to restore or protect health

- Acne
- Antibiotic-associated diarrhoea
- Arthritis
- Asthma/allergies
- Atherosclerosis
- Autism
- Autoimmune diseases
- Cancer
- Dental caries
- Depression and anxiety
- Diabetes
- Eczema
- Gastric ulcers
- Infections
- Inflammatory bowel diseases
- Malnutrition
- Metabolic syndrome
- Necrotizing enterocolitis
- Obesity
- Parkinson's disease
- Psoriasis
- Vaginosis

Colin Hill, ECCMID 2018

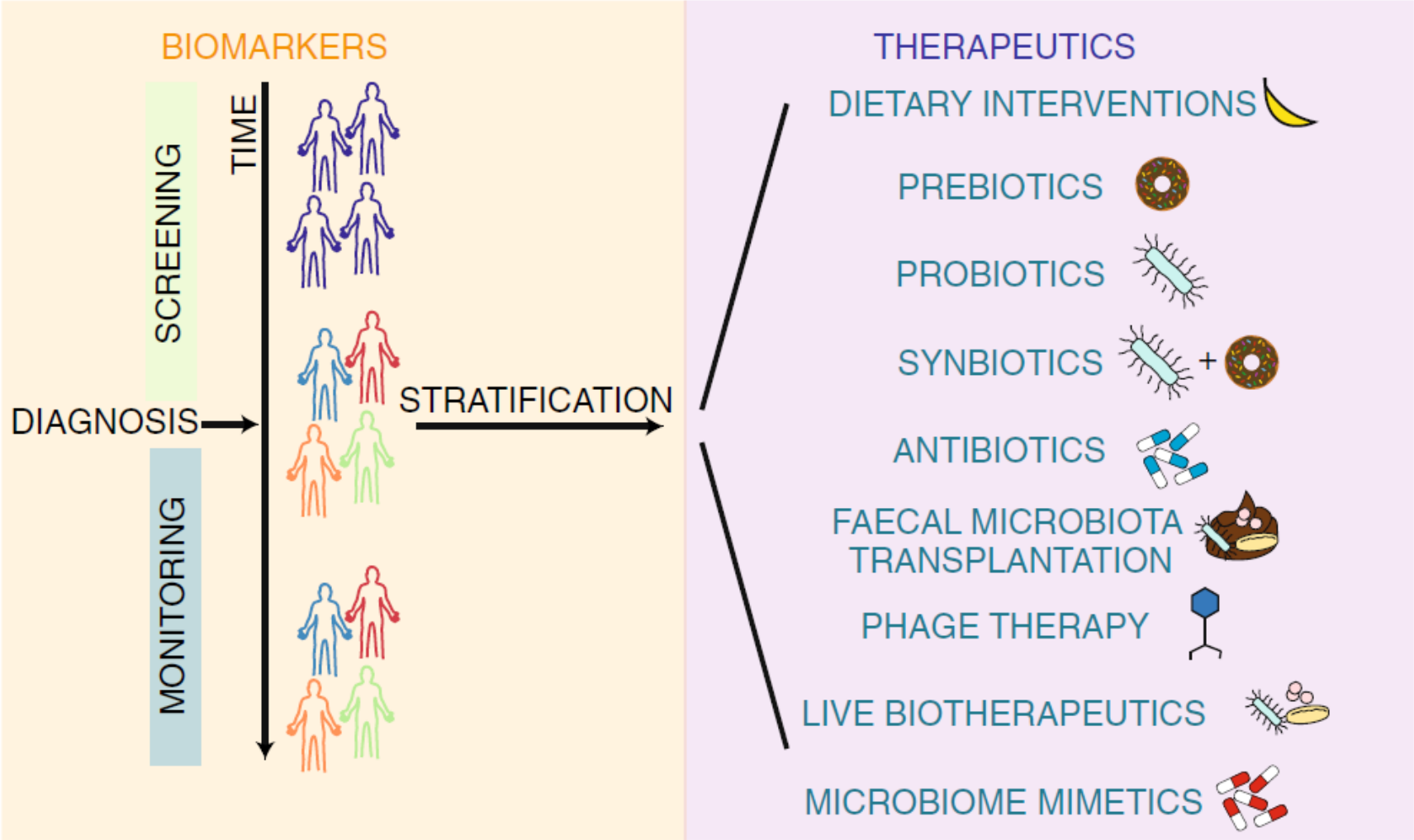
Projet Le French Gut

- Projet de recherche ambitieux et unique en France rassemblant différents partenaires publics et privés pour approfondir les connaissances sur le microbiote et son lien avec la santé et l'alimentation et ouvrir la voie à des diagnostics et thérapies innovantes
- Cartographier et comprendre l'hétérogénéité des microbiotes intestinaux sains français, les facteurs qui les impactent, ainsi que leurs déviations dans les maladies chroniques.

- **D'ici <u>2027</u>, les selles de <u>100 000 volontaires</u> ainsi que les données nutritionnelles et cliniques associées seront recueillies.**

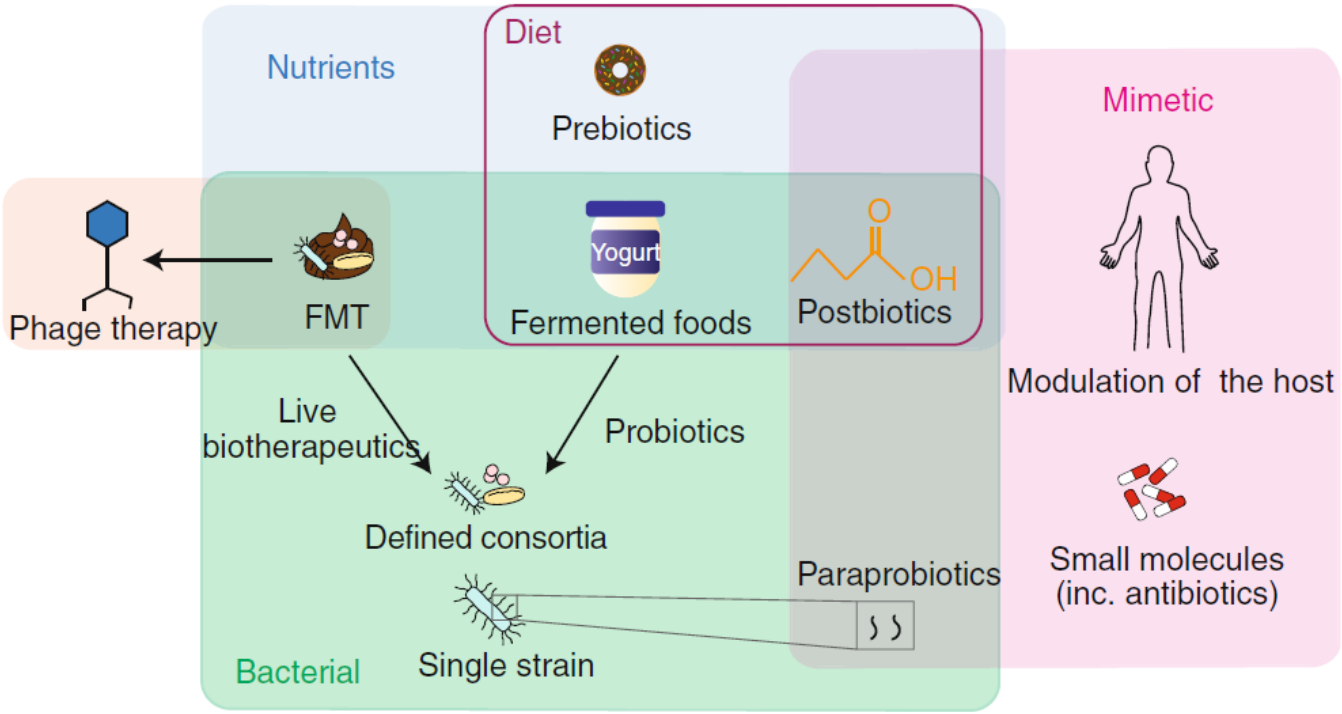
Pour devenir volontaire :

Nouvelles possibilités thérapeutiques / préventives personnalisées



Gulliver et al, Aliment Pharmacol Ther. 2022;56:192–208.

Options préventives / thérapeutiques



Ex. Produits fermentés :

- Choucroute
- Kimchi
- Kéfir
- Kombucha
- Miso
- Yahourts

Ex. Probiotiques traditionnels :

- Bifidobacterium sp
- Lactobacillus sp
- Streptococcus sp
- Saccharomyces sp

Ex. Prébiotiques (compléments alimentaires, formules infantiles, symbiotiques) :

- Lactulose
- Oligosaccharides pectiques
- Galacto-oligosaccharides, fructo-oligosaccharides
- Polydextroses
- Inuline

Gulliver et al, Aliment Pharmacol Ther. 2022;56:192–208.