



# Microbiote et allergie



**Bouchaud Grégory, CR**

L'unité de recherche de l'institut du thorax  
Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291  
Nantes, France



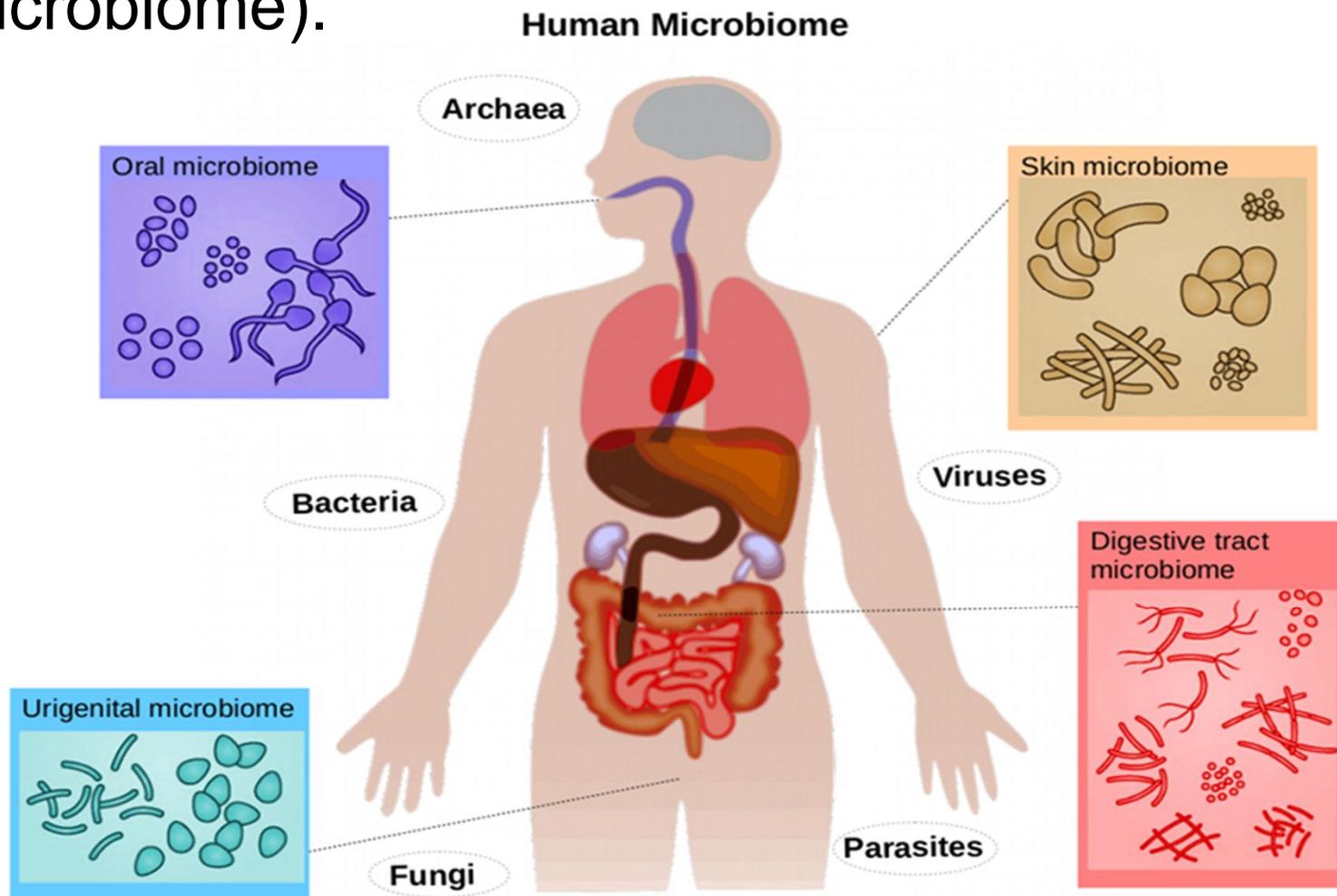
**Gregory.bouchaud@inra.fr**





# *Le microbiote*

- $\Sigma$  microbes, éléments génomiques et leurs interactions dans une niche écologique donnée (microbiome).





# *Le microbiote*

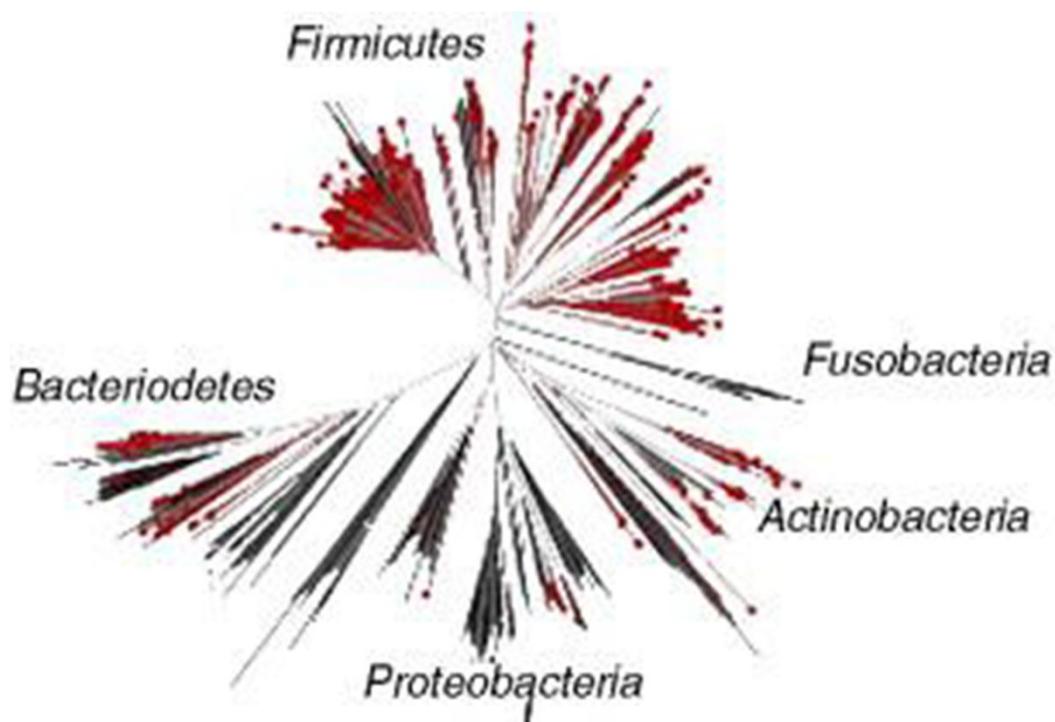
---

- Le microbiote varie (composition, diversité) selon les sites (peau, poumons, intestin....) → **originalité de site et d'individus**
- Son établissement est liée à l'hôte donc fortement **influençable** (antibiotique, alimentation, environnement...)
- Retard ou altération du microbiote → risque accrue de pathologies chroniques : allergies, obésité....



# Structure du microbiote

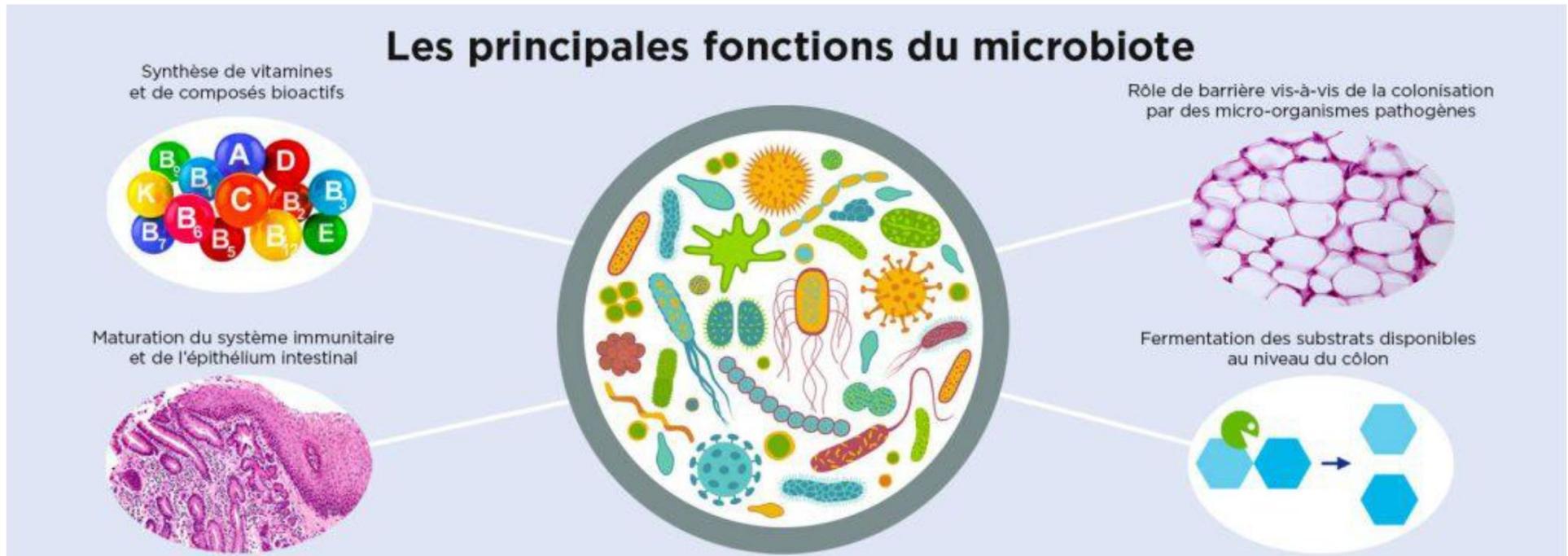
- 1000 espèces bactériennes/individu
- Organe : Structure-Fonction-Relation avec l'hôte
- **Bacteroidetes (20-40)**
  - Bacteroides fragilis
- **Firmicutes (60-80)**
  - Staphylococcus
  - Clostridium
  - Lactobacillus
- **Actinobacteria**
  - Bifidobacterium
- **Proteobacteria (<10%)**
  - Escherichia coli
  - Klebsiella pneumoniae





# ***Fonction du microbiote***

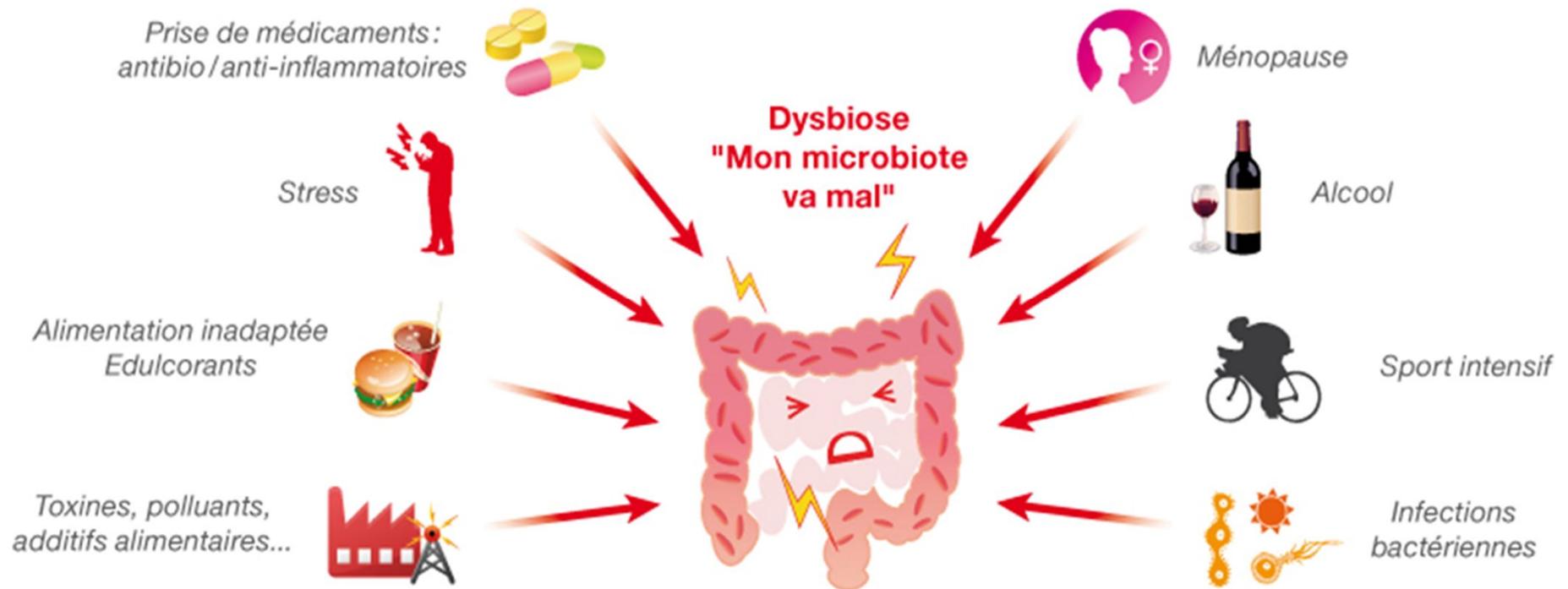
- Effet digestif : motricité, dégradation, synthèse.
- Effet immunitaire : développement, maturation
- Effet barrière : résistance, perméabilité.
- Effet métabolique : sucre, lipide, fermentation





# Relation avec l'hôte

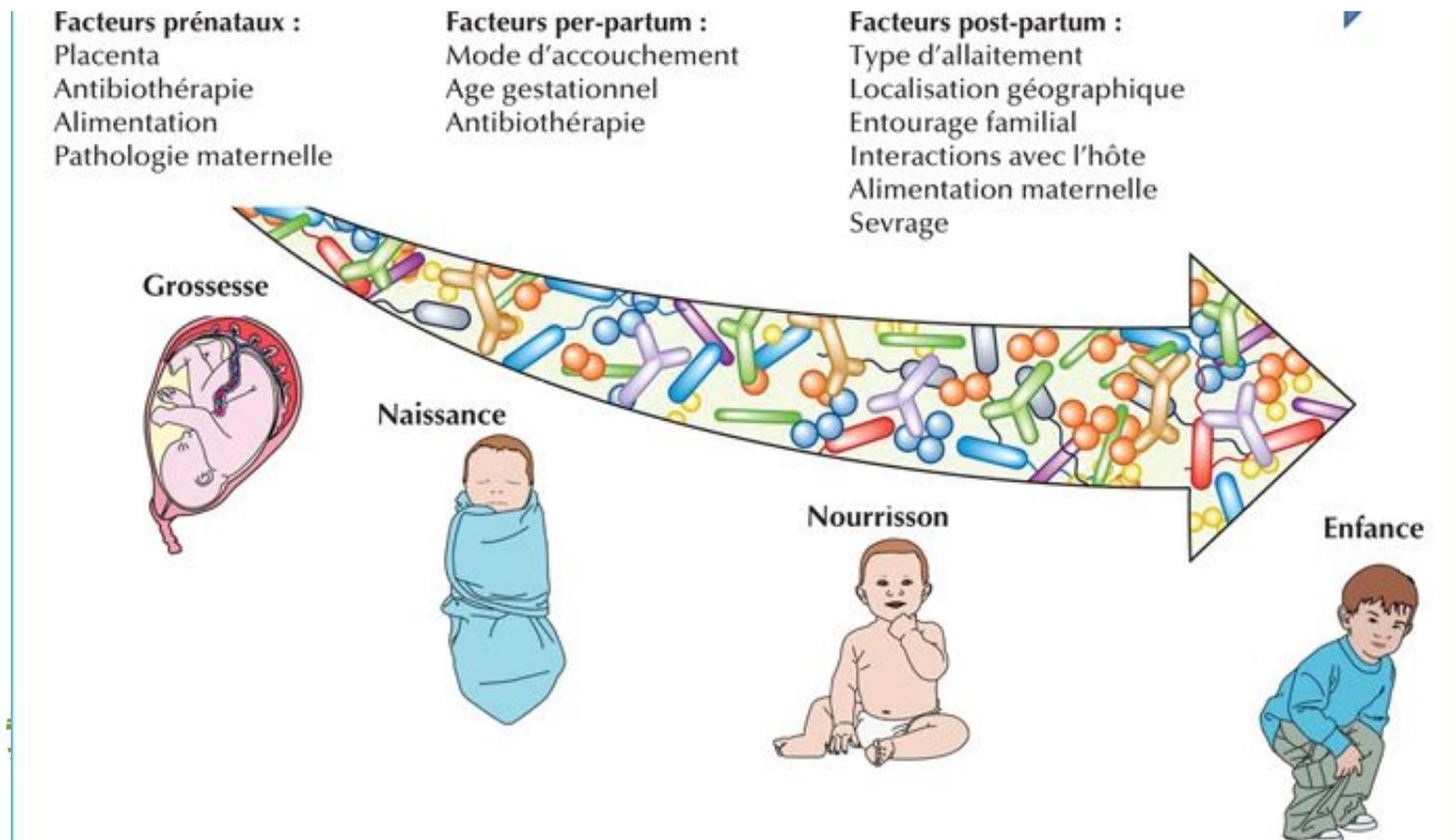
## ➤ Les microbiotes : influençable (style de vie)





# Colonisation : période cruciale

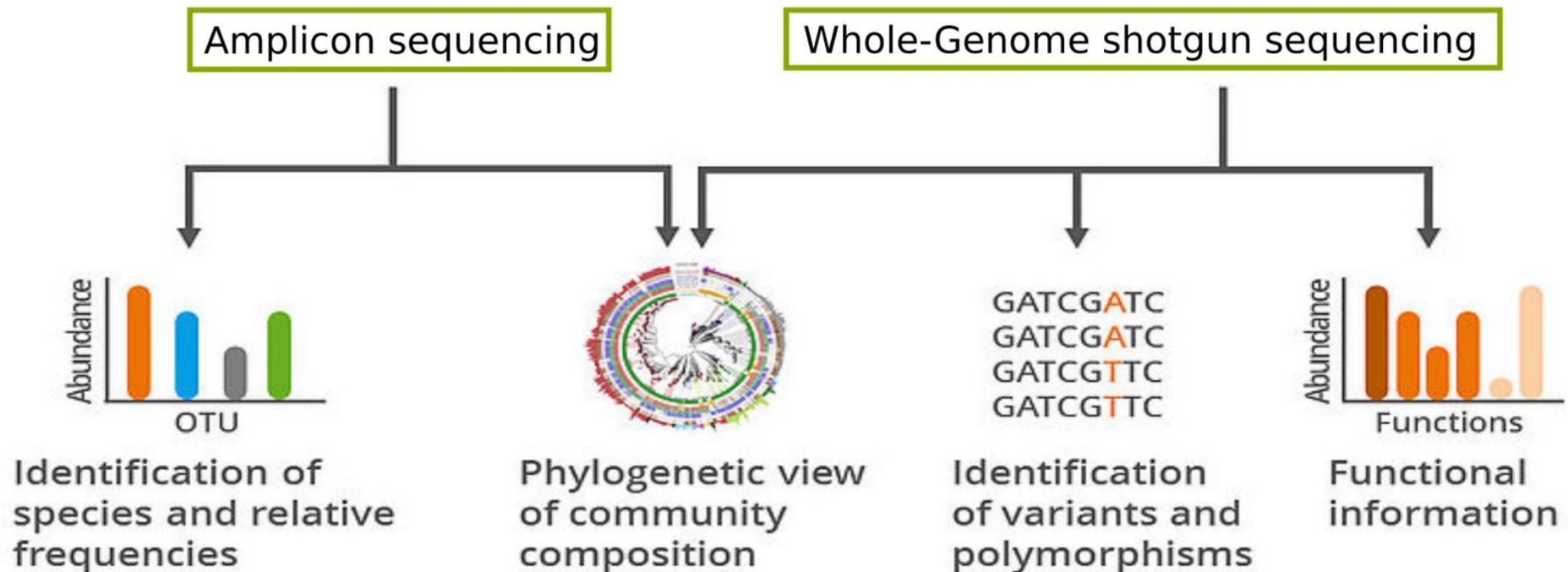
- Dès les premiers instants de vie et est modifiable
- Lait maternel : flore bactérienne abondante et diverse (Lactobacillus-Bifidobacterium)
- 2 ans : microbiote stable





# Etude du microbiote

- Culture : Vivante, aérobie (anaérobie facultative) => Partielle (20-30%)
- Moléculaire : vivante ou morte
- Métagénomique : 16S ou Shotgun





# *Etude du microbiote*

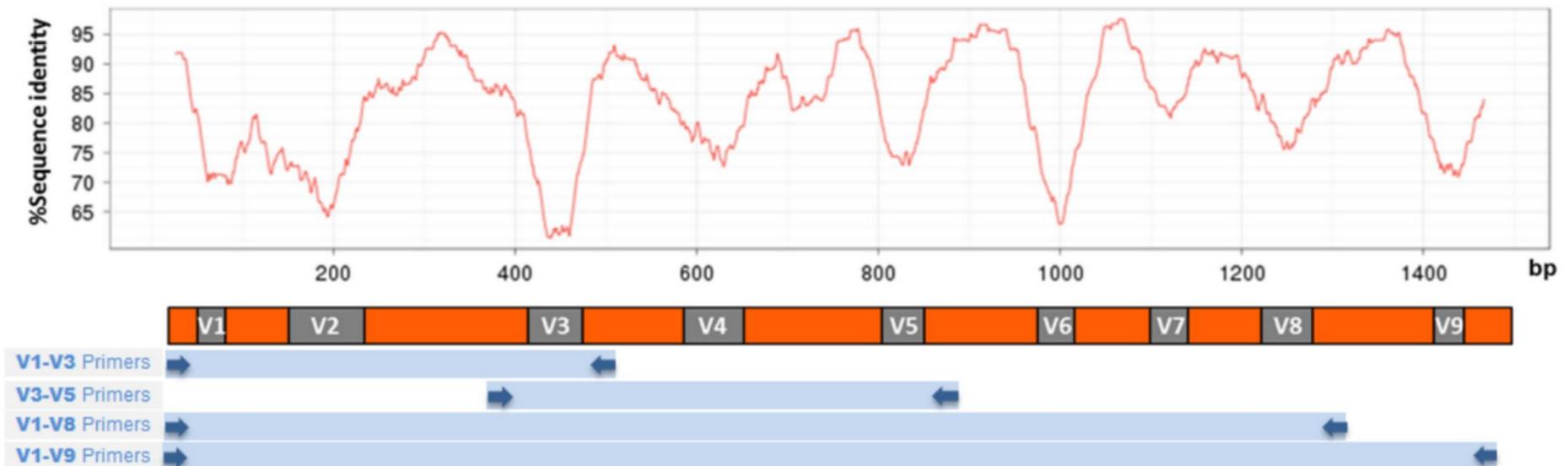
---

- **Shotgun** : Séquençage de l'ADN total
- Mélange de plusieurs génomes
- Pas d'a priori
- Information maximale
- Complexité d'analyse



# Etude du microbiote

- **Ciblé** : Séquençage 16S (ARN non codant avec des régions conservées et variables) : présent chez les bactéries
- 1 région spécifique séquencée et amplifiée
- Analyses plus rapides et facilitées
- Plusieurs méthodologies publiées





# Séquençage 16S

- **MAIS** : 16S nombre de copies variables selon les génomes.
- Biais de choix de la région : Selon microbiotes
- Biais quantitatif : Estimation de l'abondance relative
  
- Importance des contrôles
- Profondeur de l'analyse : nombre OTU

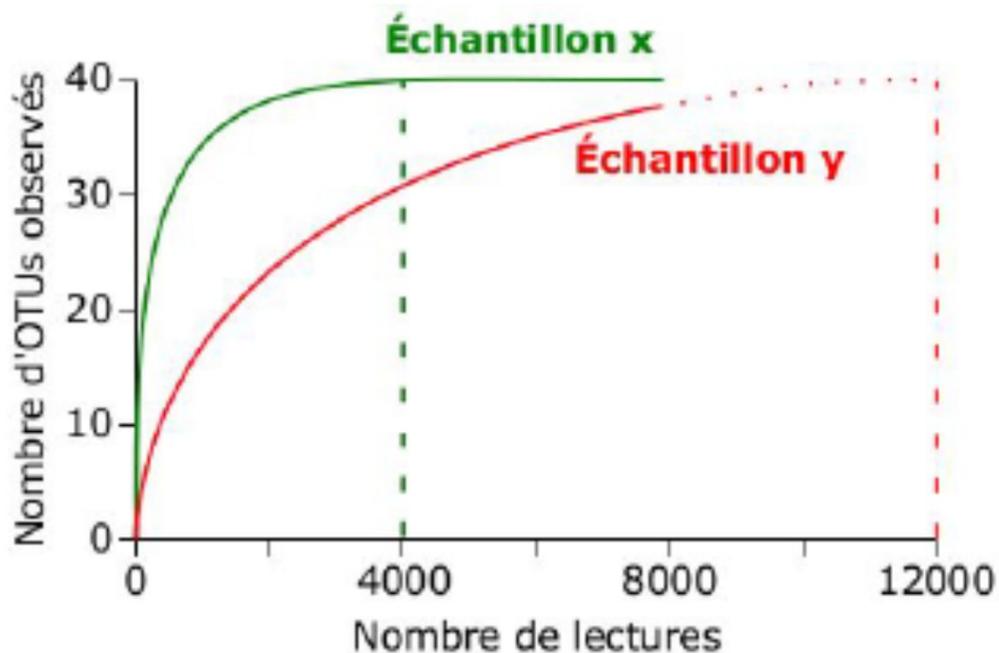
Domaine Ex.: *Bacteria*  
Règne *Prokaryotae*  
Phylum  
Classe *Schizomyctes*  
Ordre *Micrococcales*  
Famille *Micrococcaceae*  
Genre *Staphylococcus*  
Espèce *S. aureus*



# *Evaluation du microbiote*

➤ **Richesse** : Quantité par échantillon

Courbe de raréfaction





# *Evaluation du microbiote*

---

- **Diversité** : Abondance relative
- **Index** : Shannon, Simpson, chao

**$\alpha$ -diversité** : intrinsèque à chaque échantillon

**$\beta$ -diversité** : comparaison des échantillons entre eux

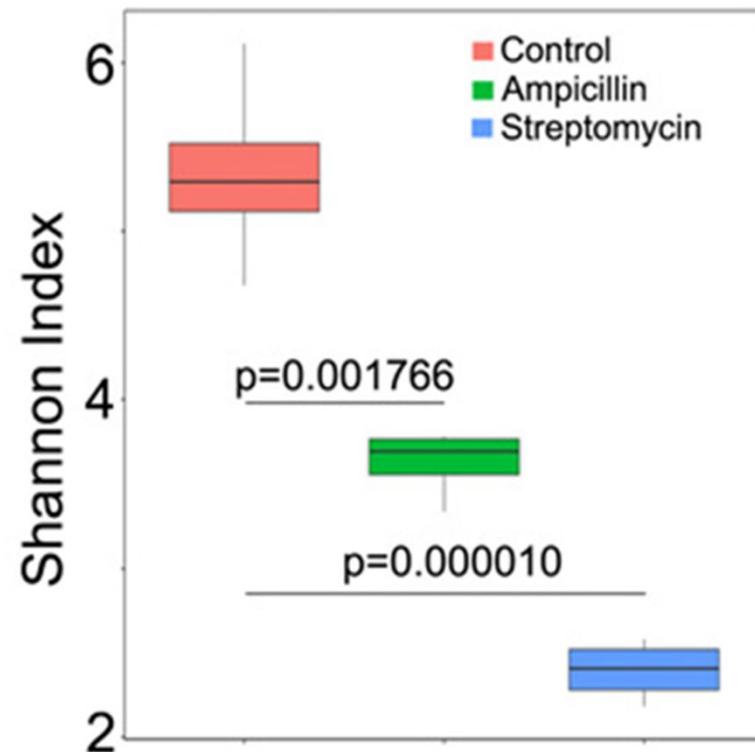
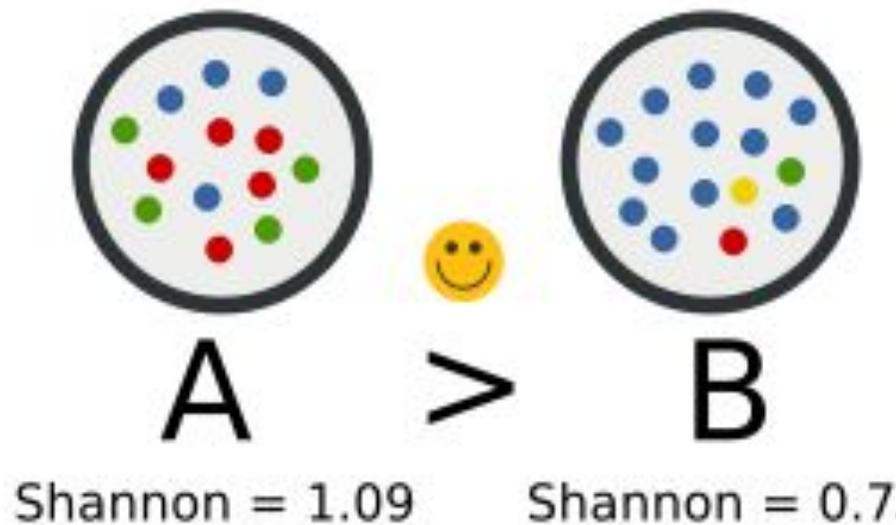
**Chao-1** : Richesse + correction pour diversité

Shannon/simpson : Richesse + diversité



# Evaluation du microbiote

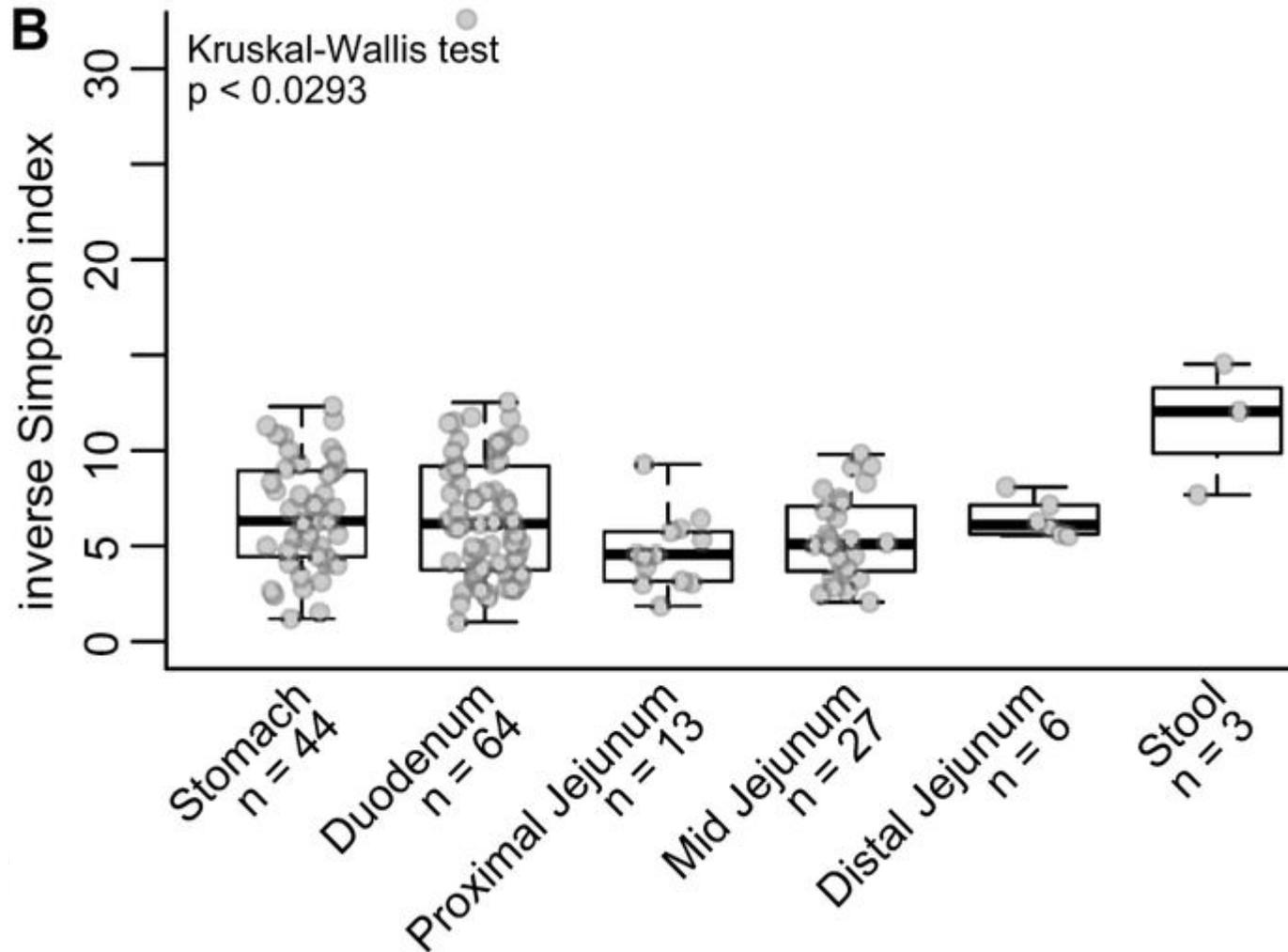
- Shannon: quantifier l'hétérogénéité de la biodiversité
- Plus utilisé mais biais (échantillon trop faible, diversité des espèces)





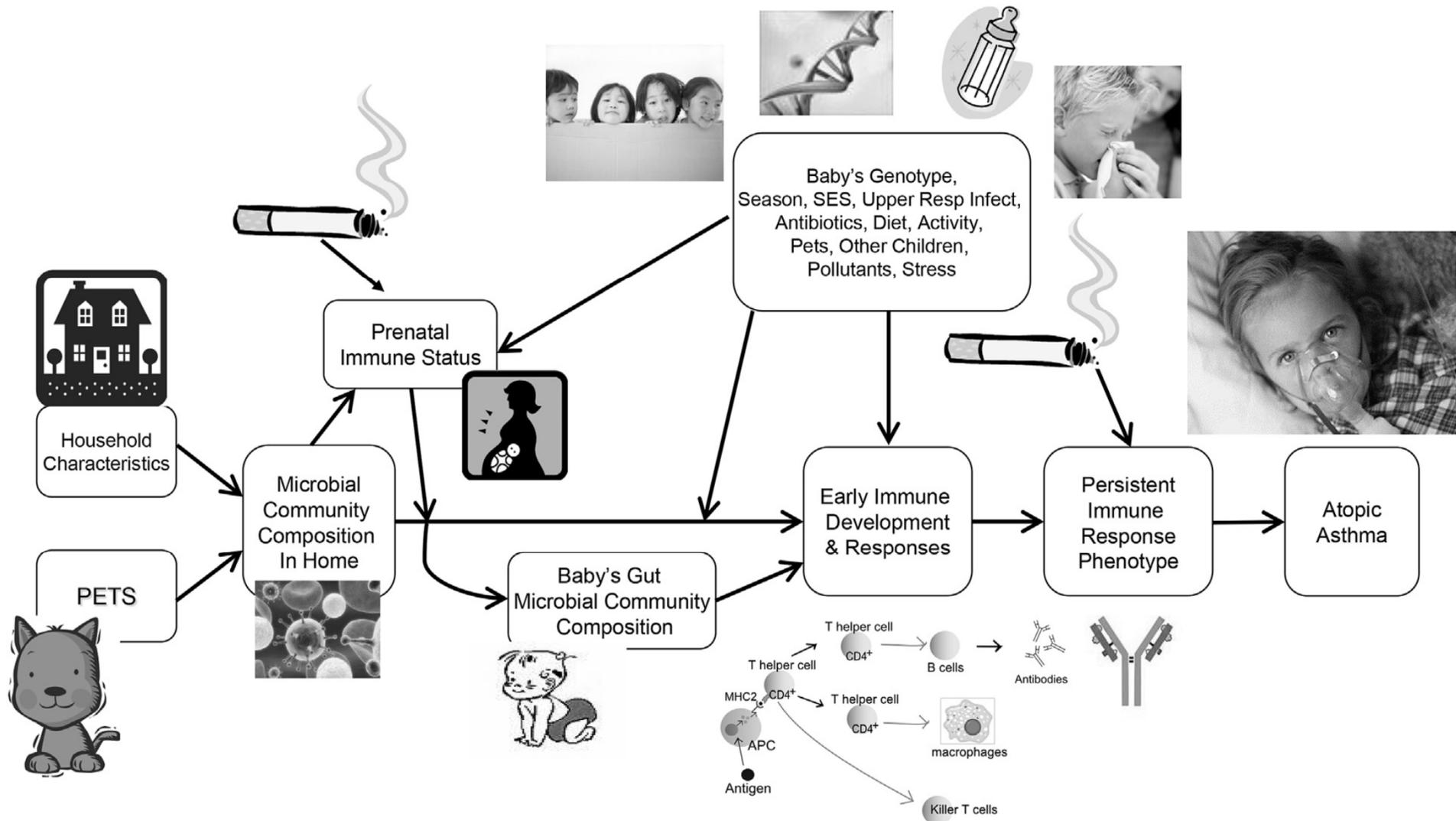
# *Evaluation du microbiote*

- Simpson: autre indice qui corrige Shannon.



# Allergies et microbiome

Une maladie complexe et multi factoriel



# Allergies et microbiome

---

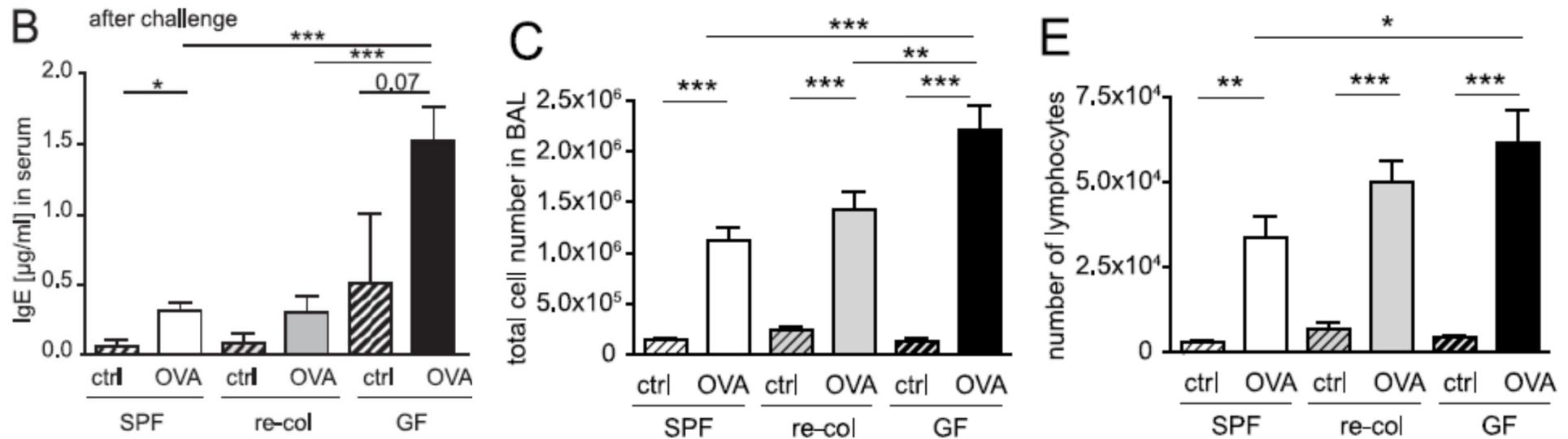
- **Hypothèse de l'hygiène** (Strachan 1989) : Relation inverse entre exposition microbienne dans la petite enfance et le risque allergique.
  - **Hypothèse microbienne** (Rook 2008) : « if an environmental change was related to the increase of allergic (and autoimmune) disease, it should satisfy 2 criteria: (1) it must be something that has been present throughout the evolution of the mammalian immune system, and (2) it must be something that has been progressively depleted from the environment of developed countries ».
- ➔ Microbiome : toujours présent, différences individuelle (allergiques *versus* non allergiques)

# Rôle du microbiome dans l'asthme

## ➤ Modèles précliniques

### ➤ Microbiote intestinale et asthme

Herbst et al, 2011



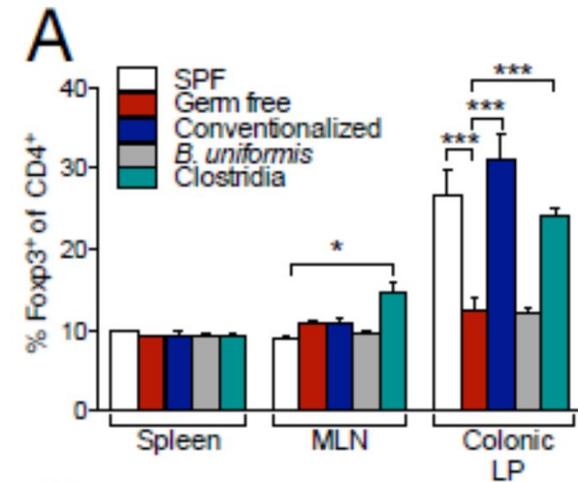
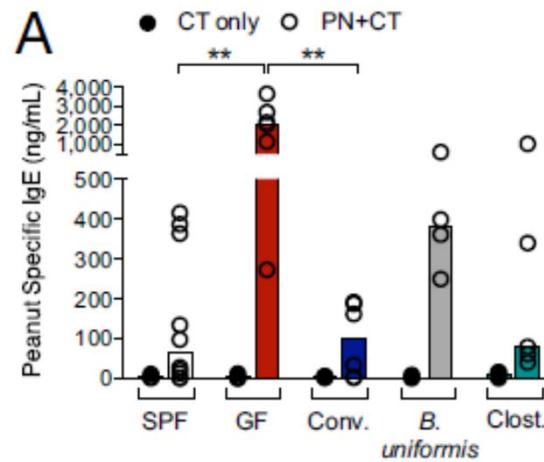
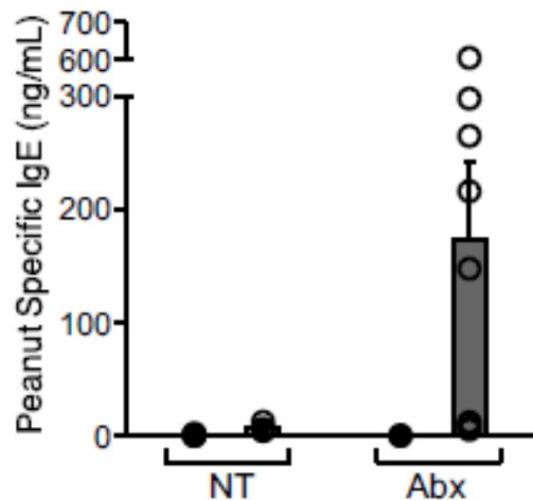
*Le microbiote joue un rôle protecteur dans l'asthme allergique chez la souris.*

# Rôle du microbiome dans l'allergie

## ➤ Modèles précliniques

### ➤ Microbiote intestinale et allergie alimentaire

Stefka *et al*, 2014



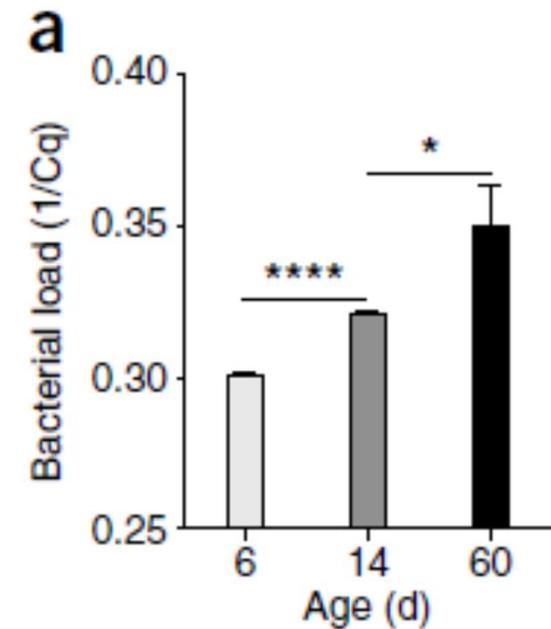
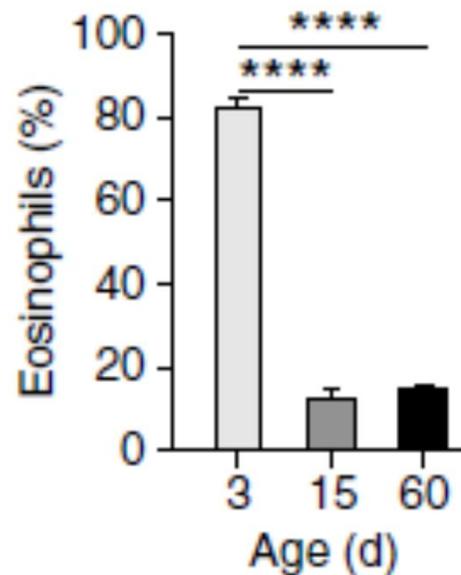
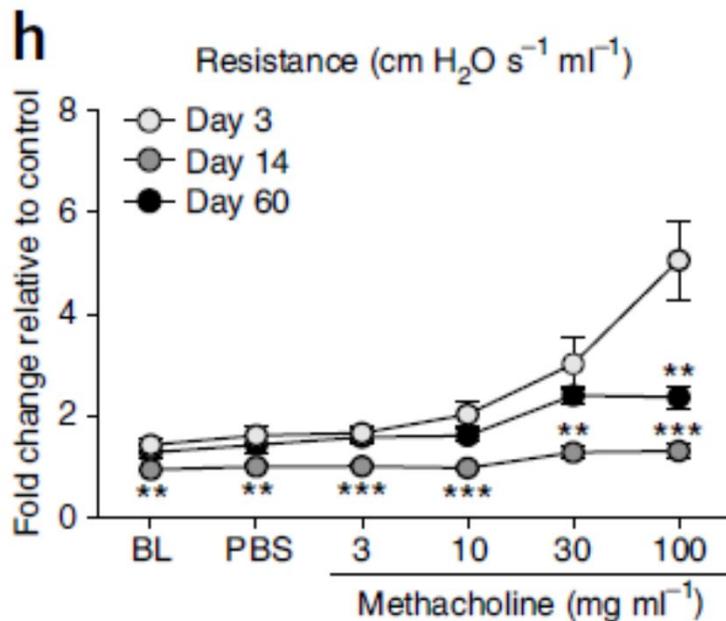
*Le microbiote joue un rôle protecteur l'allergie alimentaire chez la souris.*

# Rôle du microbiome pulmonaire

## ➤ Modèles précliniques

### ➤ Microbiote pulmonaire et asthme

Gollwitzer *et al*, 2014



*Le microbiote joue un rôle protecteur dans l'asthme allergique chez la souris.*

# Théorie hygiéniste

## ➤ Etudes clinique

### ➤ Amish et huttérites

*Stein et al, 2016*



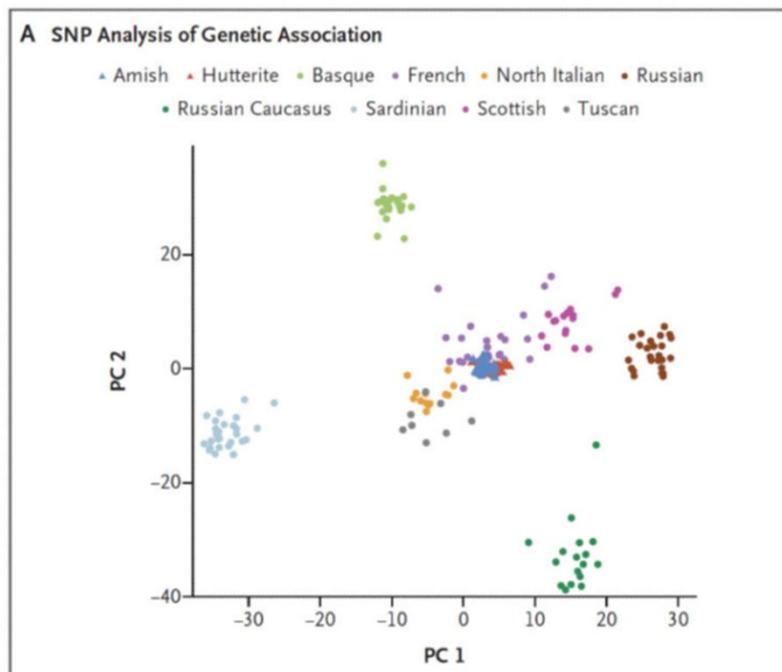
# Rôle de l'environnement

## ➤ Etudes clinique

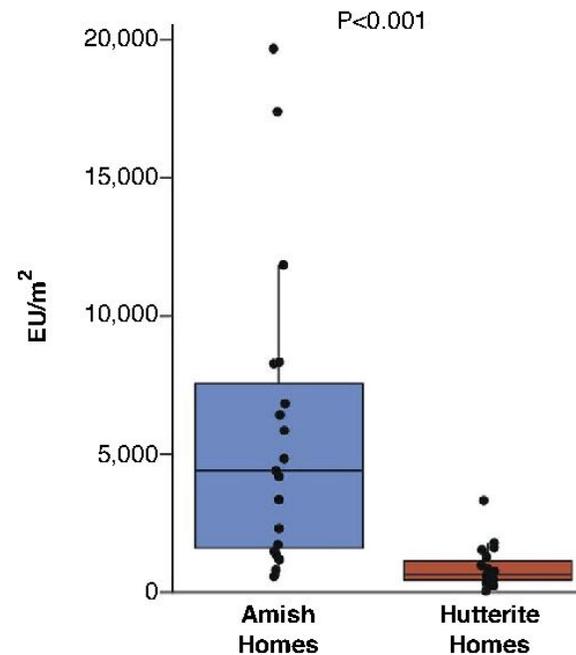
### ➤ Amish et huttérites

Stein et al, 2016

	Amish	Hutterites
Asthma	5.2 %	21.3 %
Atopy	7.2%	33.3%



Endotoxin Levels in Airborne Dust



*L'environnement riche en micro-organismes joue un rôle protecteur dans l'asthme.*

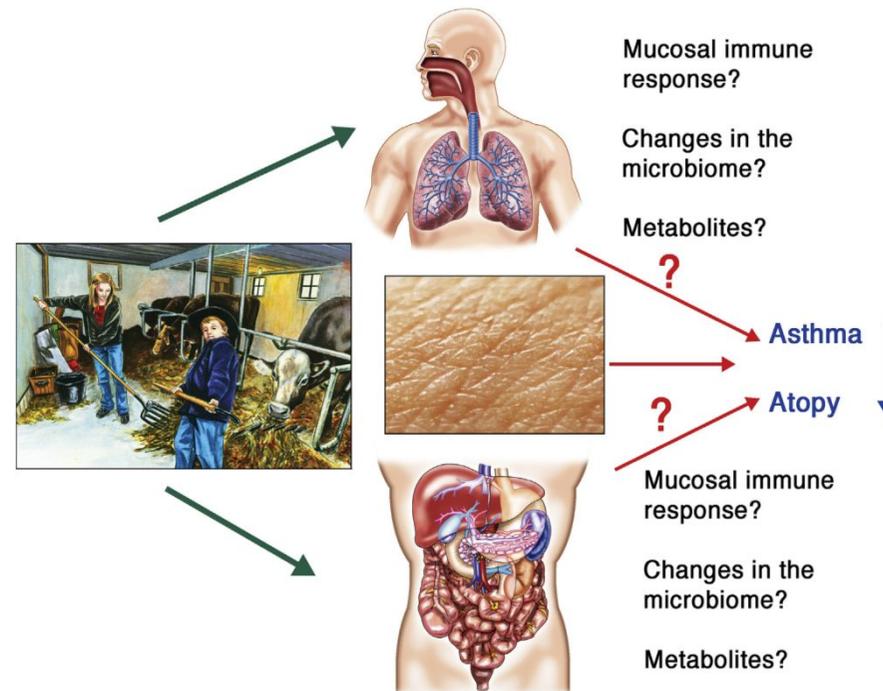
# *Allergies et microbiome*

---

- **Rôle prépondérant largement démontré.**
- **Comment le microbiome influence la réponse immune?**
  - Au niveau pulmonaire et intestinale en lien avec l'allergie
- **Développement d'approche basée sur le microbiome.**

# microbiome et allergies : mécanismes

## ➤ Multiples :

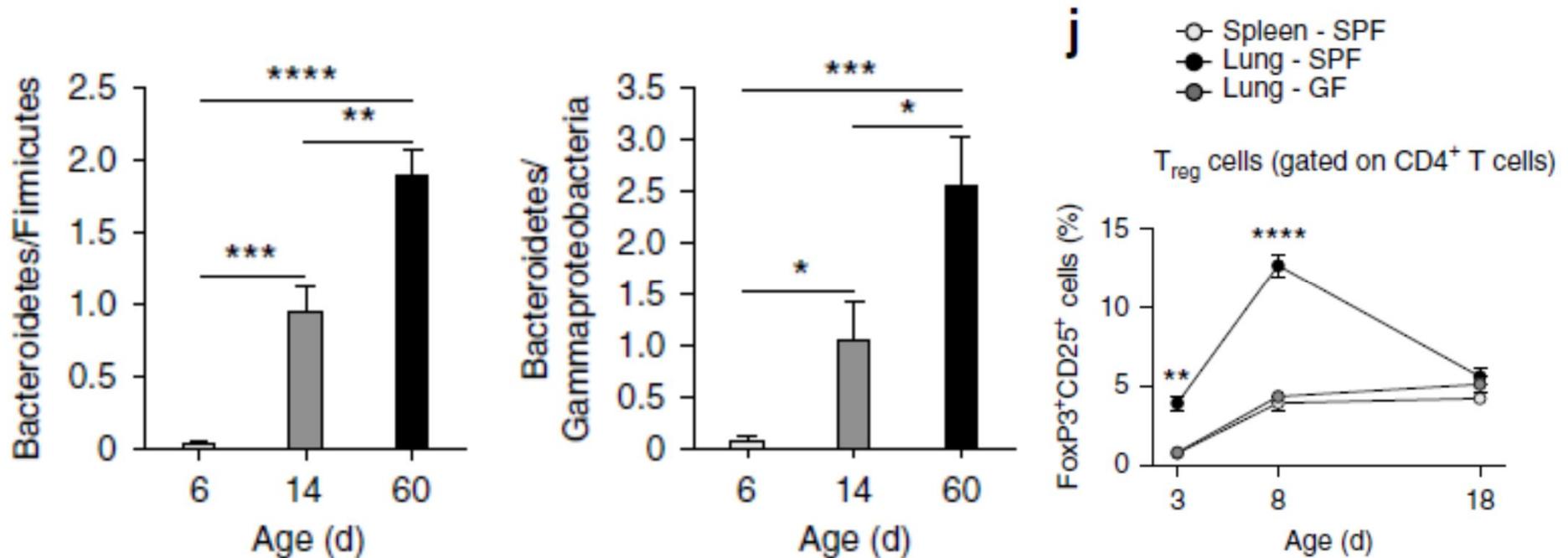


- Bactérie induisant une réponse régulatrice
- Bactérie ayant une activité anti-inflammatoire
- Métabolite ou composant de la paroi avec une activité immuno-régulatrice

# Microbiote pulmonaire

## ➤ Bactérie induisant une réponse régulatrice

Gollwitzer et al, 2014



*Prédominance de bactéroïdes et émergence de Treg :  
Absence de bactérie spécifique dans l'enfance amène une  
tolérance inappropriée*

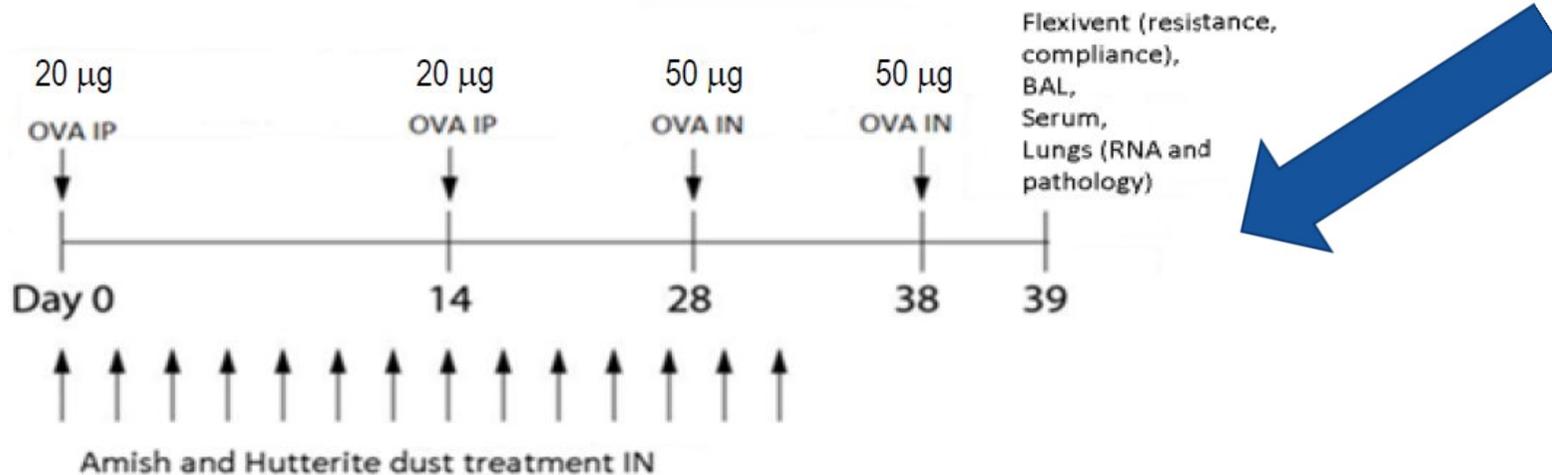
# Microbiote pulmonaire

## ➤ Bactérie ayant une activité anti-inflammatoire

Stein et al, 2016

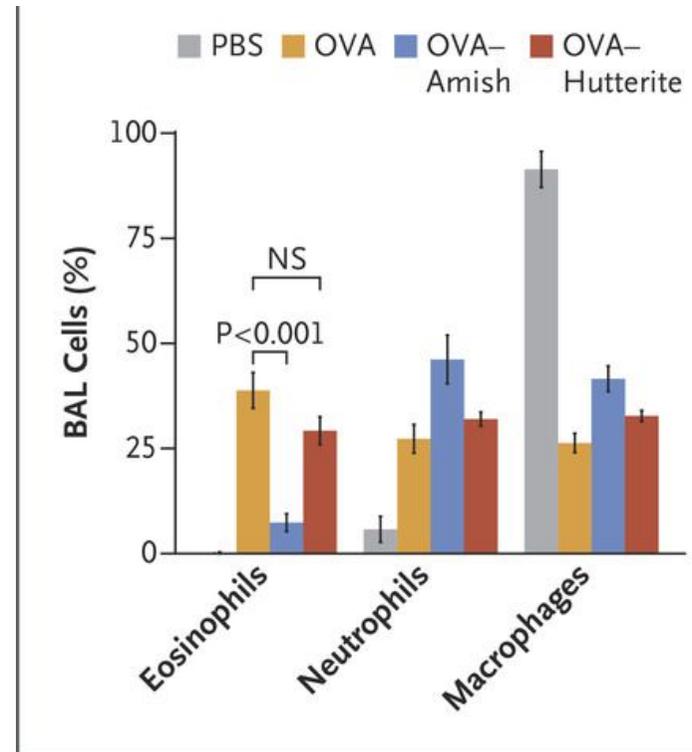
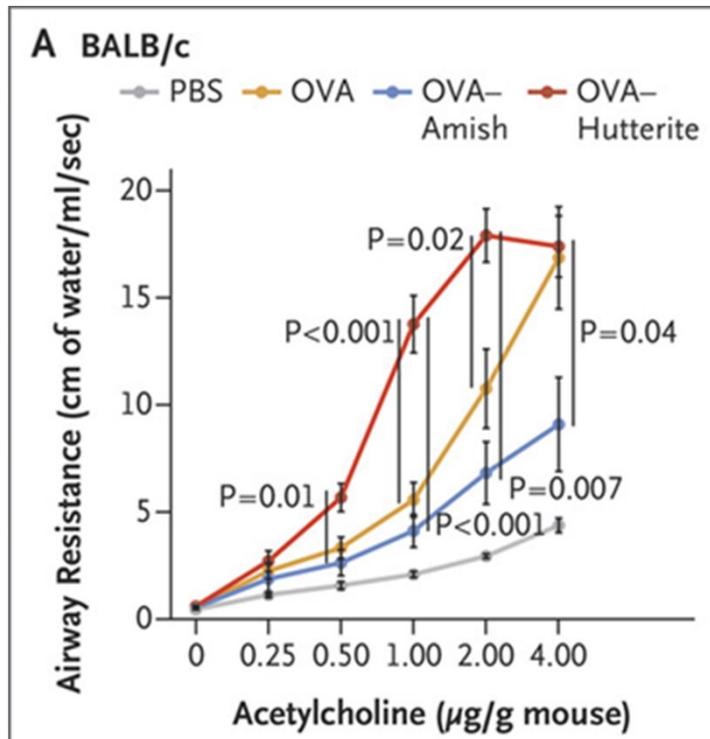


Amish ou  
hutterite



# Microbiote pulmonaire

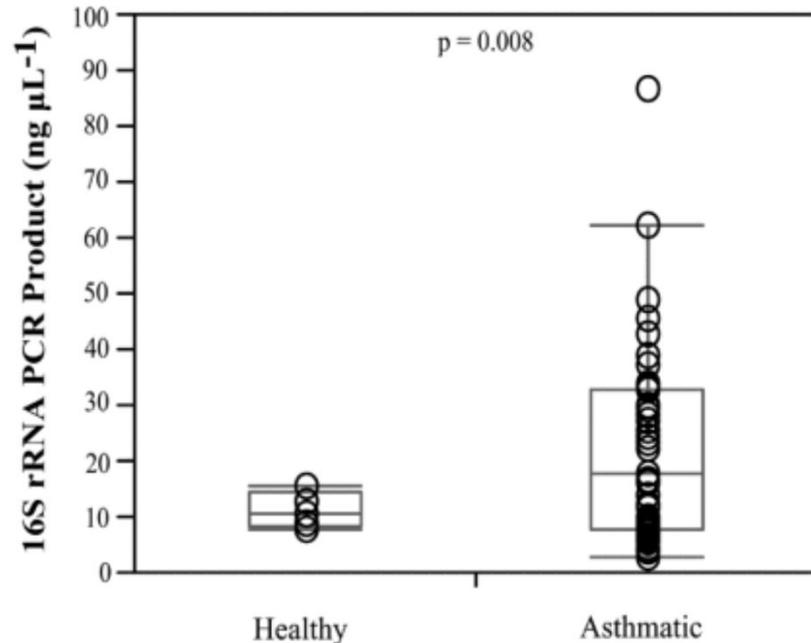
## ➤ Bactérie ayant une activité anti-inflammatoire



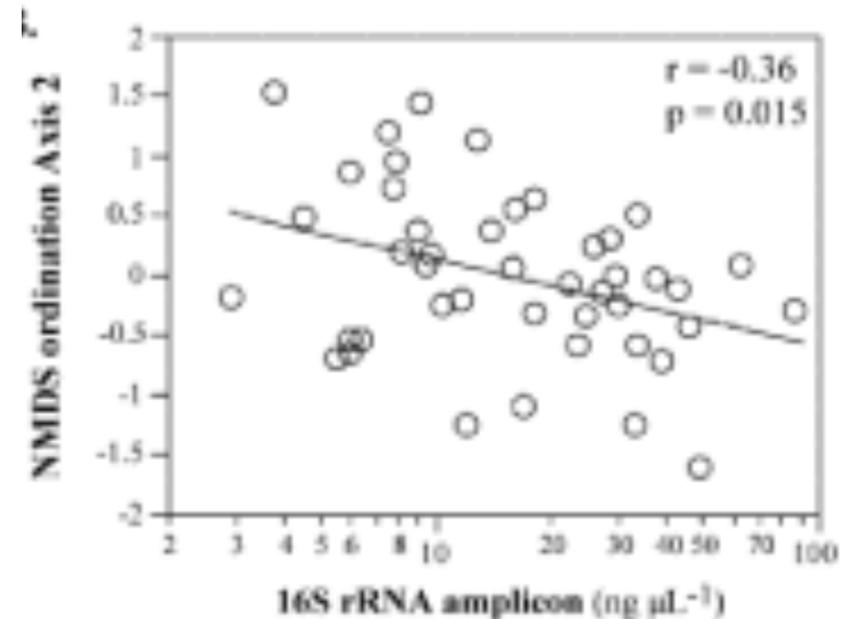
*Les poussières de maison Amish protègent de l'asthme (composition, diversité) via un mécanisme MyD88 et Trif dépendant.*

# Microbiote pulmonaire

## ➤ Chez l'homme



Huang *et al*, 2011

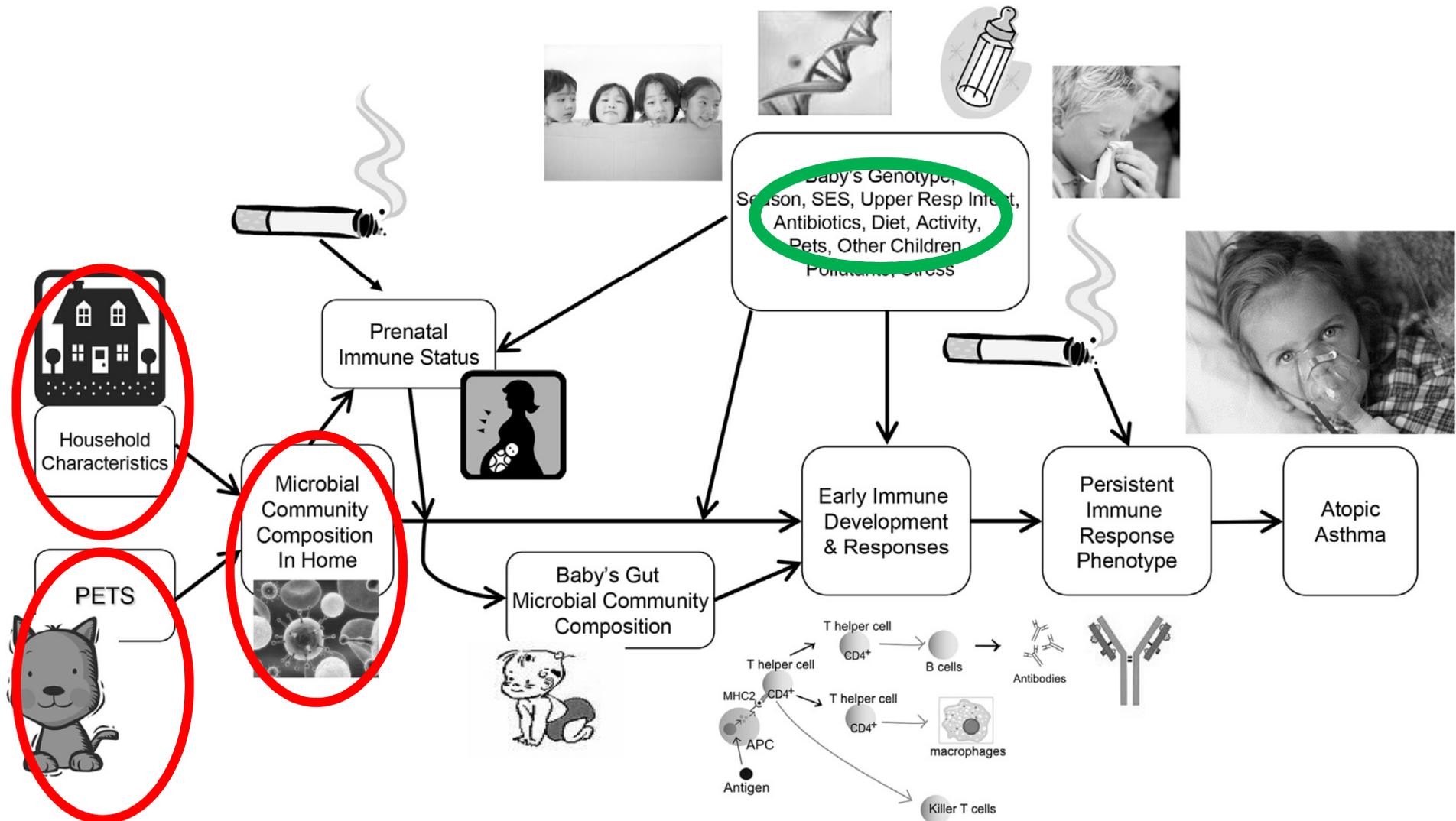


*Les patients asthmatiques possèdent une charge bactérienne plus importante mais une moins grande diversité.*

*Une plus grande charge microbienne corrèle avec l'hyper-réactivité bronchique.*

# Allergies et microbiome

Une maladie complexe et multi factoriel

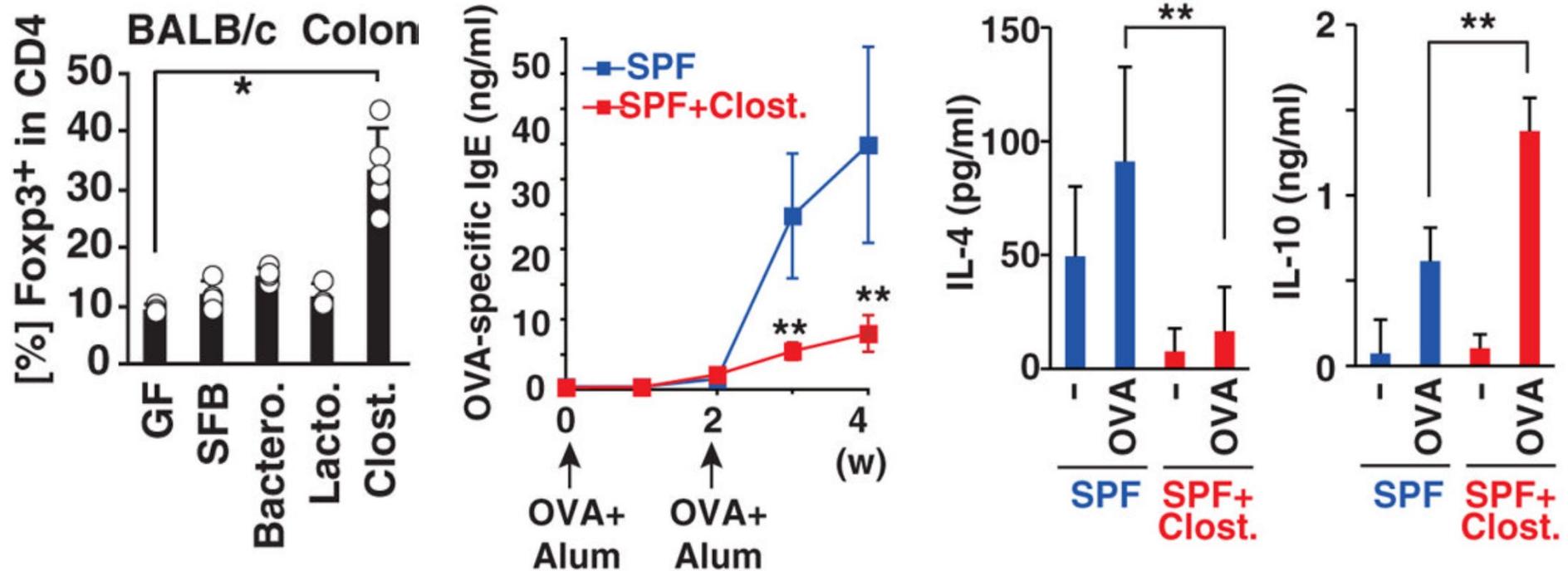


# Microbiote intestinale

## ➤ Modèles précliniques

### ➤ Asthme et bactéries commensales

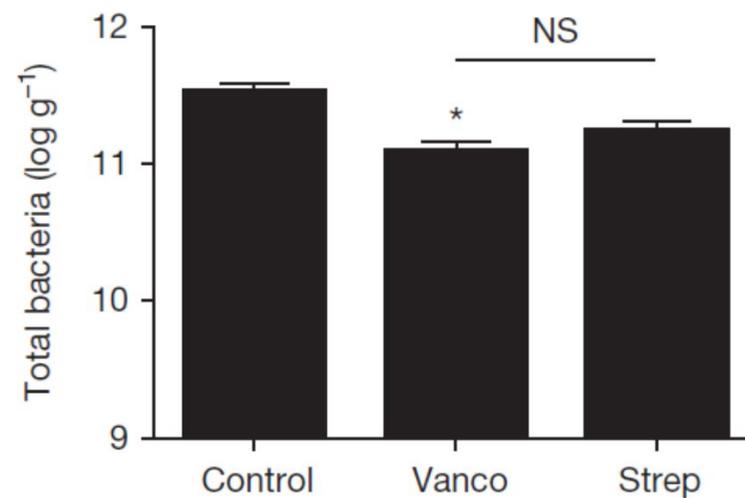
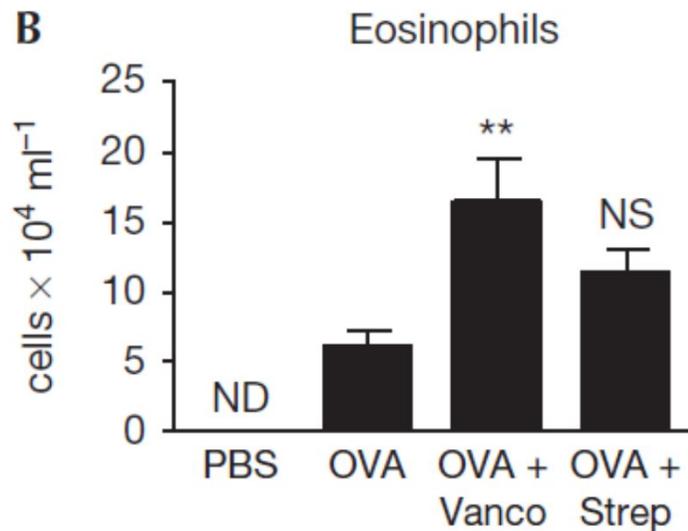
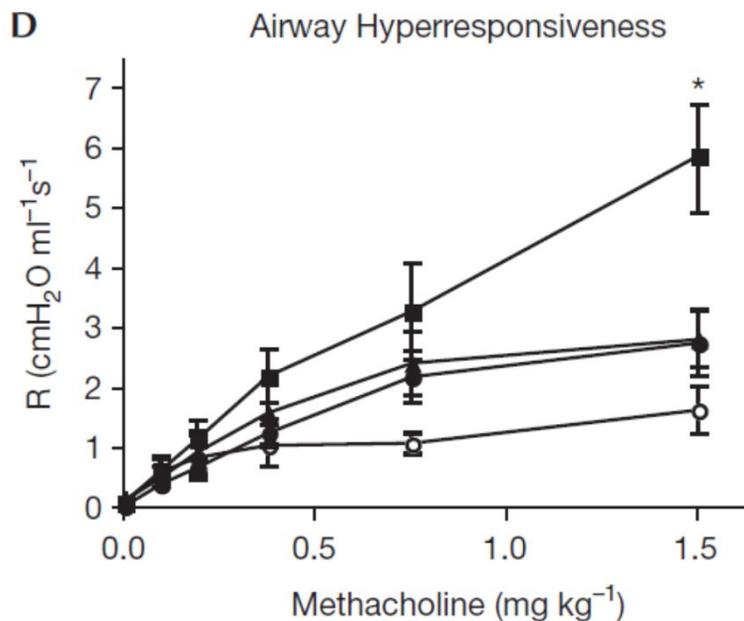
Atarashi et al, 2014



*Effet bénéfique de Clostridium via Treg du colon*  
**Importance du consortia**

# antibiotique

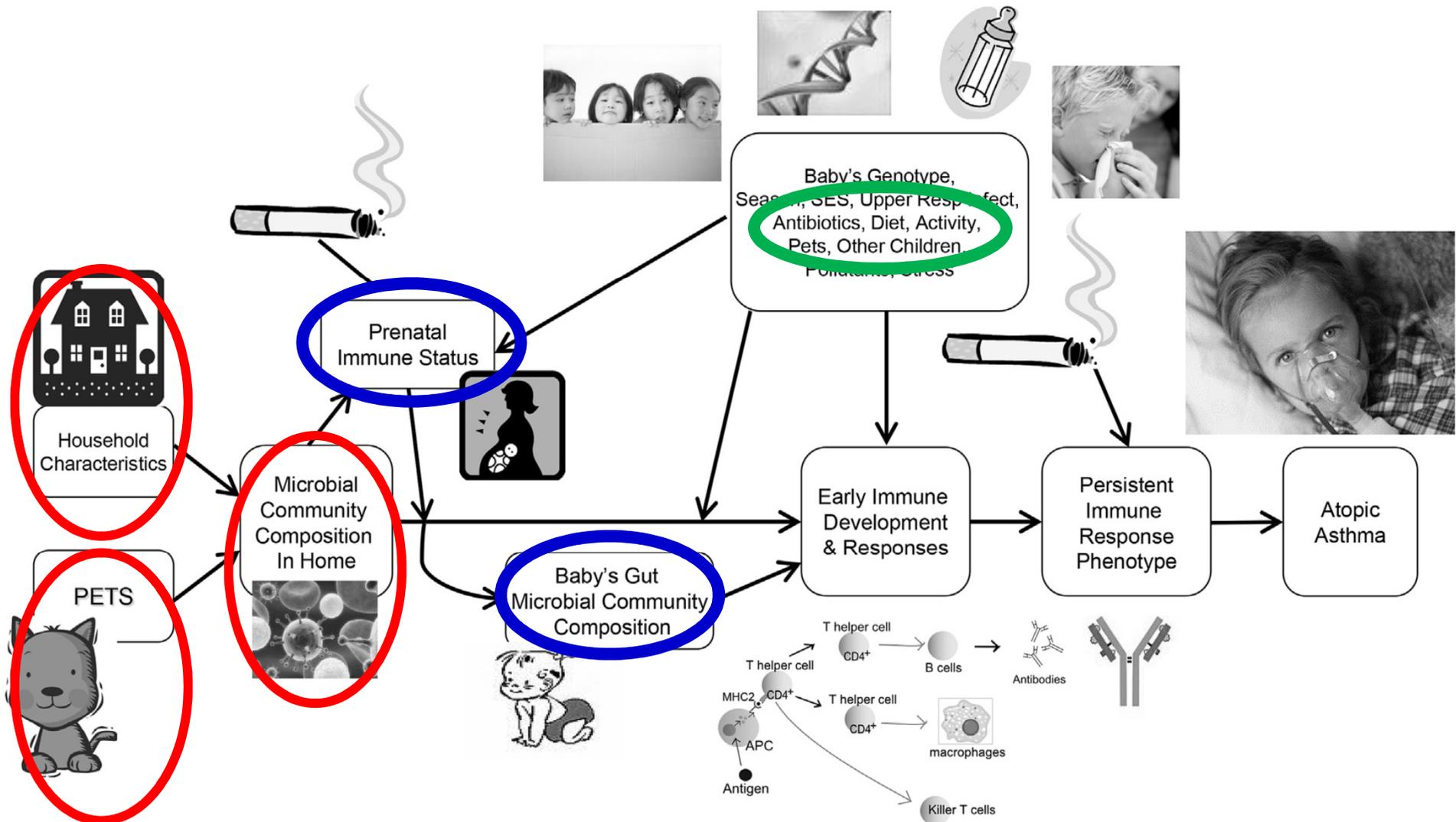
## ➤ Modèles précliniques *Russell et al, 2012*



*Une exposition précoce à des antibiotiques augmente la susceptibilité à l'asthme*

# Allergies et microbiome

Une maladie complexe et multi factoriel

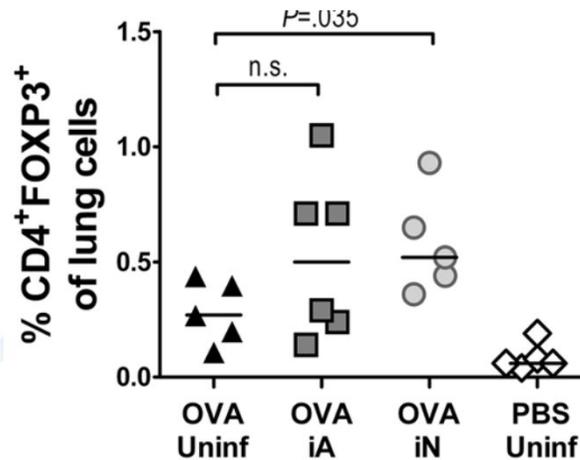
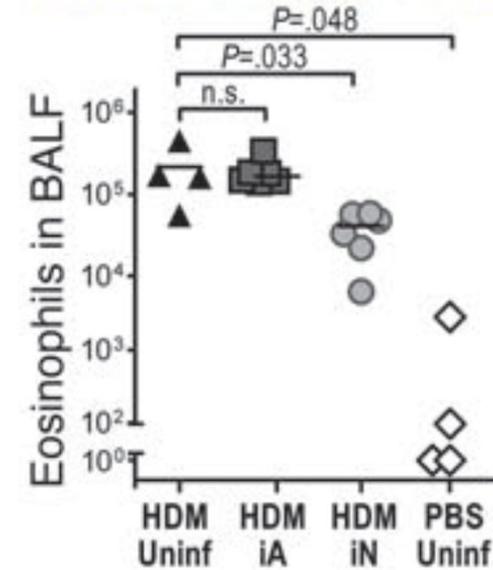
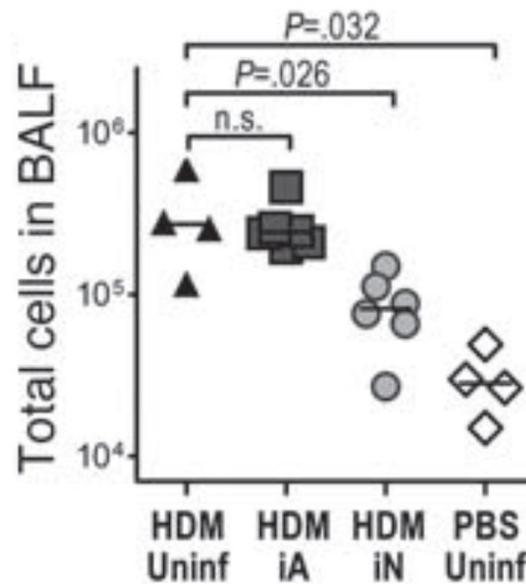
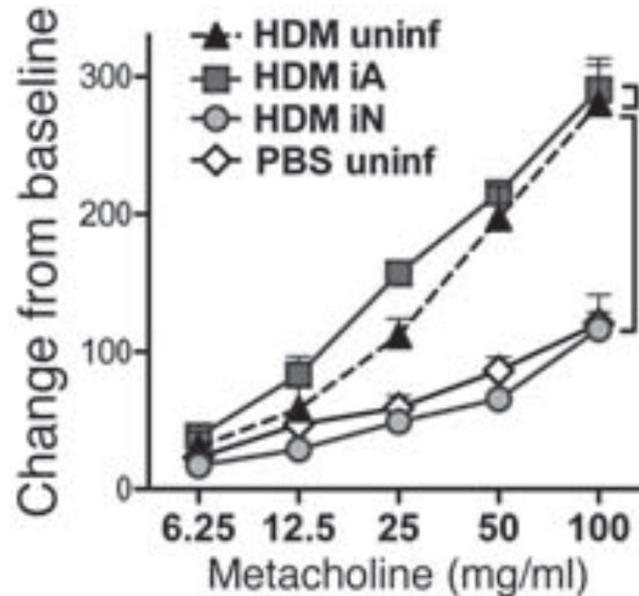


# Rôle de la période

## ➤ Modèles précliniques

### ➤ Asthme et bactéries commensales

Arnold et al, 2008

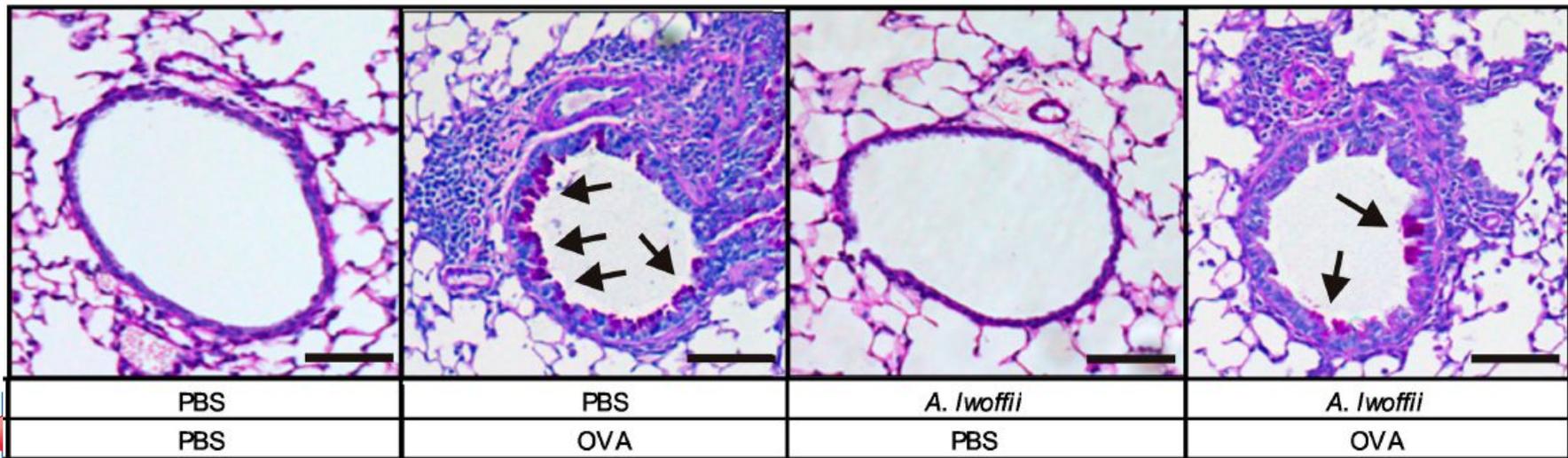
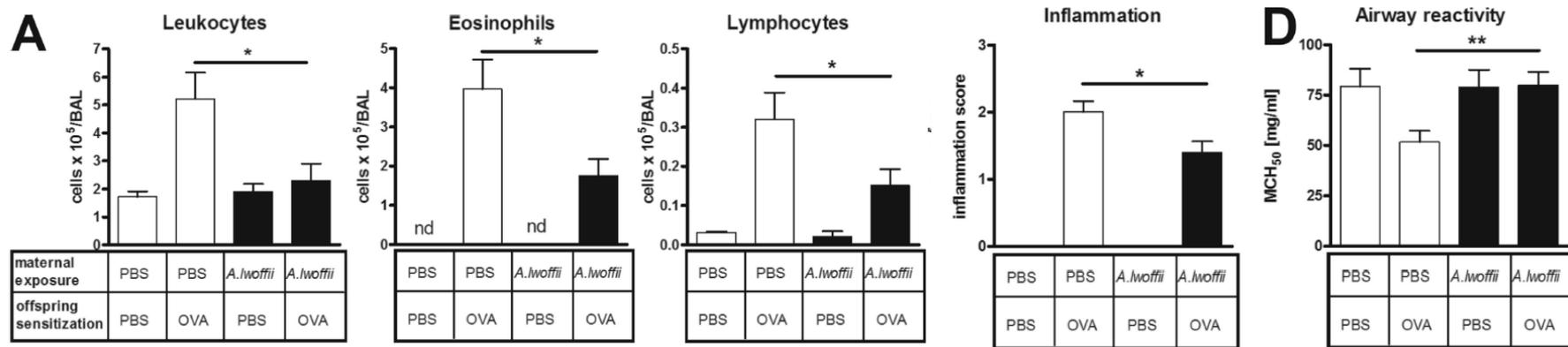


*Effet bénéfique de H. Pylori*  
**Importance de la période**

# Rôle de la période

## ➤ Modèles précliniques

### ➤ Asthme et flore intestinale *Conrad et al, 2009*

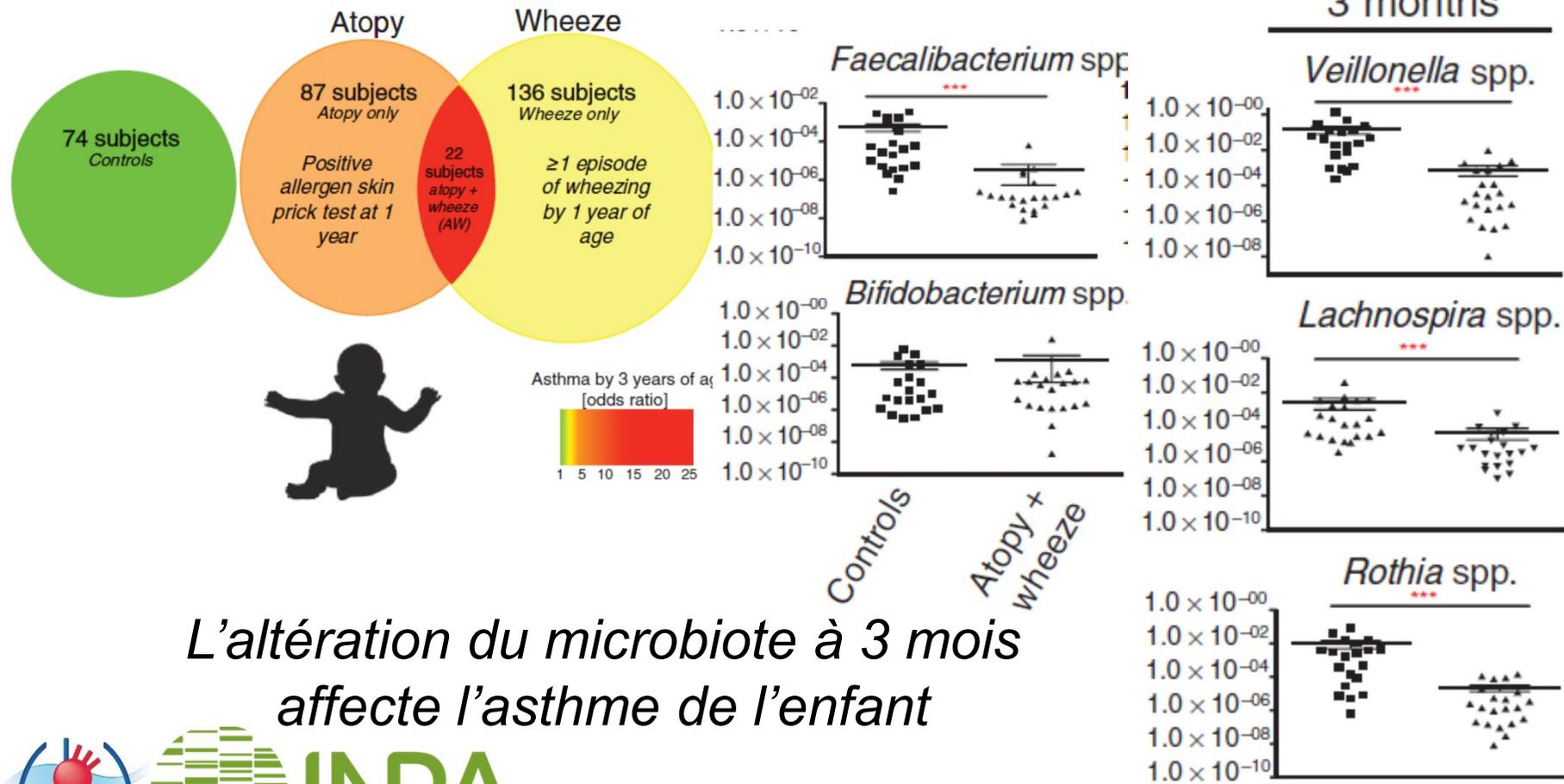


# Microbiote intestinale

## ➤ Etudes cliniques

### ➤ Asthme et microbiote

Arrieta et al, 2015 - Stiemsma et al, 2016

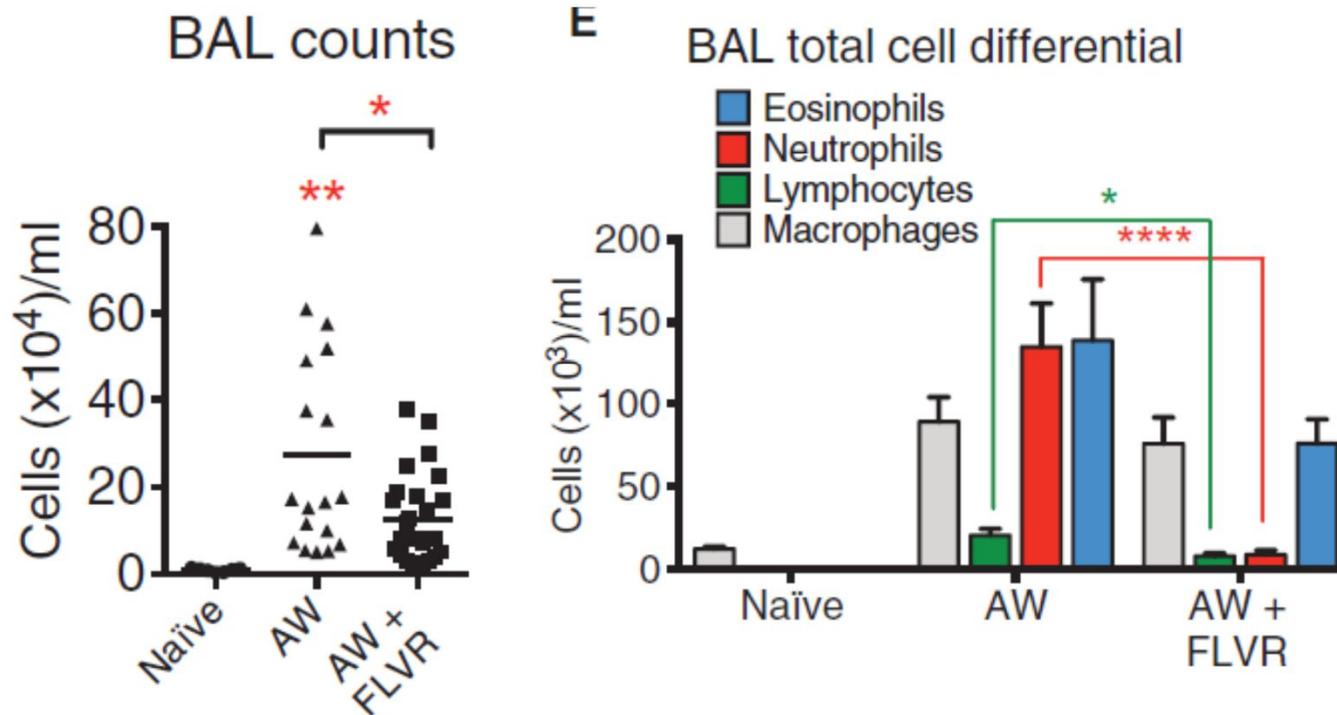


# Microbiote intestinale

## ➤ Etudes cliniques

### ➤ Asthme et microbiote

Arrieta et al, 2015 - Stiemsma et al, 2016



*Le microbiote infantile favorise l'asthme chez la souris et FLVR réduit l'asthme*

*Rôle de ce consortium dans la pathogénèse.*

# *Utiliser le microbiote*

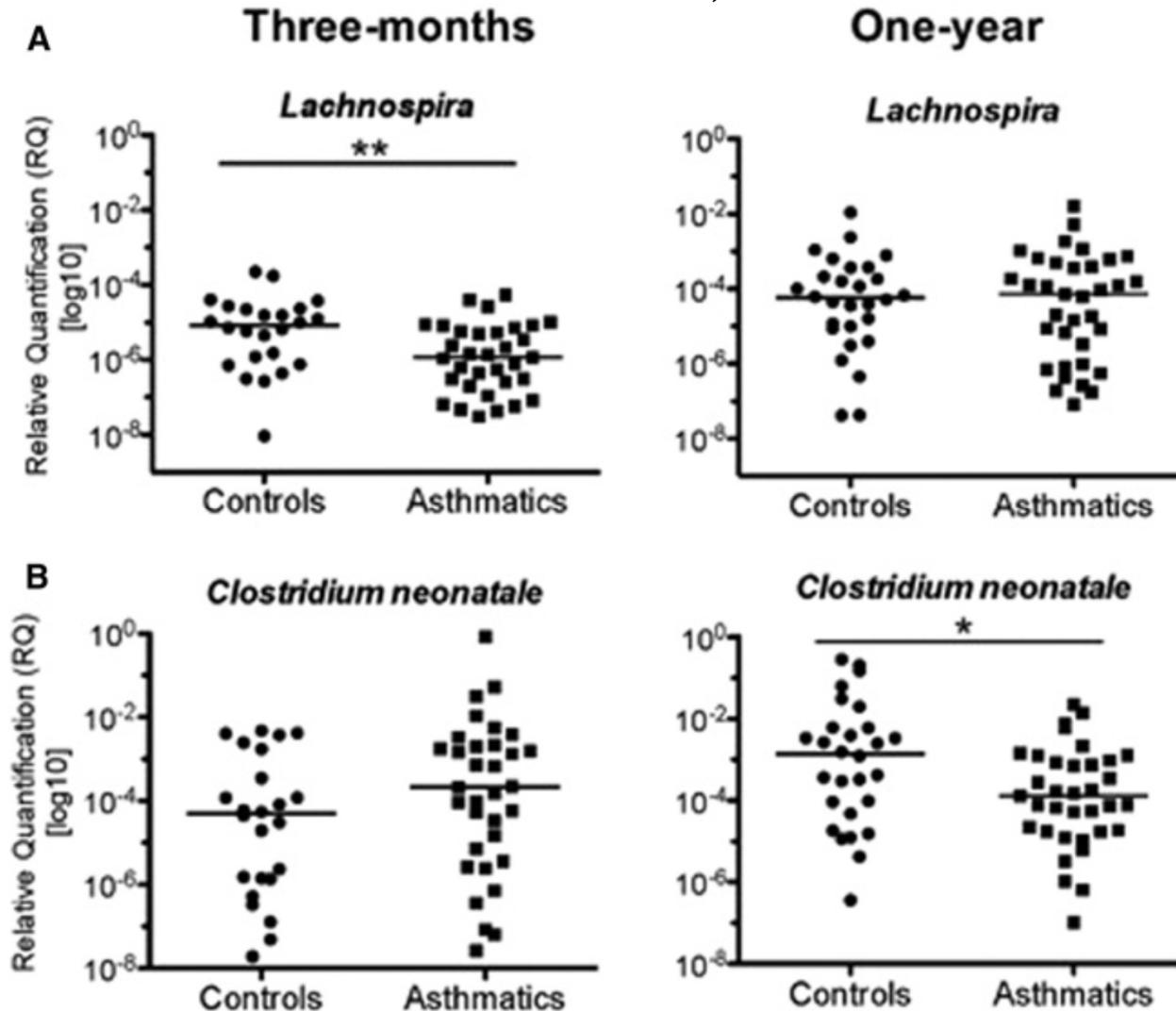
---

- Rôle prépondérant largement démontré.
- Comment le microbiome influence la réponse immune?
  - Au niveau pulmonaire et intestinale en lien avec l'asthme
- **Développement d'approche clinique (diagnostique, préventif, thérapeutique) basée sur le microbiome dans l'allergie.**

# Utiliser le microbiote

## ➤ Etudes cliniques

- Asthme et microbiote *Arrieta et al, 2015 and Stiemsma et al, 2016*

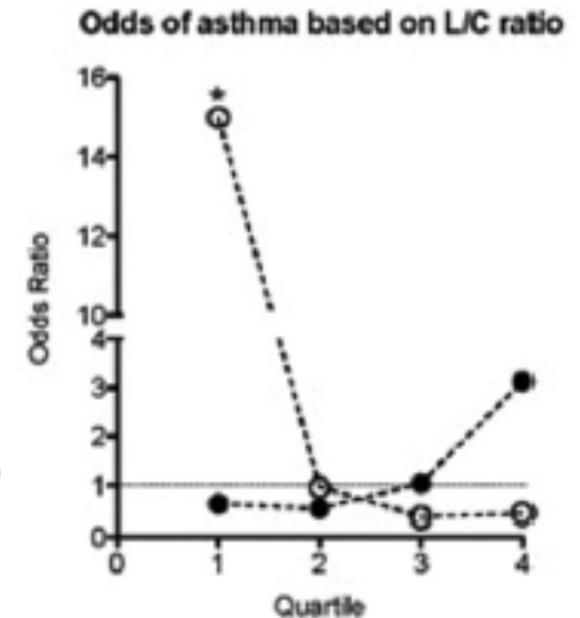
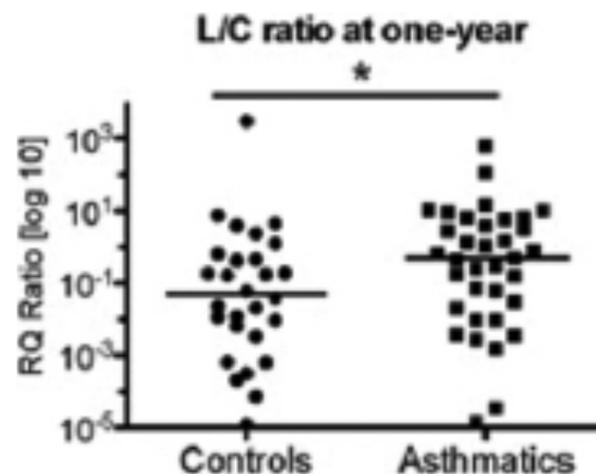
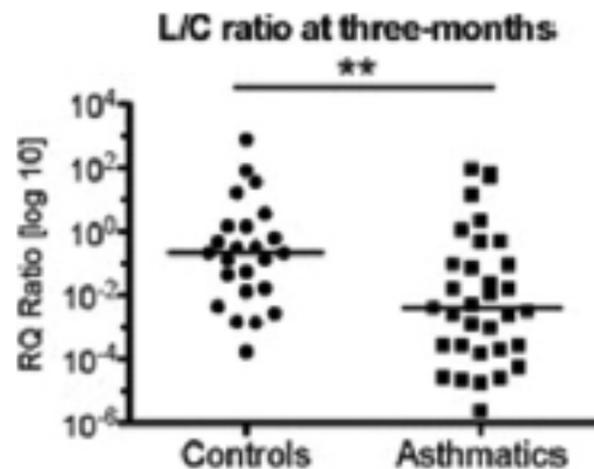


# Utiliser le microbiote

## ➤ Etudes cliniques

### ➤ Asthme et microbiote

*Arrieta et al, 2015 and Stiemsma et al, 2016*



*Le microbiote de l'enfant est prédictif de la survenue de l'asthme*

# *Utiliser le microbiote*

---

- Développement d'approche **thérapeutique** (pré/pro/sym) basée sur le microbiome.

# Utiliser le microbiote

---

- Développement d'approche **thérapeutique** (pré/pro/sym) basée sur le microbiome.
- Exemples des Fibres : **Partie végétale non digérée soluble ou insoluble participant à la physiologie intestinale.**
  - **Glucides plus ou moins complexes : 3 groupes**
    - **Fibres pariétales (cellulose, hemicellulose, pectines...)**
    - **L'amidon résistant (fraction non dégradée)**
    - **Oligosides (Sucres, GOS, FOS, XOS...)**

*Slavin et al, 2013*



# *Exemple des fibres*

---

- **Prébiotiques:** Introduits en 1995 : Gibson et Roberfroid
  - Ingrédient non digéré, stimule spécifiquement la croissance bactérienne bénéfique pour l'hôte.
  - **Oligosaccharides fonctionnels:**
    - GOS : lait, complément dans produits pour enfant,
    - FOS : chicorée, oignon
    - Inuline : chicorée, artichaut, banane, rhubarbe
    - XOS : Miel, lait, bambou



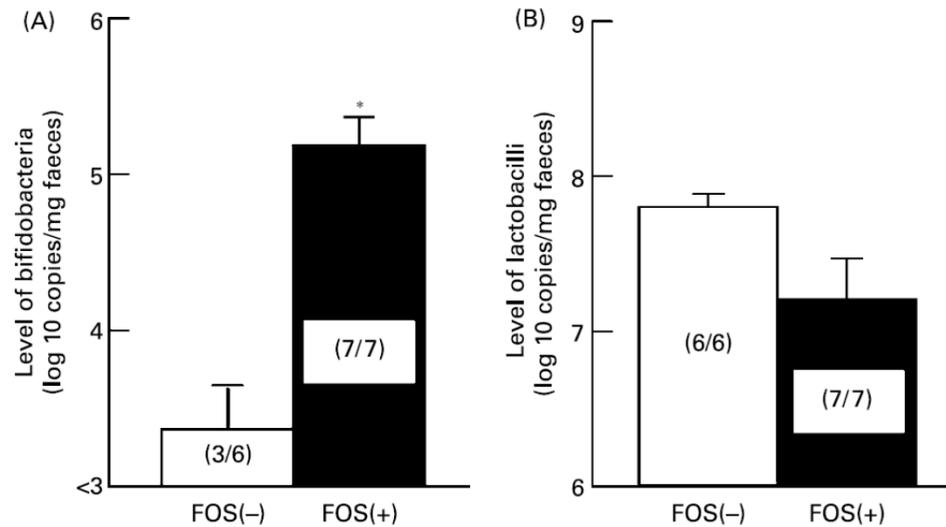
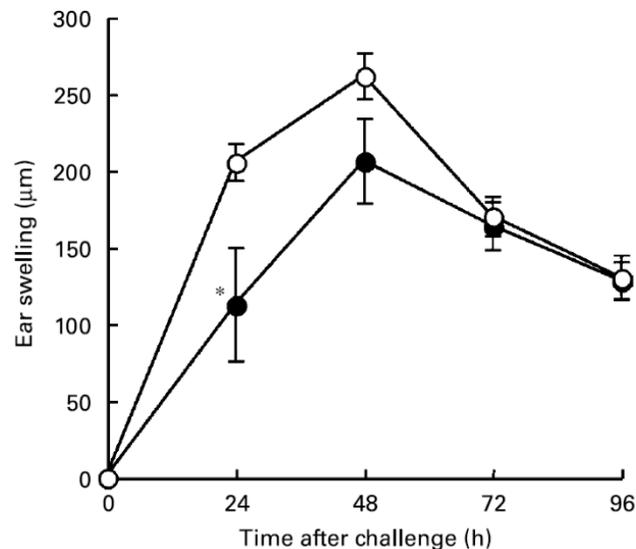
Stimulation de la croissance bactérienne, le métabolisme des lipides, immunité intestinale, résistance aux infections.

# Exemple des fibres

## ➤ Modèles précliniques

### ➤ Allergie cutanée (CHS 2,4DNB)

Watanabe et al, 2008

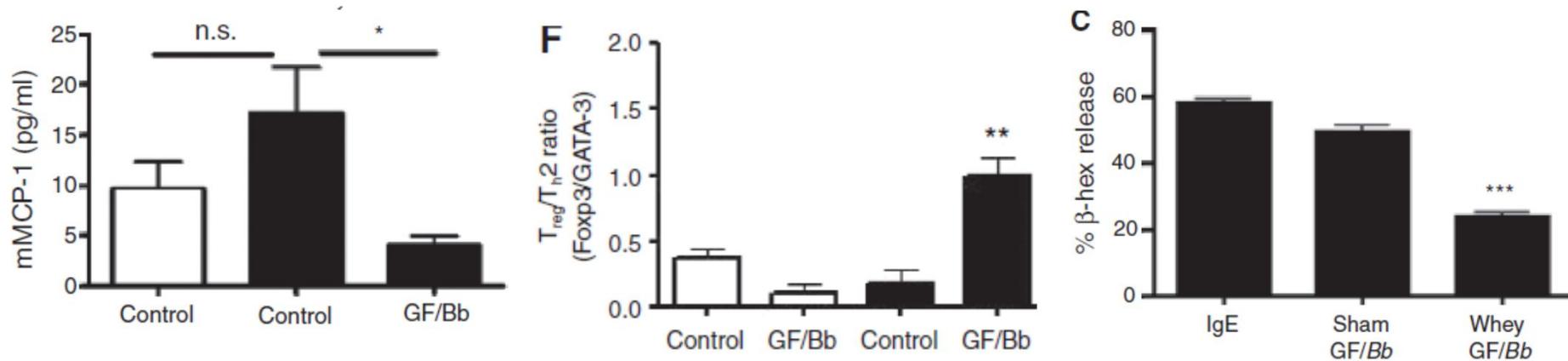


*fibre prébiotique (FOS) diminue l'inflammation cutanée via modulation du microbiote (augmentation des bifidobactéries)*

# Exemple des fibres

## ➤ Modèles précliniques

### ➤ Allergie alimentaire (CMA) *DeKivit et al, 2012*

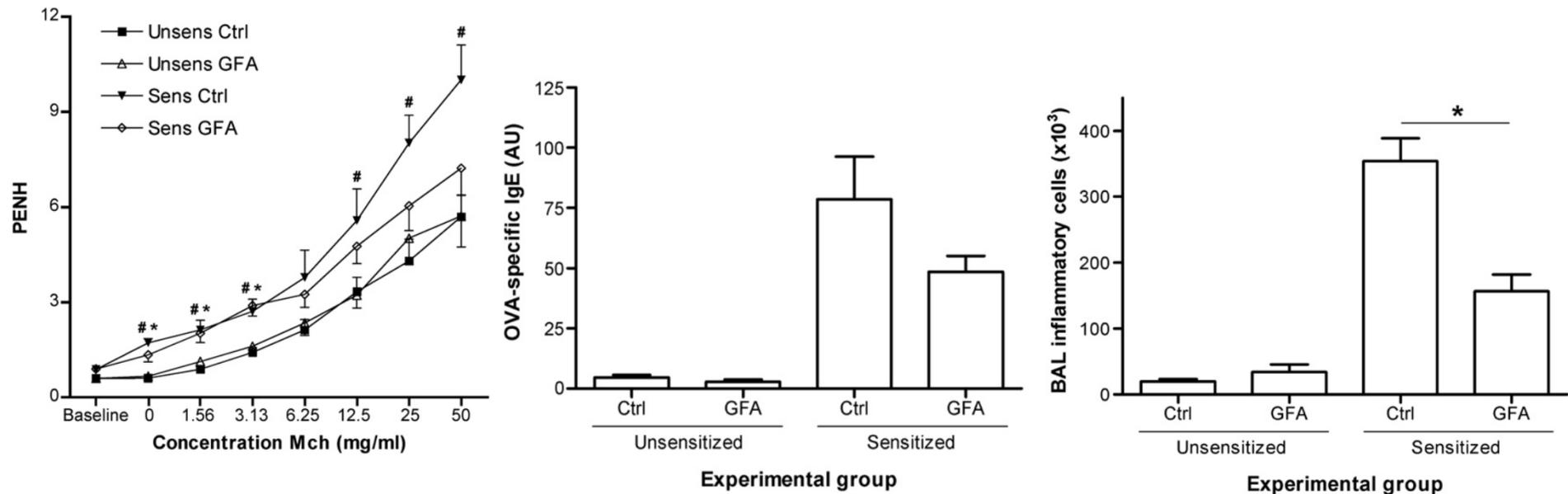


*fibres prébiotiques (FOS/GOS) associées à bifidobacterium diminuent les symptômes allergiques via l'inhibition de la dégranulation des mastocytes et la modulation de la balance Treg/Th2.*

# Exemple des fibres

## ➤ Modèles précliniques

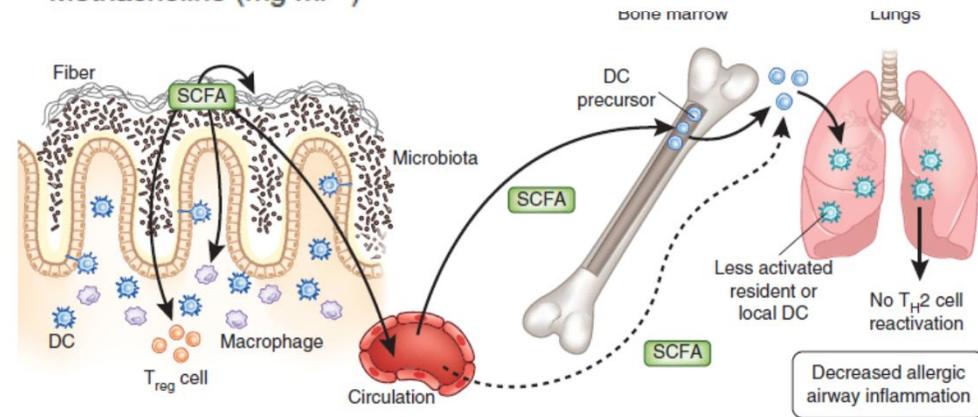
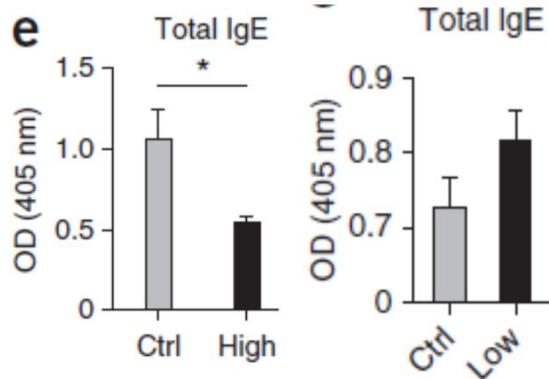
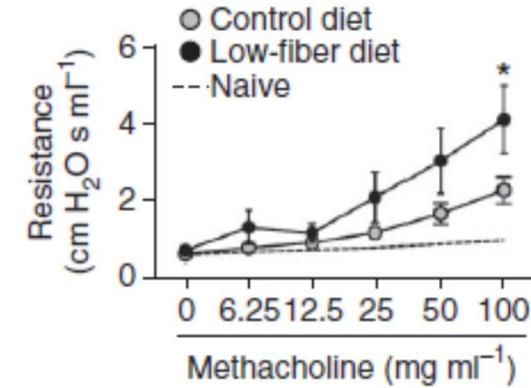
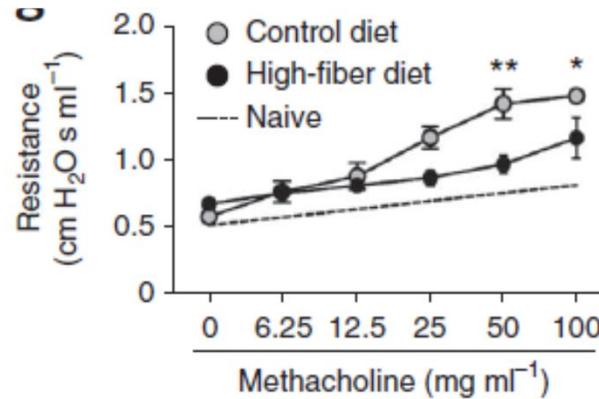
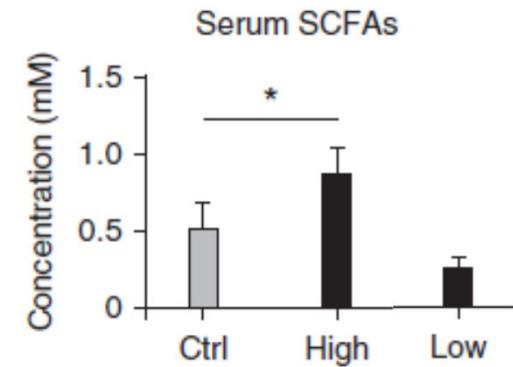
### ➤ Allergie respiratoire (OVA) Vos et al, 2007



*Souris Balbc supplémentées en GOS/FOS/pAOS (9/1) : diminution de l'hyper réactivité bronchique, des IgE spécifiques et de l'inflammation pulmonaire.*

# Microbiome intestinale et fibres

## ➤ Modèles précliniques *Trompette et al, 2015*

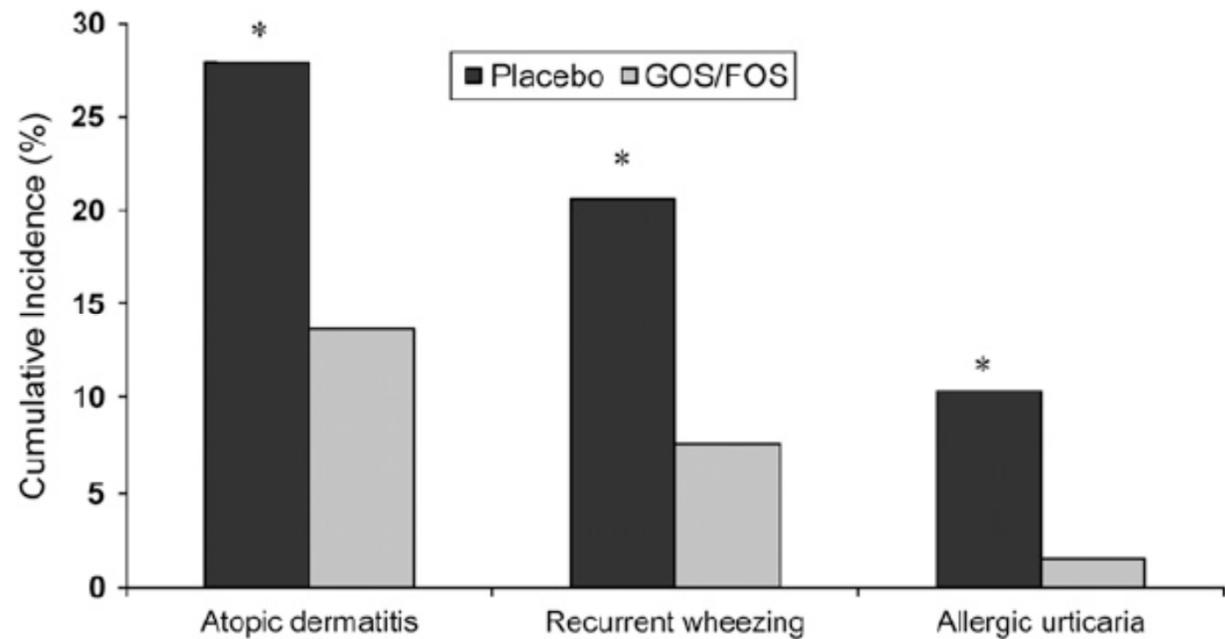
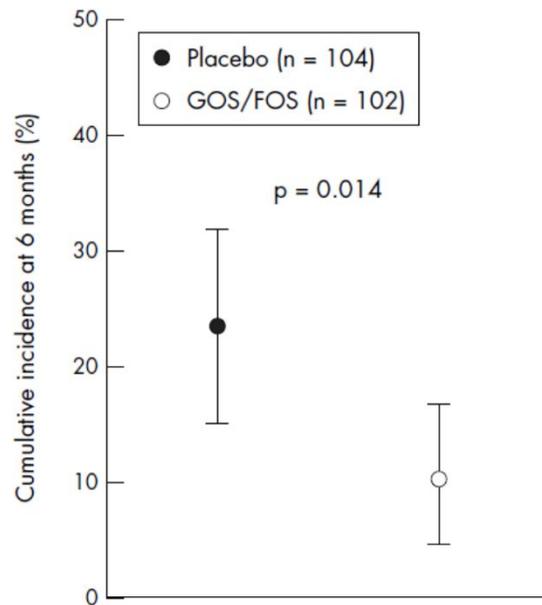


*Modulation de l'allergie et des AGCC via le récepteur GPR43 augmentant les précurseurs de cellule dendritique inhibant la réactivation Th2 au niveau tissulaire*

# Exemple des fibres

## ➤ Etudes chez l'homme

Effet préventif dans l'asthme et l'éczéma (*Moro et al 2006 and Ziegler 2008*) avec GOS/FOS ratio 9:1 chez les enfants.



# Exemple des fibres

---

## ➤ Etudes chez l'homme

- **Chez l'adulte: Pas de résultats concluants**
- **méta-analyses chez l'enfant** (Update de Cochrane database) *Osborn et al, 2013*
- (*Moro 2006; Ziegler 2007; Gruber 2010; Westerbeek 2010*)

2 études (226 enfants) : Non concluant dans l'asthme (*Moro 2006 et Westerbeek 2010*)

4 études (1218 enfants) : Non concluant dans l'eczéma

2 études : Pas de différences pour l'urticaire



***Hétérogénéité des études (type de prébiotiques, allaitement...)  
Biais de sélection***

***Intérêt de la période périnatale***

# Exemple des fibres

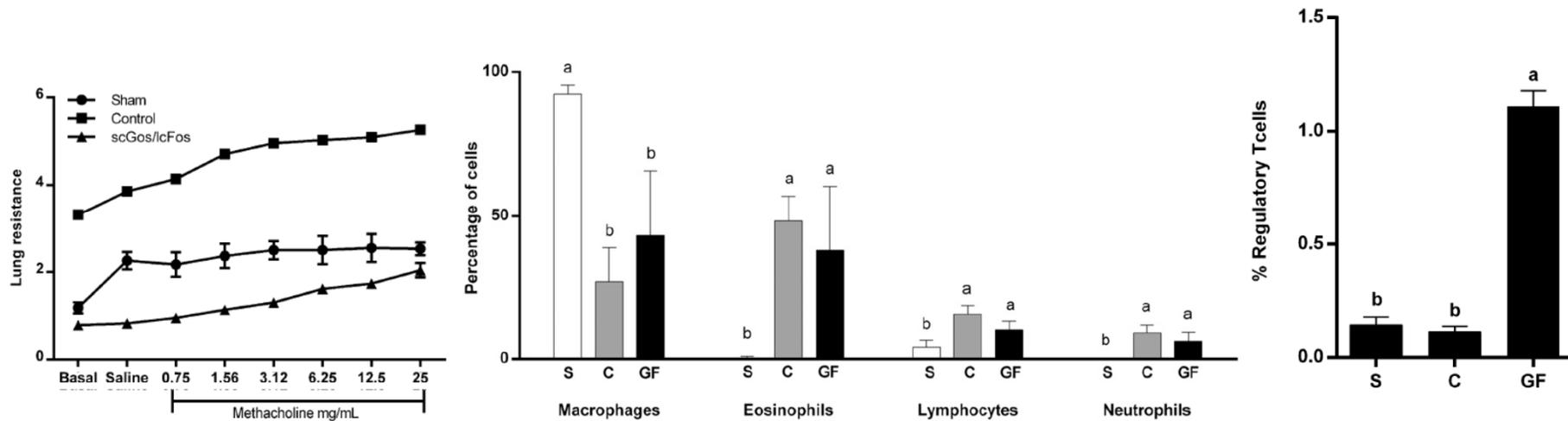
## ➤ Modèles précliniques

### ➤ Allergie respiratoire

Hogenkamp et al, 2015

Régime enrichi en FOS/GOS pendant la gestation

Modèle d'allergie OVA des souriceaux



*Un régime enrichi en fibre prébiotique (FOS/GOS) pendant la gestation diminue l'hyper réactivité bronchique chez la descendance par l'induction de cellules T régulatrice au niveau systémique*

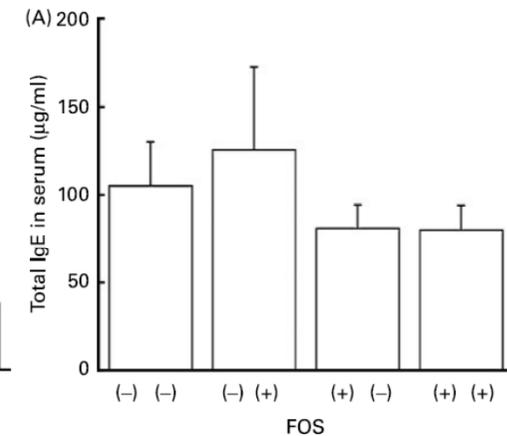
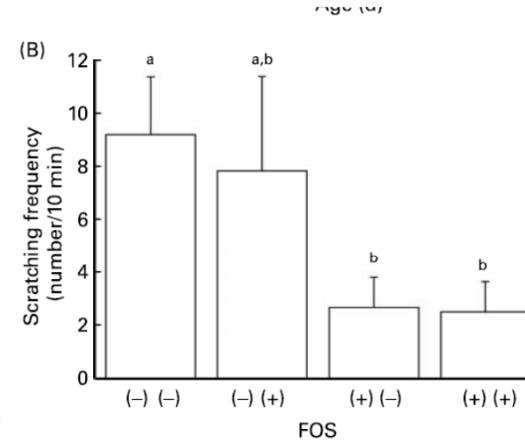
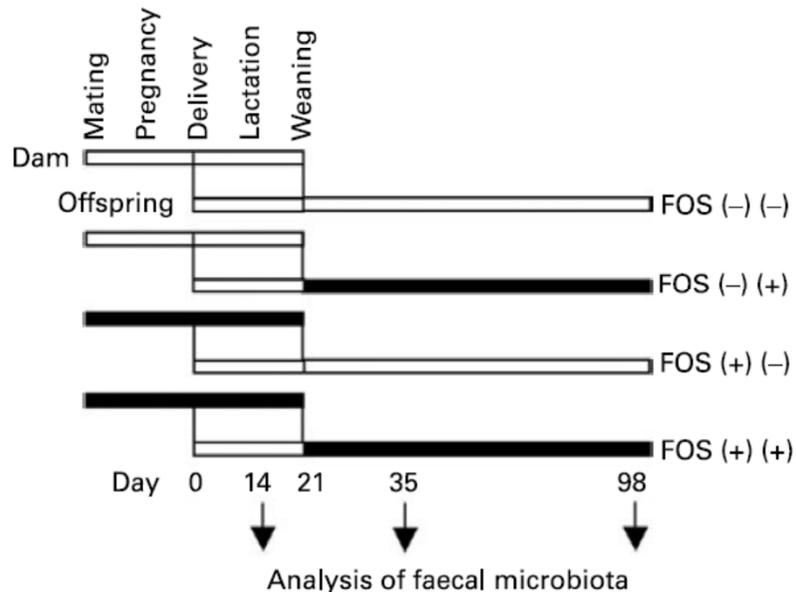
# Exemple des fibres

## ➤ Modèles précliniques

### ➤ Allergie cutanée

Fujiwara et al, 2010

Régime enrichi en FOS pendant la gestation et lactation



*Un régime enrichi en fibres prébiotiques (FOS) pendant la gestation diminue les symptômes d'allergie cutanée et les IgE de façon modérée chez la descendance indépendamment de la continuité du régime*

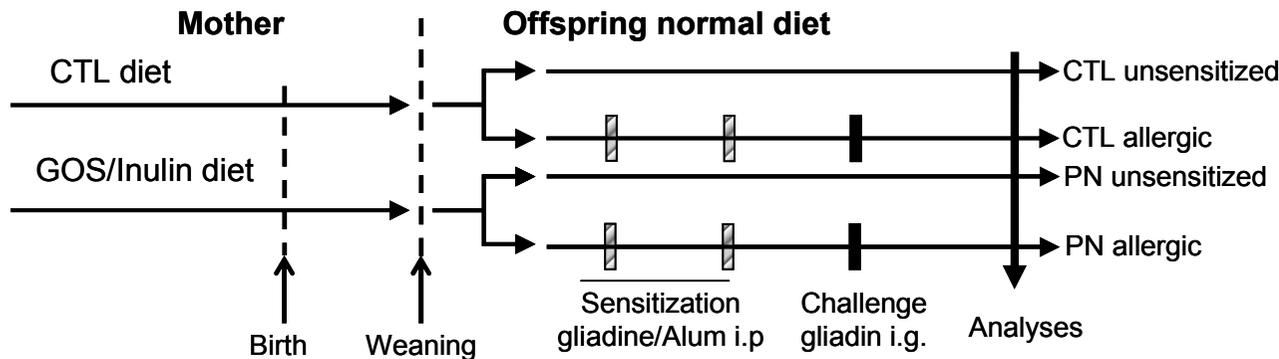
# Exemple des fibres

## ➤ Modèles précliniques

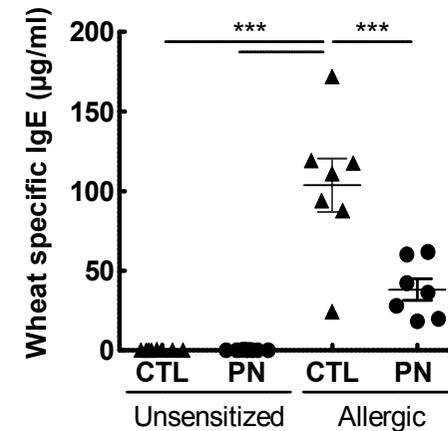
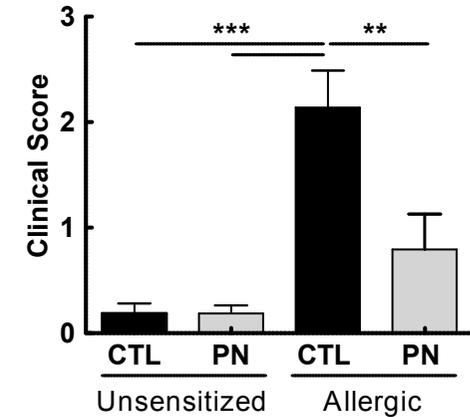
### ➤ Allergie alimentaire (blé)

*bouchaud and Castan et al, 2015*

Régime enrichi en GOS/Inulin pendant la gestation et lactation



*Un régime enrichi en fibre prébiotique (GOS/Inulin) pendant la gestation et l'allaitement diminue les symptômes d'allergie alimentaire et les IgE spécifiques chez la descendance*

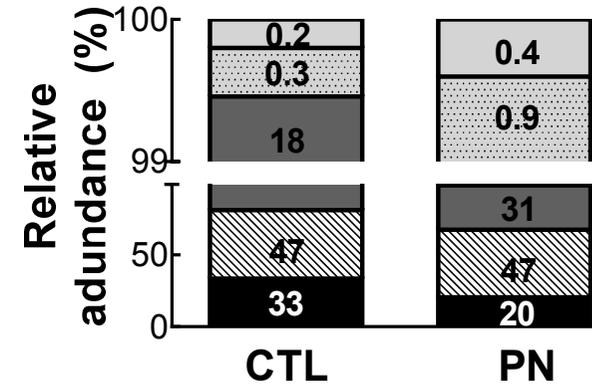
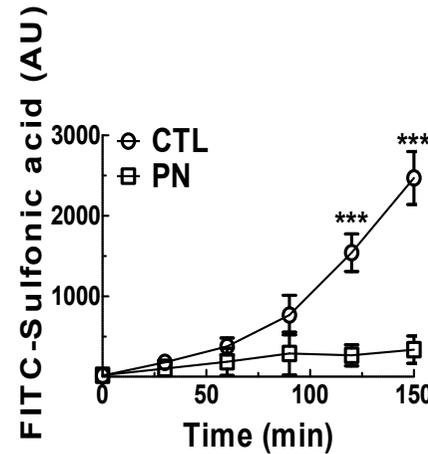
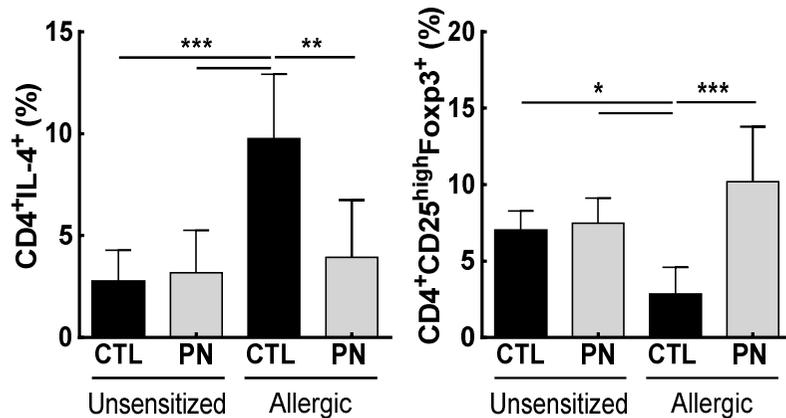


# Exemple des fibres

## ➤ Modèles précliniques

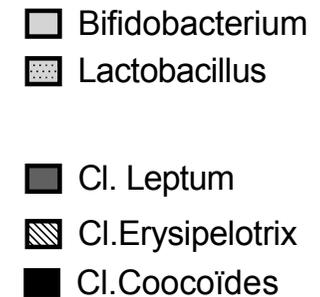
### ➤ Allergie alimentaire

*bouchaud and Castan et al, 2015*



*Un régime enrichi en fibre prébiotique (GOS/Inulin) pendant la gestation et l'allaitement :*

- Diminue la réaction de type Th2 et augmente les Treg
- Protège contre l'augmentation de la perméabilité intestinale
- Module la diversité du microbiote



# Exemple des fibres

---

## ➤ Etudes chez la femme enceinte

➤ Régime enrichi en FOS augmente l'IL-27 dans le lait maternel  
(Kubota et al, 2014)

➤ Régime enrichi en GOS/FOS pendant le 3eme trimestre augmente les bifidobactéries chez les mères sans transmission (Shadid et al, 2007)



**Aucune évidence de l'effet préventif dans les allergies chez l'humain donc aucune recommandation n'est faite pour le moment**



**PREGRALL**

(PREbiotiques pendant la Grosseesse pour prévenir des ALLergies)



# Conclusion

---

- Microbiomes (intestin, poumons, peau?) joue un rôle dans le développement des allergies
- Mécanismes pas élucidés : métabolites, souches, diet, exposome.
- Impact dans l'allergie (diagnostic, thérapeutique, médecine personnalisé)

# Recherche futures

---

- Relation : évolution de l'allergie (atopie)
- Méthodes de culture/analyse : Isolation et culture de bactérie pulmonaire (anaérobie) → Effect souche spécifique
- Effet lié à l'exposition ou la colonisation/métabolites?

