

MICROBIOTE ET METAGENOME

PR MARIE-JOSE BUTEL

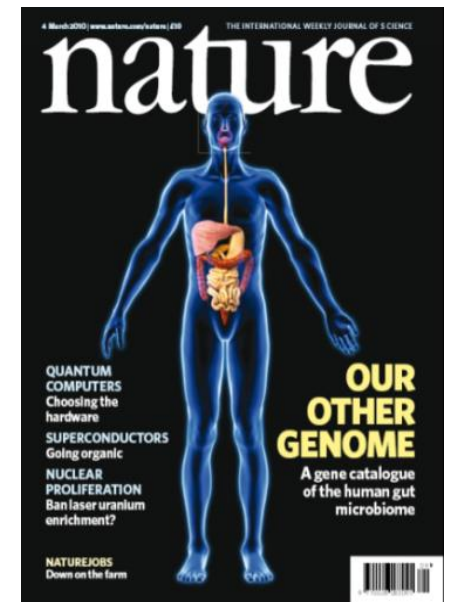
ASSOCIATION DES PÉDIATRES DU SUD DE
PARIS

26 AVRIL 2017

Microbiote, microbiome, métagénome

- **Microbiote** = ensemble des micro-organismes vivants dans un environnement spécifique = **microbiome**
 - Association mutualiste
- **Métagénome** = ensemble des gènes présents dans un environnement spécifique
- **Métagénomique** = technique permettant d'analyser de l'ensemble des gènes dominants d'un écosystème
 - MetaHIT
 - Human Microbiome Project

Qin, Nature 2010

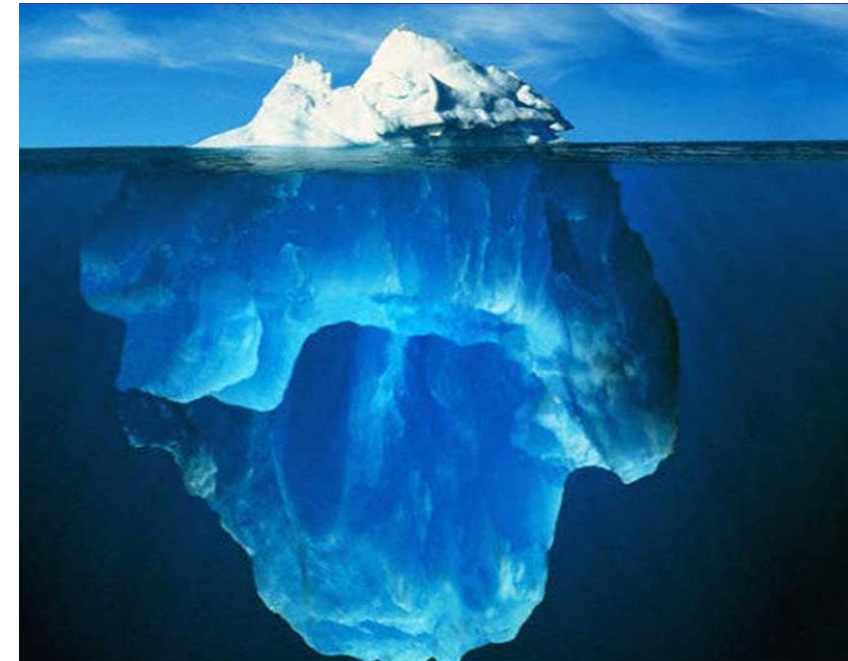


Le microbiote associé à l'homme = un écosystème complexe

- L'homme = 10^{14} cellules procaryotes
 - \Rightarrow 50% humain, 50% bactéries
 - = symbiose microbiote-hôte
- 10 millions de gènes bactériens
 - 1 individu = $\sim 500\,000$ gènes (x25 /génomme humain) *Li 2014*
- ~ 500 espèces / individu,
 ~ 5000 espèces en tout
- La majorité: côlon

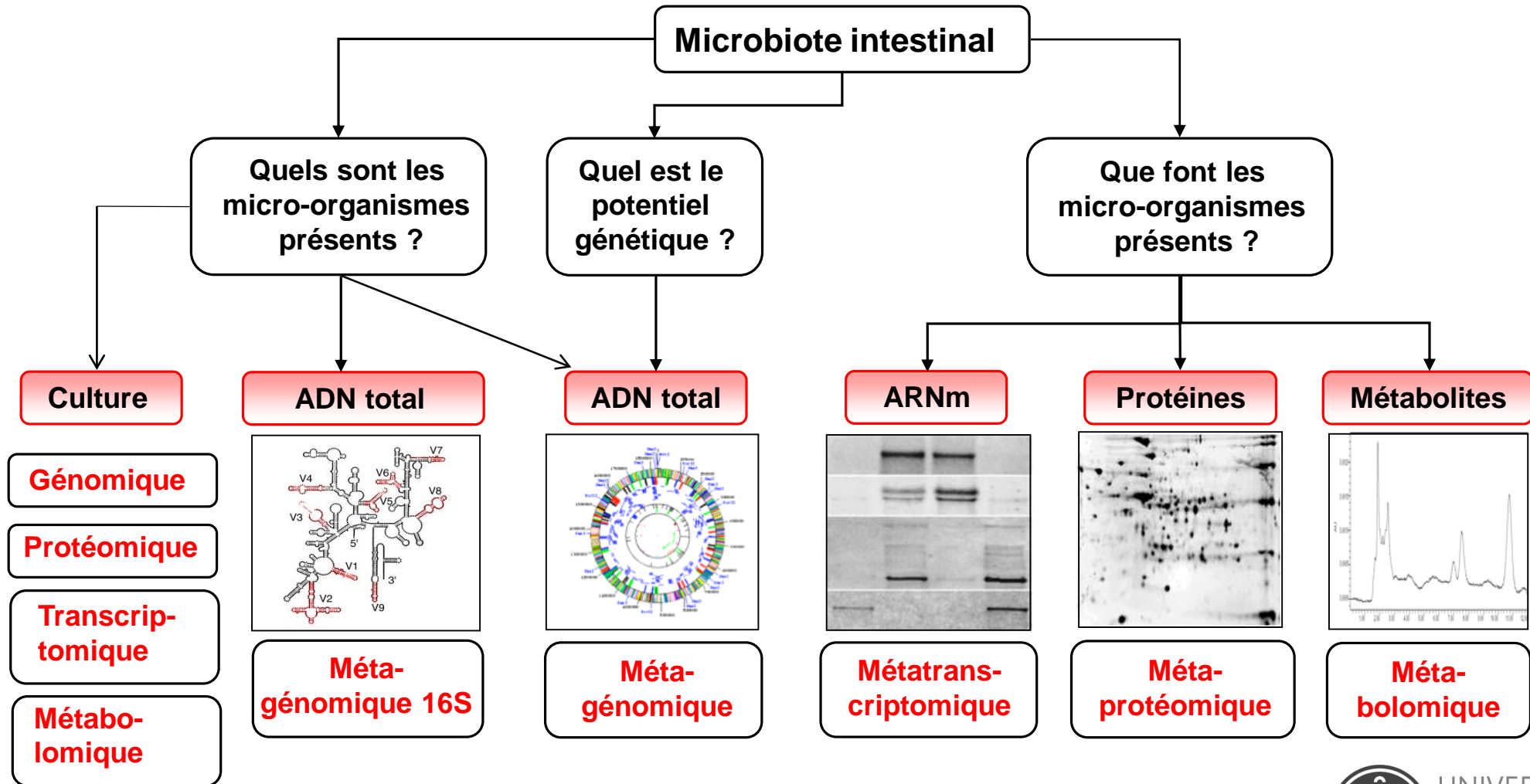


Fraction
cultivable
~30%

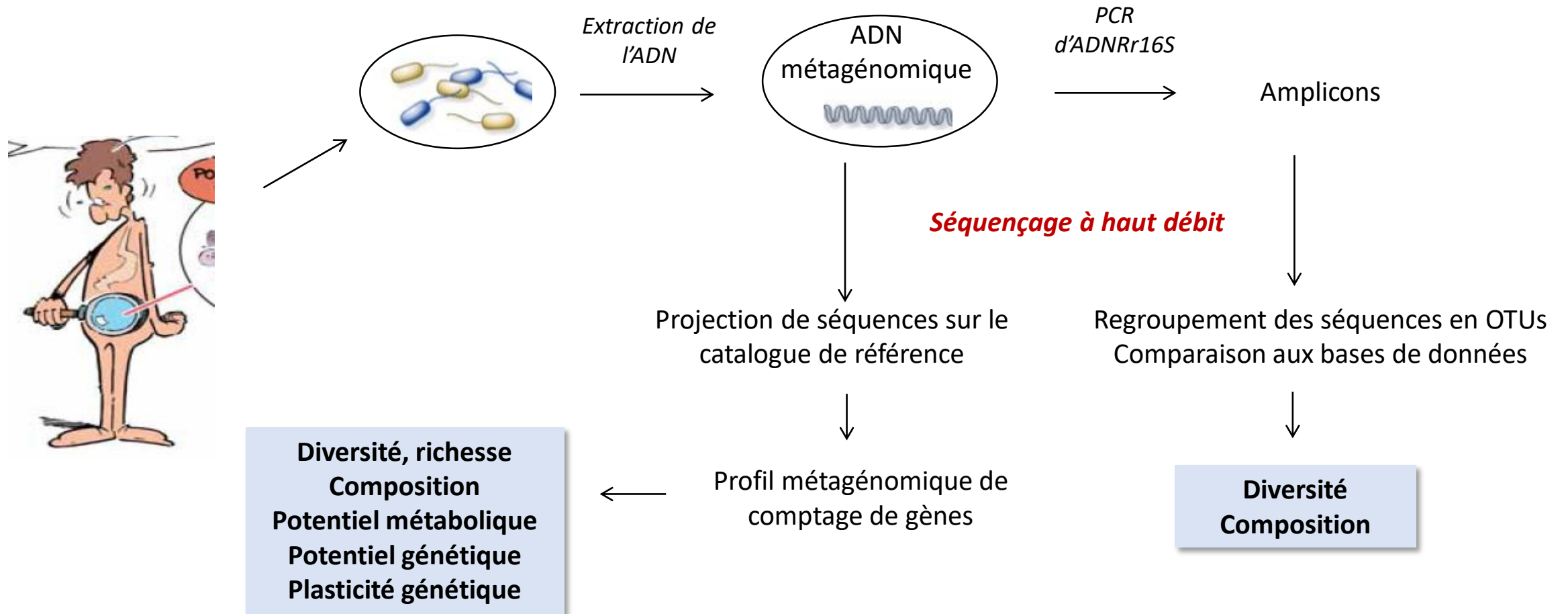


Fraction non
cultivable
~70%

Le microbiote = comment l'explorer?



L'approche métagénomique



Le microbiote intestinal = une biodiversité importante

Culture

Microbiote dominant 10^9 - 10^{11} /g

Bacteroides
Eubacterium
Peptostreptococcus
Bifidobacterium

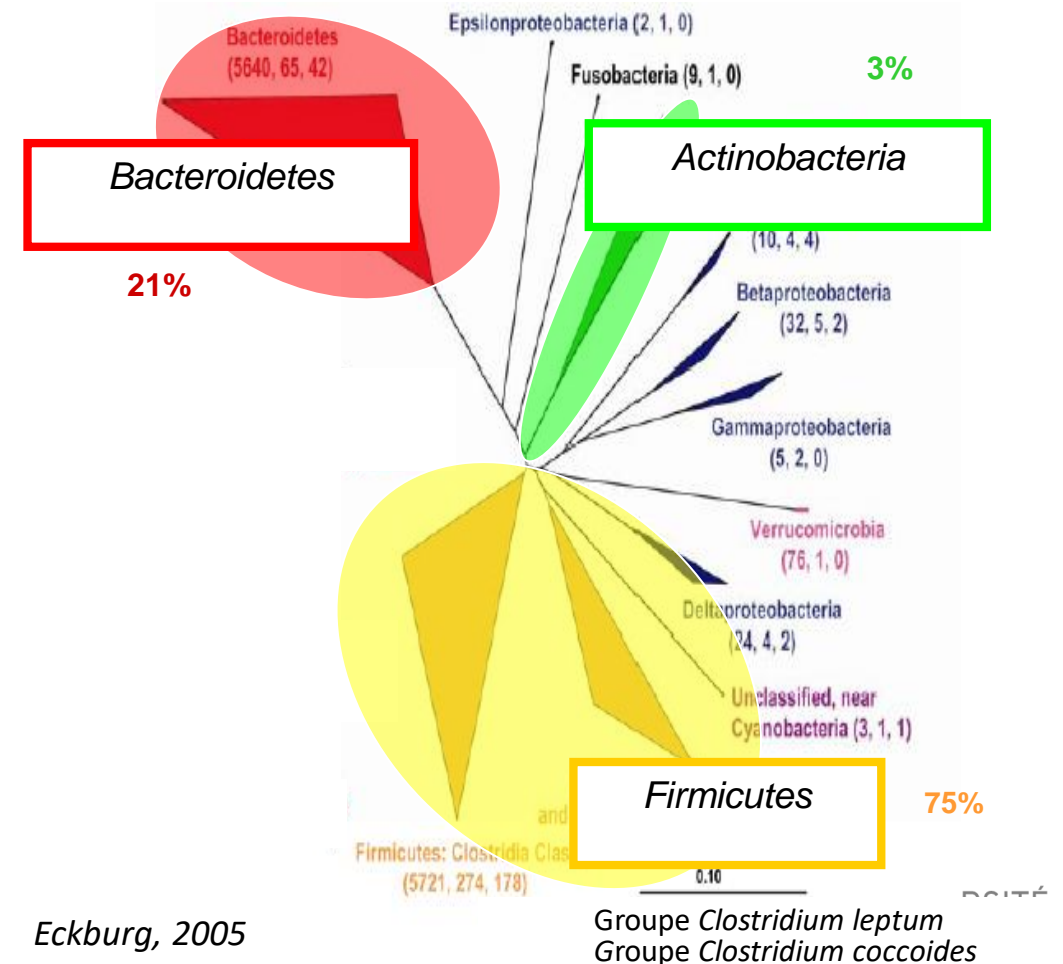
Microbiote sous-dominant 10^5 - 10^9 /g

Entérobactéries
Entérocoques
Clostridium
Lactobacilles
Staphylocoques

Microbiote transitoire $<10^6$ /g

Levures
Pseudomonas

Biologie moléculaire : 3-4 phyla dominants



Le microbiote intestinal = un véritable partenaire

• Fonctions physiologiques

✓ Métaboliques

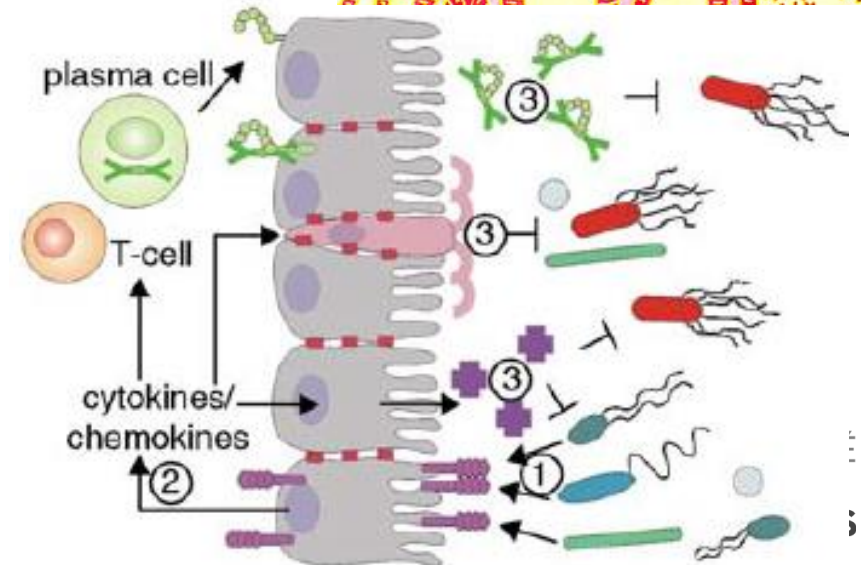
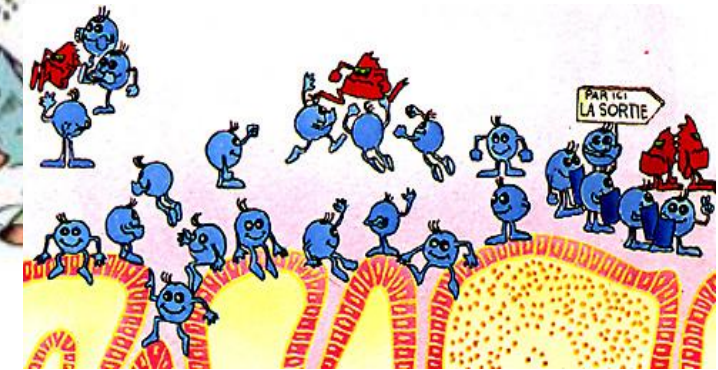
- ✓ Production de métabolites: AGCC: action trophique et systémique, ...
- ✓ Apport d'enzymes
- ✓ Stockage d'énergie

✓ Barrière

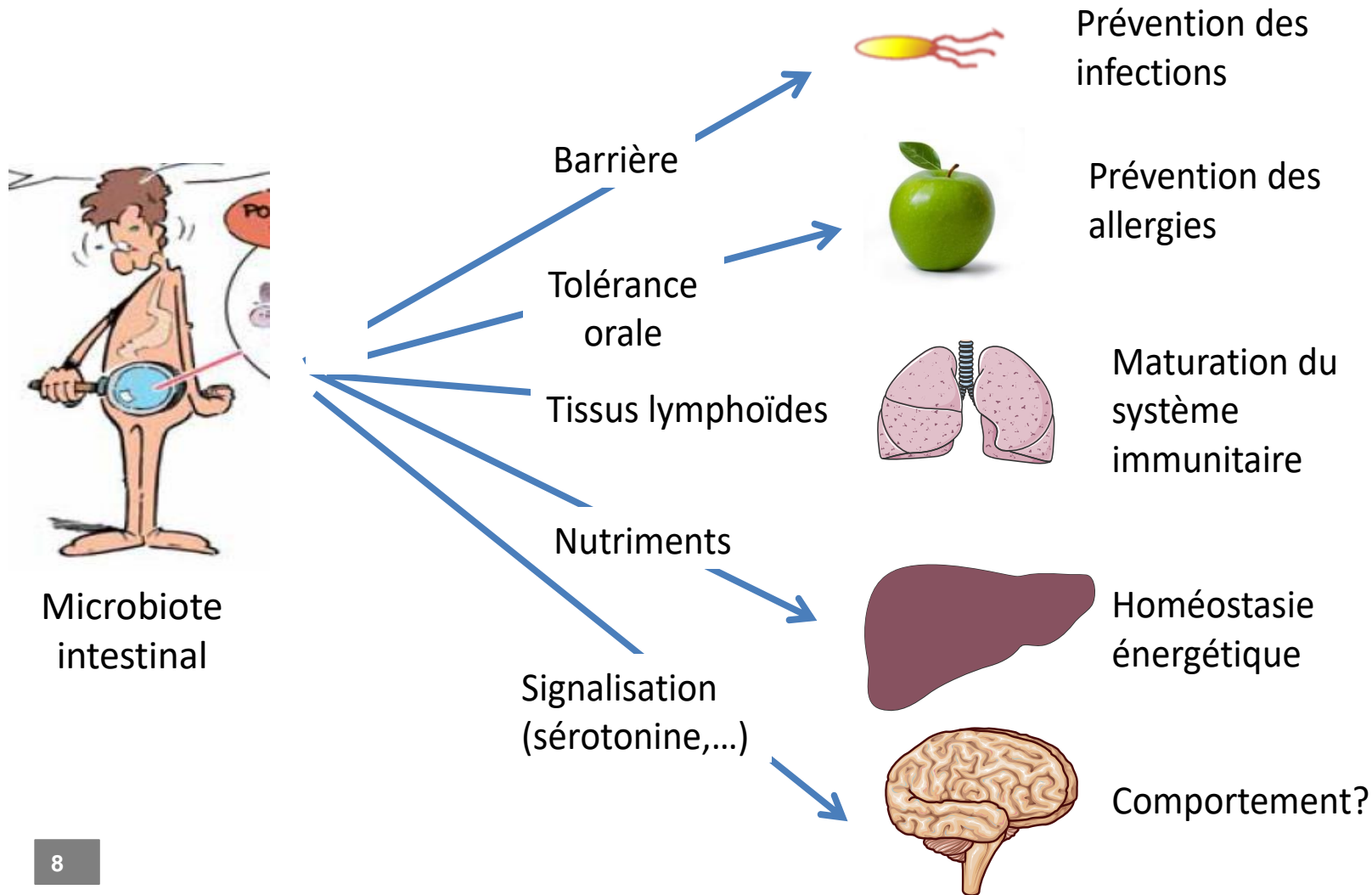
- ✓ ⇒ R à la colonisation par les pathogènes

✓ Maturation **immunitaire**

- ⇒ Production de cytokines, stimulation des Treg, polarisation des Th0 en Th1 et Th2
- ⇒ Stimulation des défenses: mucus, SIgA, PAM, défensines...



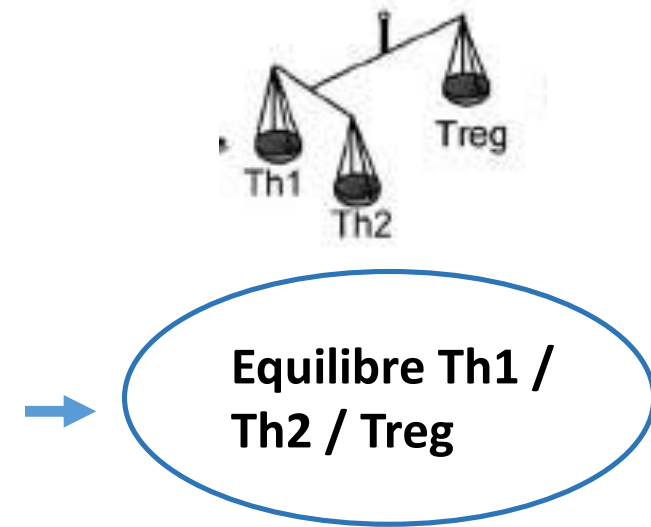
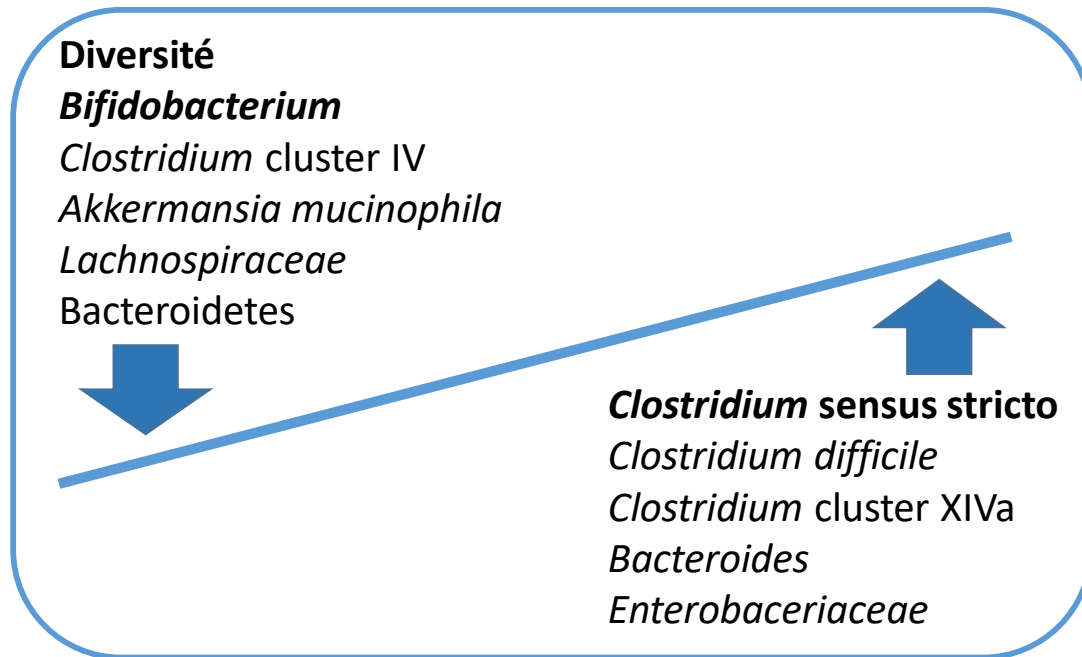
Le microbiote intestinal = un véritable partenaire



- **Dysbiose** ⇒ **pathologies**
 - ✓ pathologies infectieuses
 - ✓ allergies, MICI, obésité, diabète
 - ✓ pathologies hépatiques, autisme...

Dysbiose et allergie

Etudes microbiologiques ⇒ différences entre les enfants allergiques et non allergiques



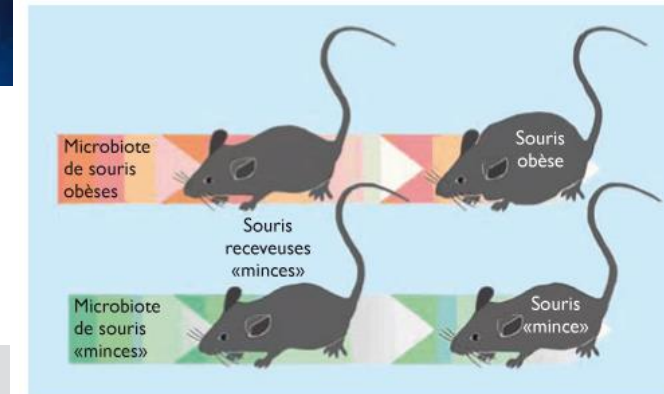
↗ Th2, ↘ Treg ⇒ allergie
↗ Th1 ⇒ MICI, maladies autoimmunes

Microbiote et obésité

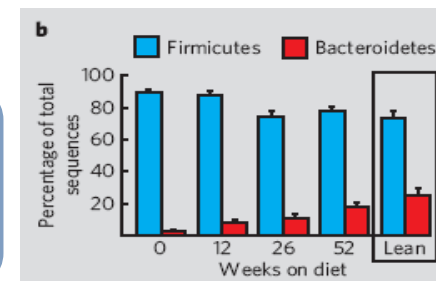
- Souris conventionnelles / souris axéniques
⇒ 40% de masse grasse en plus



- Transfert de l'obésité par le microbiote (souris)



- Ratio Firmicutes/ Bacteroidetes > obèses
✓ ↘ ratio si perte de poids grâce à un régime

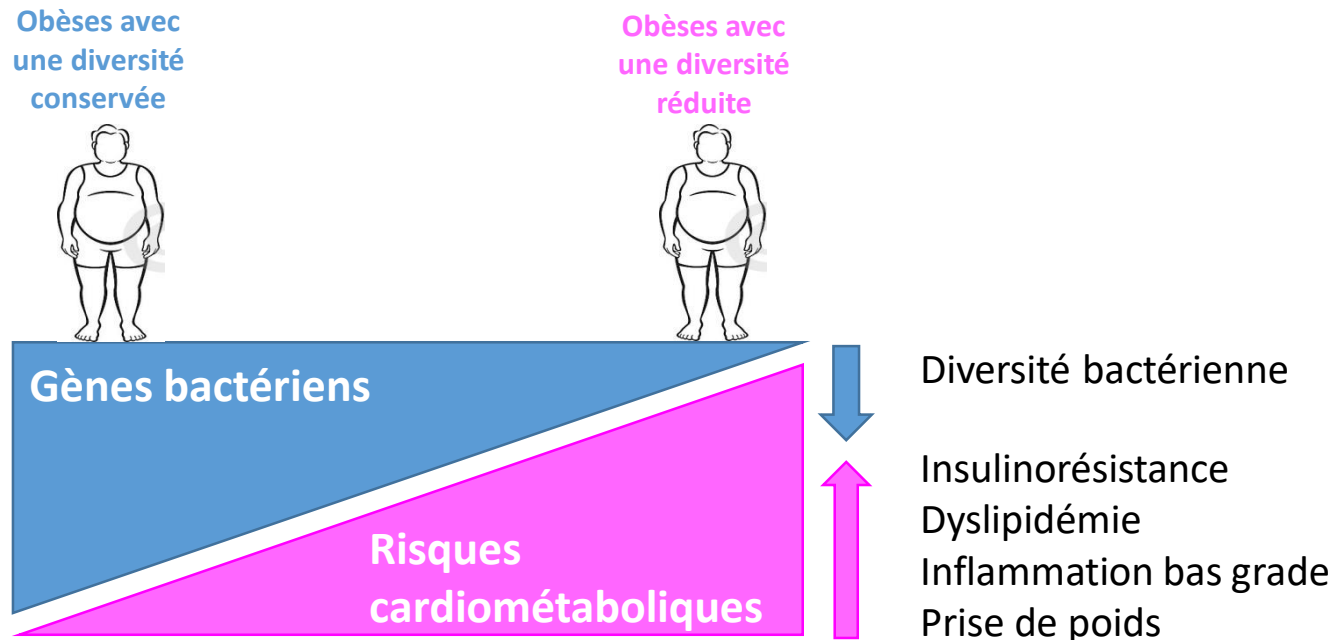


Ley et al, Nature 2006

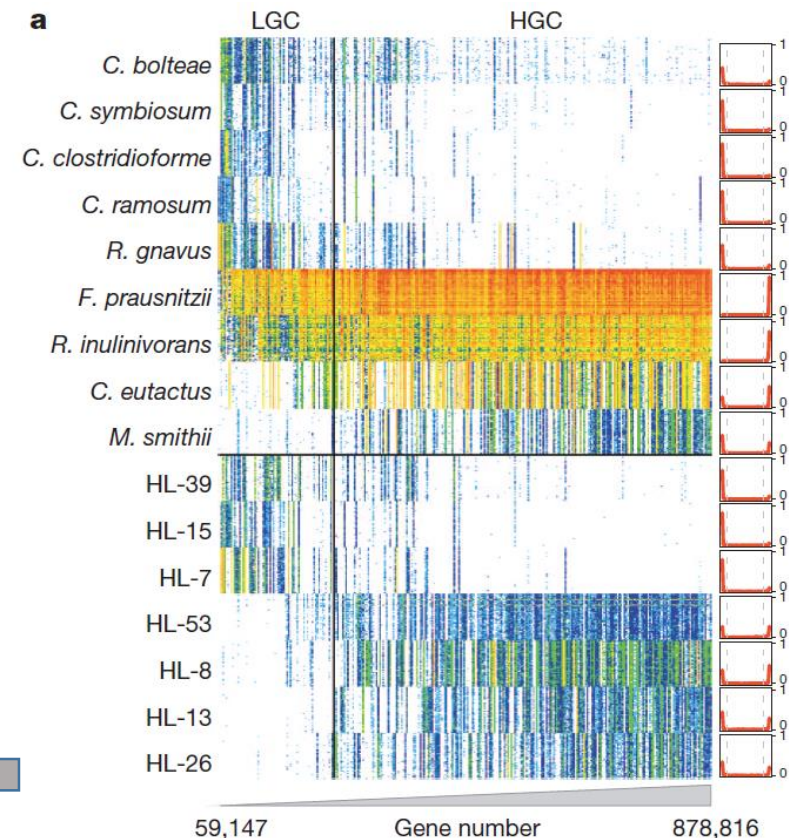
- Différences de microbiote entre obèses et non obèses *Turnbaugh 2009*

Microbiote et obésité

- Analyse du microbiote de 292 adultes danois obèses (169) et non obèses (123)
 - Différences de profil entre obèses et non obèses
 - Différence la plus notable: individus avec microbiote réduite et grande diversité



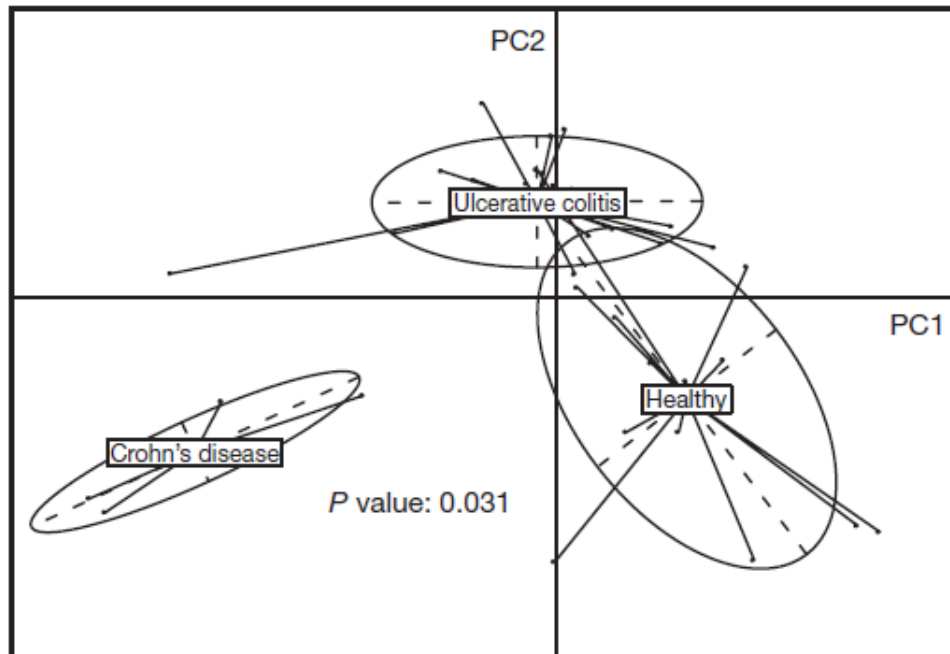
Microbiote de diversité réduite: microbiote de type inflammatoire



59,147 Gene number 878,816

Le Chatelier, Nature 2013

Microbiote et MICI



Données métagénomiques de MetaHit

Figure 4 | Bacterial species abundance differentiates IBD patients and healthy individuals. Principal component analysis with health status as instrumental variables, based on the abundance of 155 species with $\geq 1\%$ genome coverage by the Illumina reads in at least 1 individual of the cohort, was carried out with 14 healthy individuals and 25 IBD patients (21 ulcerative colitis and 4 Crohn's disease) from Spain (Supplementary Table 1). Two first

Qin et al, Nature 2011

- Maladie de **Crohn** :
 - ↘ groupe *C leptum* (Firmicutes)
 - ↘ *Faecalibacterium praustnitzii*

Sokol, IBD 2009

Microbiote et axe intestin-cerveau

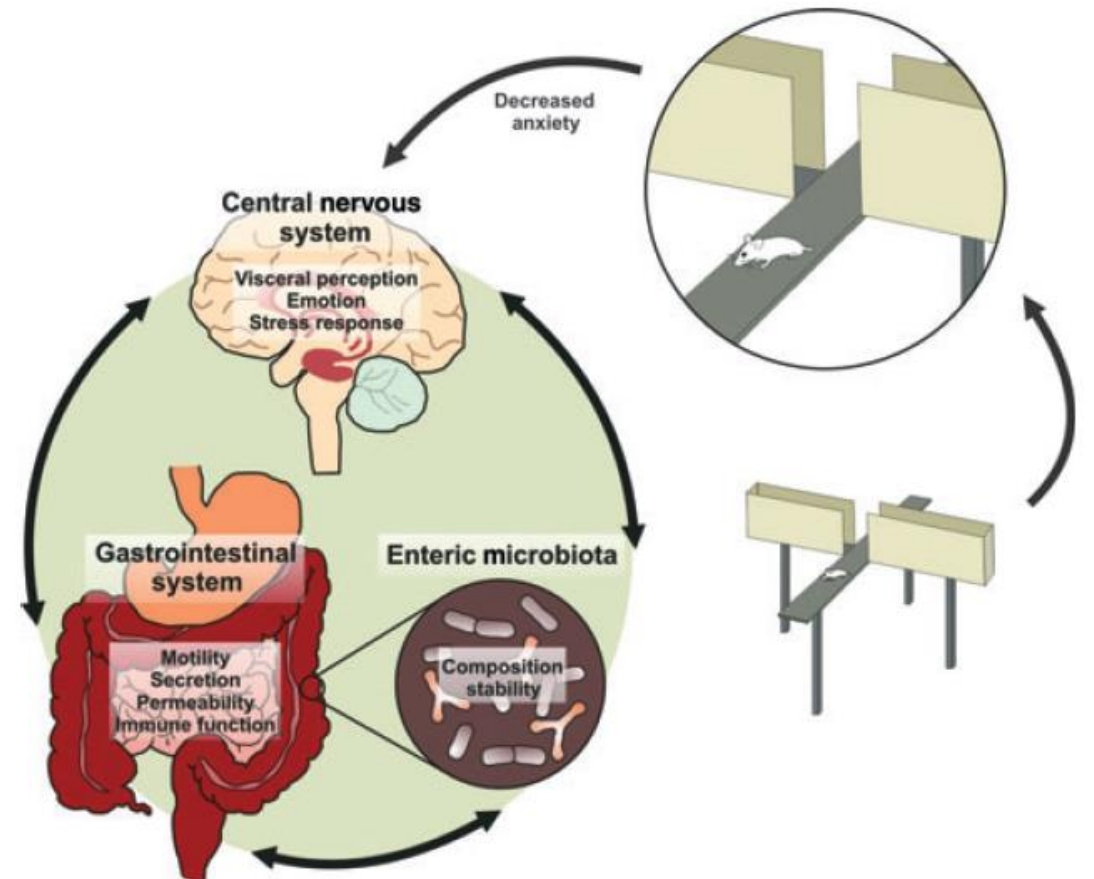
- Animaux axéniques \Rightarrow comportement lié à l'anxiété modifié
 \Rightarrow Implication du microbiote dans l'anxiété, le comportement

- Rongeurs sans microbiote: réactivité accrue de l'axe hypothalamo-surrénalien du stress corrélé à un comportement anxieux, corrigé si colonisation microbienne à la naissance

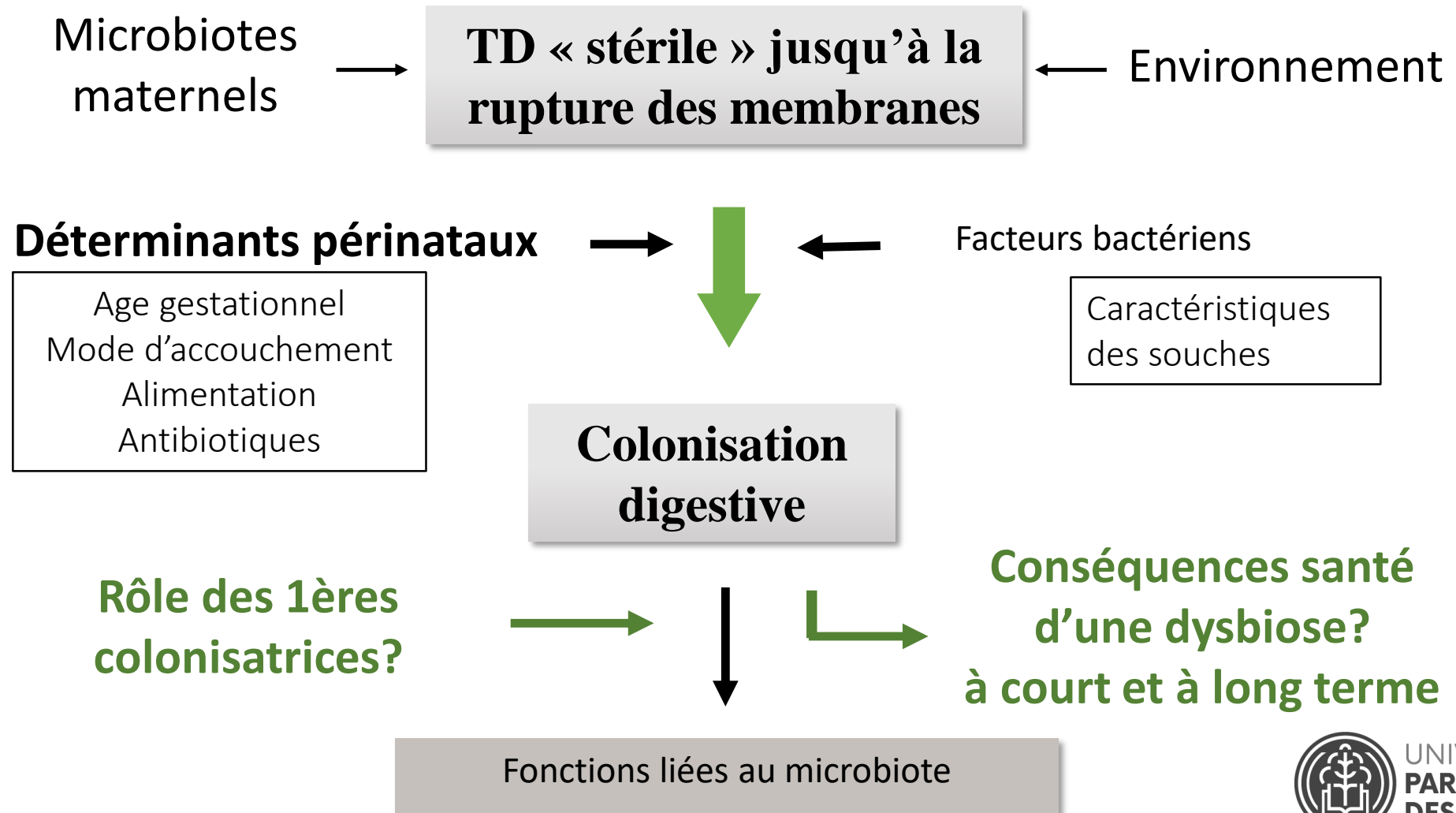
Sudo 2004, Nishini 2013

- Perturbations du microbiote initial \Rightarrow troubles nociceptifs, mais pas de comportement anxieux

O'Mahony 2014

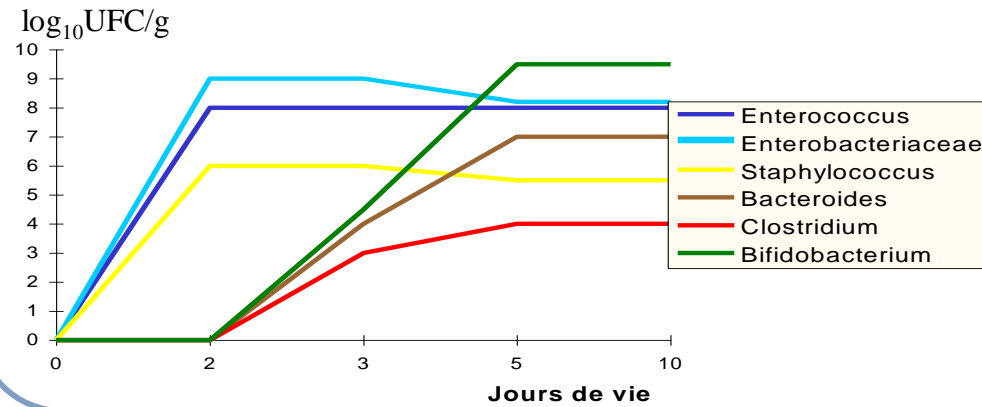


Une étape clé: l'établissement du microbiote



Etablissement du microbiote

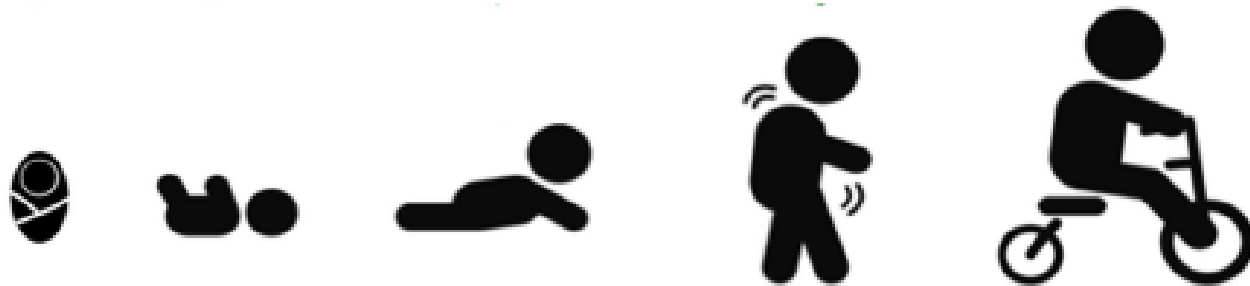
1ers jours de vie d'un enfant né à terme, par voie basse et allaité



Dominance du genre *Bifidobacterium*

Diversité du microbiote

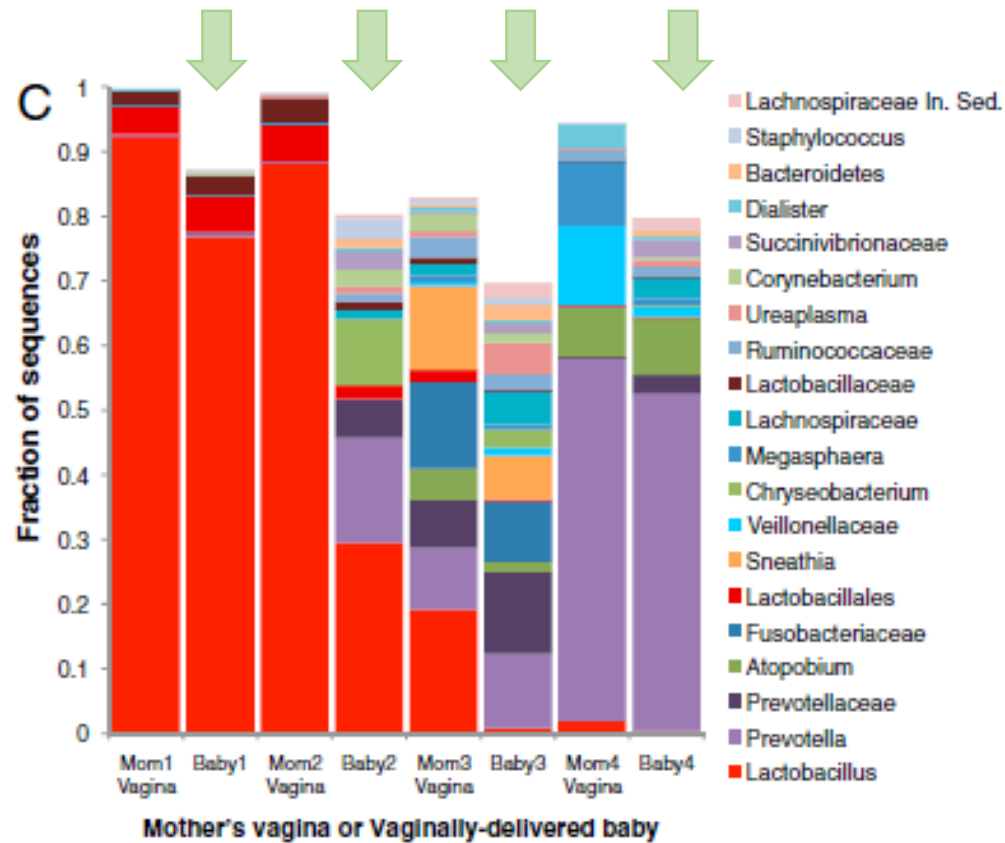
Colonisation par les bactéries d'origine maternelle



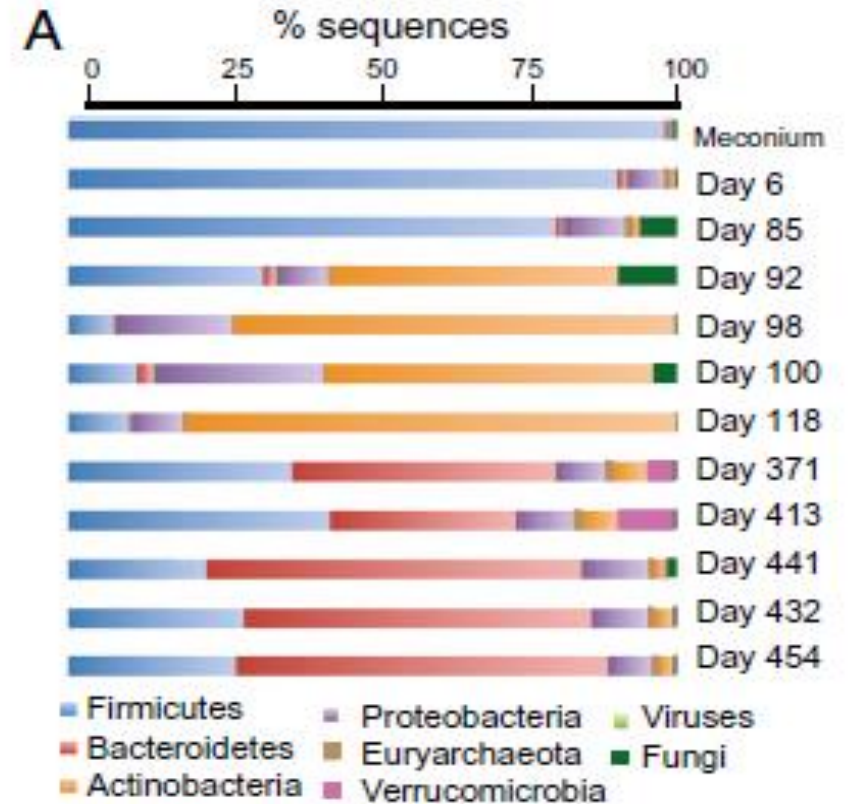
⇒ microbiote « adulte » vers 3 ans

Augmentation de la diversité et de la stabilité

Etablissement du microbiote



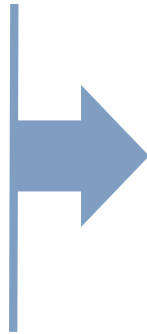
Dominguez-Bello, 2010



Koenig, 2011

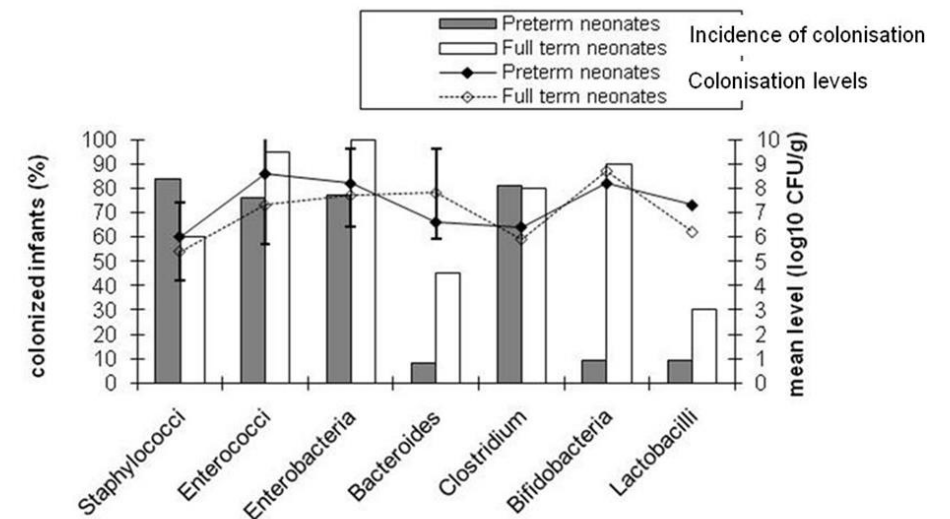
Déterminants périnataux \Rightarrow dysbioses

Age gestationnel
Mode d'accouchement
Alimentation
Antibiotiques
Environnement



Facteurs périnataux \Rightarrow influent sur le profil du microbiote
Modifications peuvent être prolongées dans le temps

- Césarienne
 - Etude américaine sur des adultes d'âge moyen de 46 ans: altération du profil du microbiote *Goedert 2014*
- Prématurés
 - Dysbiose +++ chez les grands et très grands prématurés

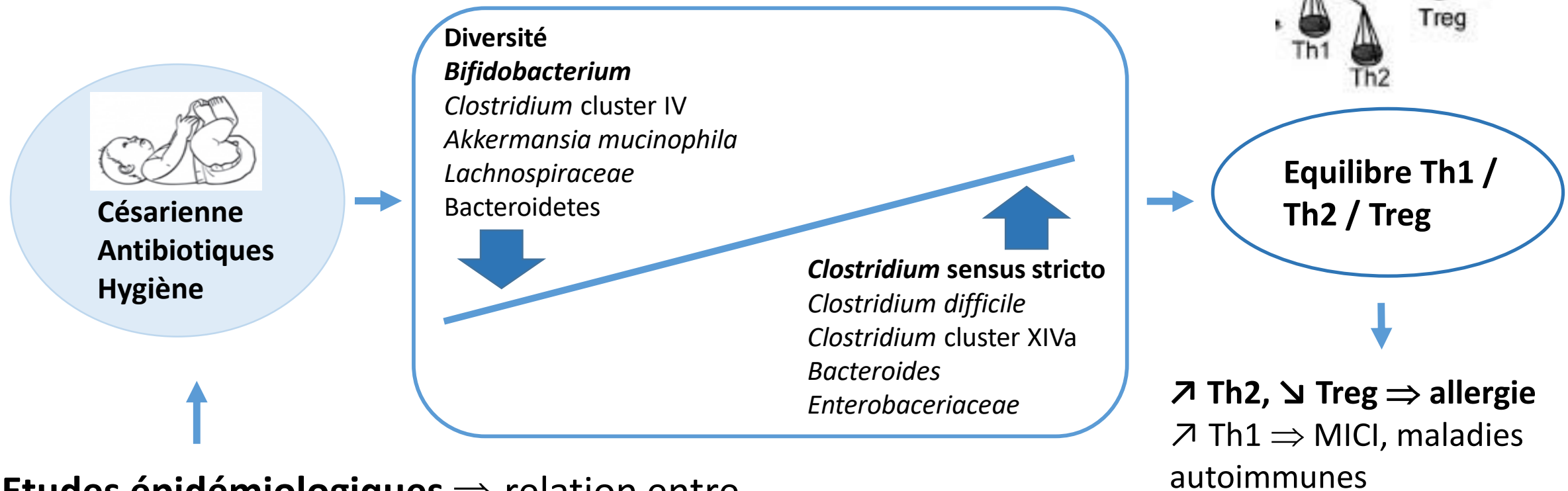


79 prématurés 25-<32 SA, 1 mois de vie,
41 suivis 1 an

Conséquences santé à court et long terme de ces dysbioses ?

Dysbiose précoce et allergie

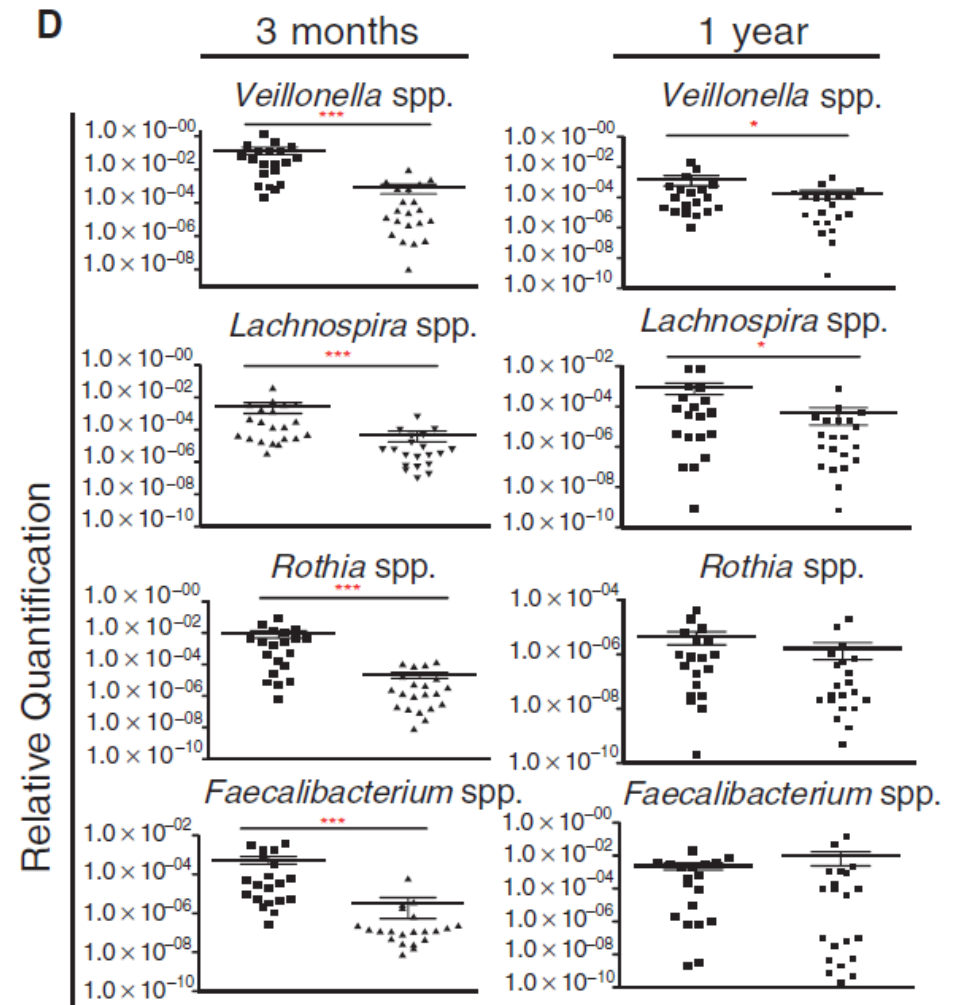
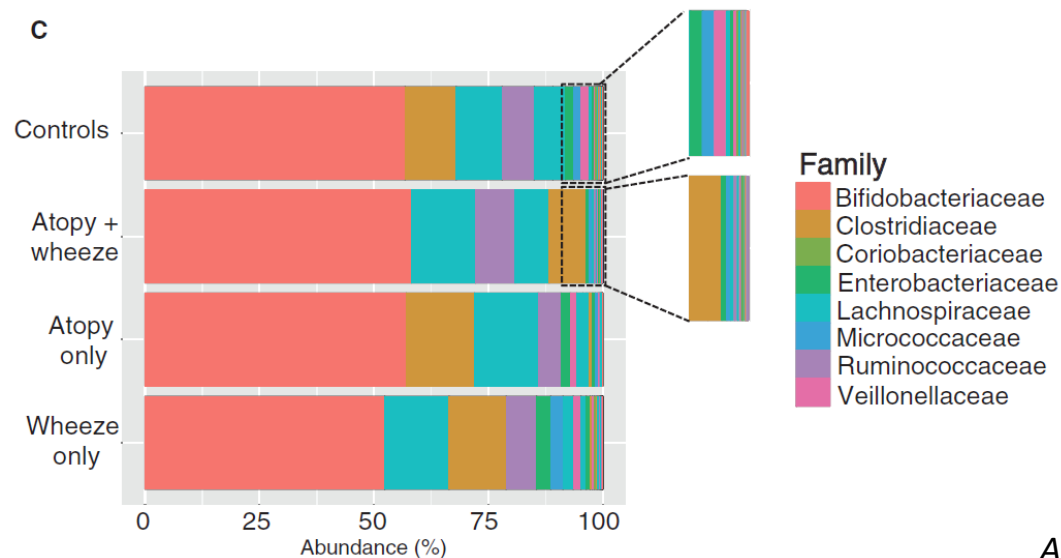
Etudes microbiologiques ⇒ différences entre les enfants allergiques et non allergiques



Etudes épidémiologiques ⇒ relation entre déterminants périnataux et allergies

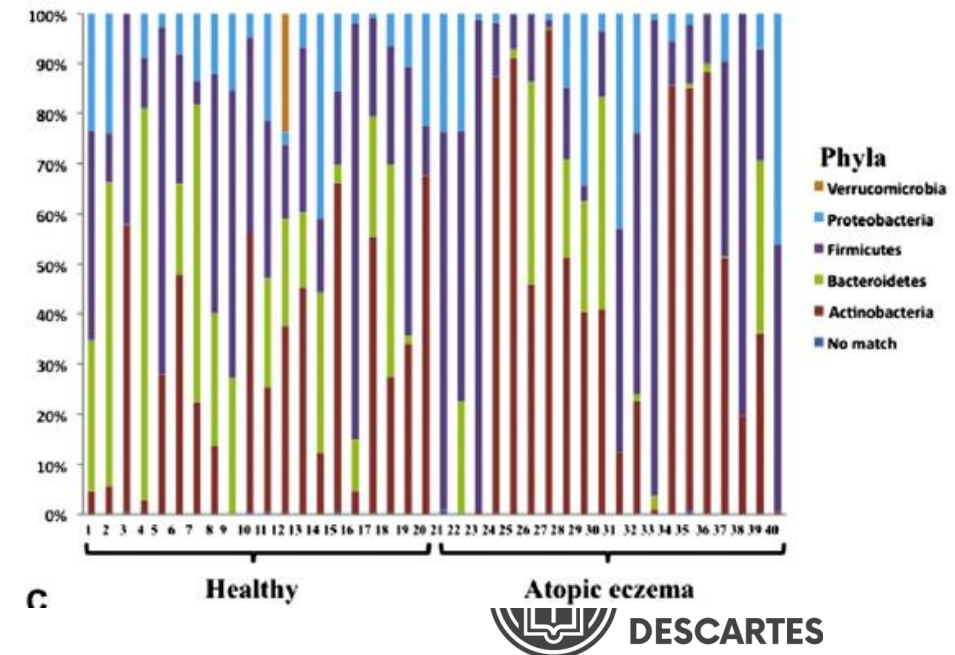
Dysbiose précoce et allergie

- Etude ancillaire de la cohorte canadienne CHILD
 - 319 enfants, prélèvements de selles à 3 mois et 1 an
 - 1 an: 3 groupes cliniques: atopie, respiration sifflante, atopie + resp. sifflante
 - 3 ans: détermination de l'index de prédiction d'asthme
- ⇒ ↘ de l'abondance relative de 4 genres bactériens
- Modèle de souris asthmatique
 - Amélioration par la supplémentation avec ces 4 genres bactériens



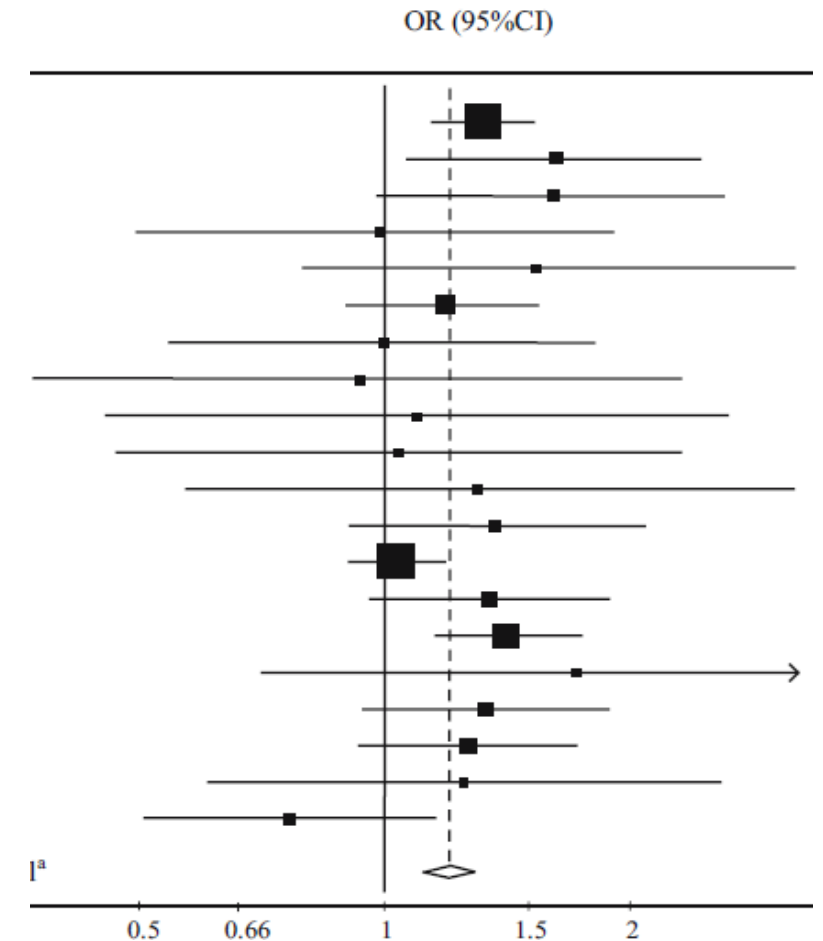
Dysbiose précoce et allergies

- Association **naissance par césarienne** et risque d'allergies (asthme, allergie alimentaire) *Tollanes 2008, McKeever 2002, Bager 2003, Koplin 2008*
 - Etude de Goebert: plus d'allergie chez les adultes nés par césarienne
 - Risque d'allergie x 2 chez des enfants nés par césarienne sur une cohorte de 432 enfants avec ATCD d'allergie *Pistiner 2008*
- **Antibiothérapie** à l'âge <1mois \Rightarrow diversité + faible à 1 mois (Bacteroidetes +++) \Rightarrow risque allergique \nearrow à 2 ans *Abrahamsson 2012*
- **Nnés prématurés**
 - ✓ 2 études: risque plus faible d'allergie chez les grands et très grands prématurés *Siltanen 2011, Barbarot 2013*
 - ✓ Grands prématurés: risque \nearrow d'asthme et allergies pendant la 1^{ère} année de vie *Perez-Yarza 2015*



Dysbiose précoce et maladies autoimmunes

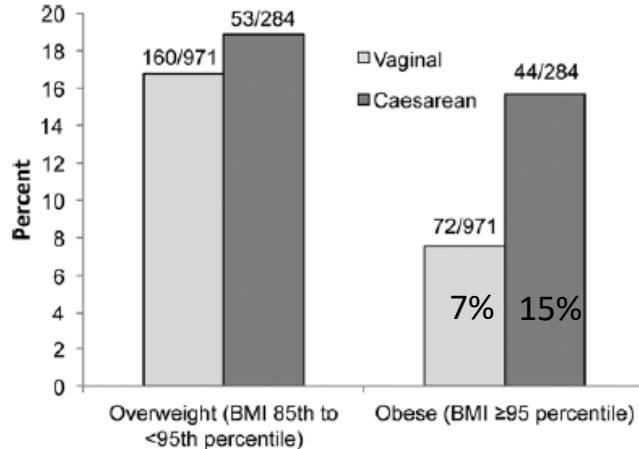
- Méta-analyse ↗ de 20% du risque de **diabète de type 1** chez les enfants nés par césarienne
Cardwell 2008
- Association antibiotiques à large spectre pendant les 2 premières années de vie et naissance par césarienne : ↗ du risque de diabète de type 1 (cohorte danoise)
Clausen 2016 (Plos one, Epidemiology)
- Naissance prématurée ↗ le risque de syndrome métabolique, et est associée avec une ↘ de la sensibilité à l'insuline *Tinnion 2014*



Dysbiose précoce et obésité

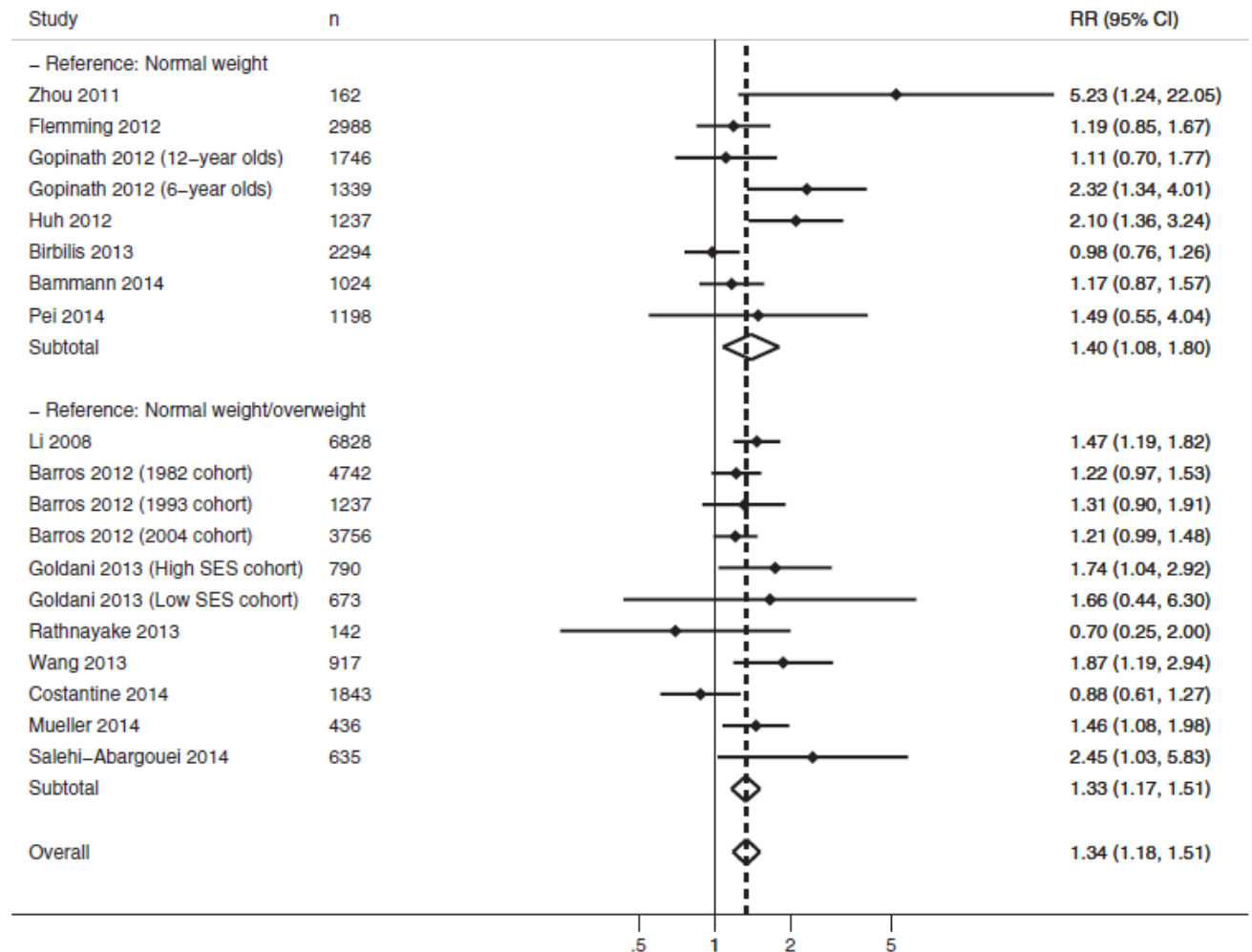
• Suivi d'une cohorte

- A 3 ans, 1255 enfants \Rightarrow IMC
- \Rightarrow risque d'être obèse x2 pour les enfants nés par césarienne



Huh 2012

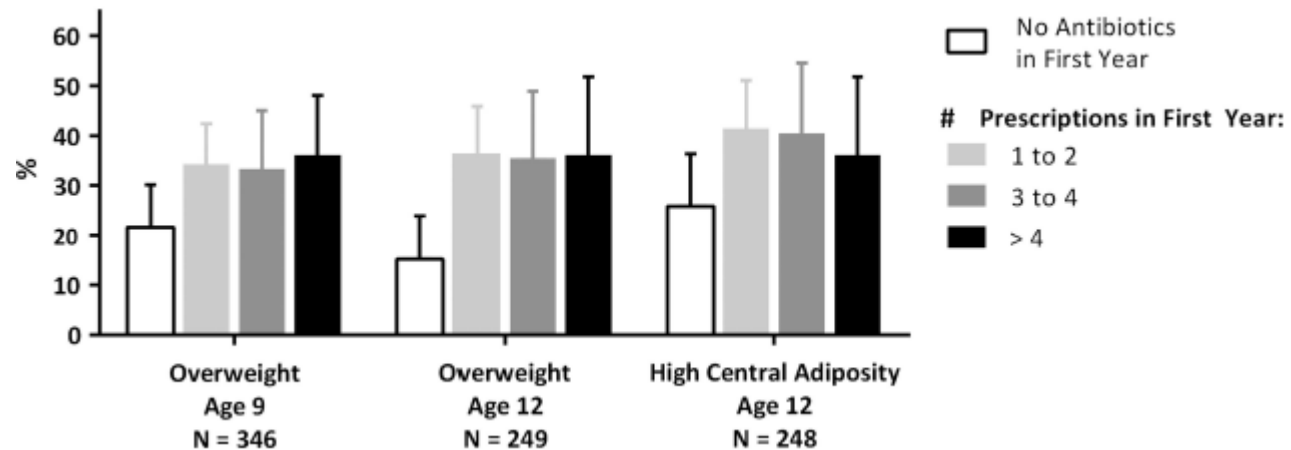
• Méta-analyse relation césarienne – obésité 24 études éligibles *Kuhle 2015*



Dysbiose précoce et obésité

- **Relation antibiothérapie précoce – obésité** *Cox LM 2015*

Azad 2014



- **Peu d'études incluent l'analyse du microbiote**

- 25 enfants âgés de 7 ans, en surpoids ou obèses vs 24 enfants âgés de 7 ans de poids normal, appariés sur ≠ critères
- ⇒ plus faibles niveaux de bifidobactéries à 6 mois et un an et plus hauts niveaux de *S. aureus*

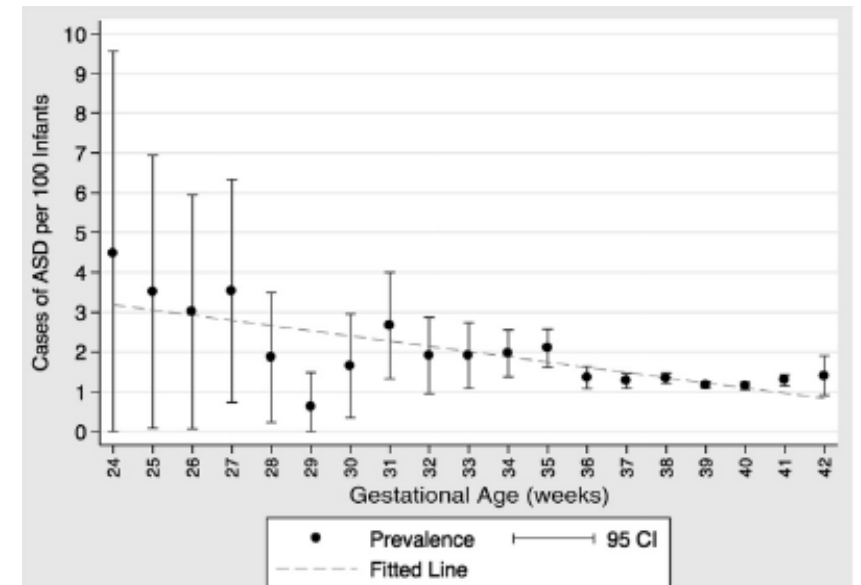
Kalliomaki 2008

- **Prématuré?**

Microbiote et axe intestin-cerveau

- ⇒ Implication du microbiote dans l'anxiété, le comportement...
- Quelques d'études ⇒ différences dans le microbiote de NN sains et souffrant **d'autisme** *Buie 2015*
 - Clostridium* +++ *Louis 2012*
 - Cause ou conséquence?
- Rôle des métabolites de fermentation? *Wang, 2012*
- Risque x 3 de développer un autisme chez le prématuré**
Risque ↗ quand l'AG ↘ *Kuzniewicz 2014*

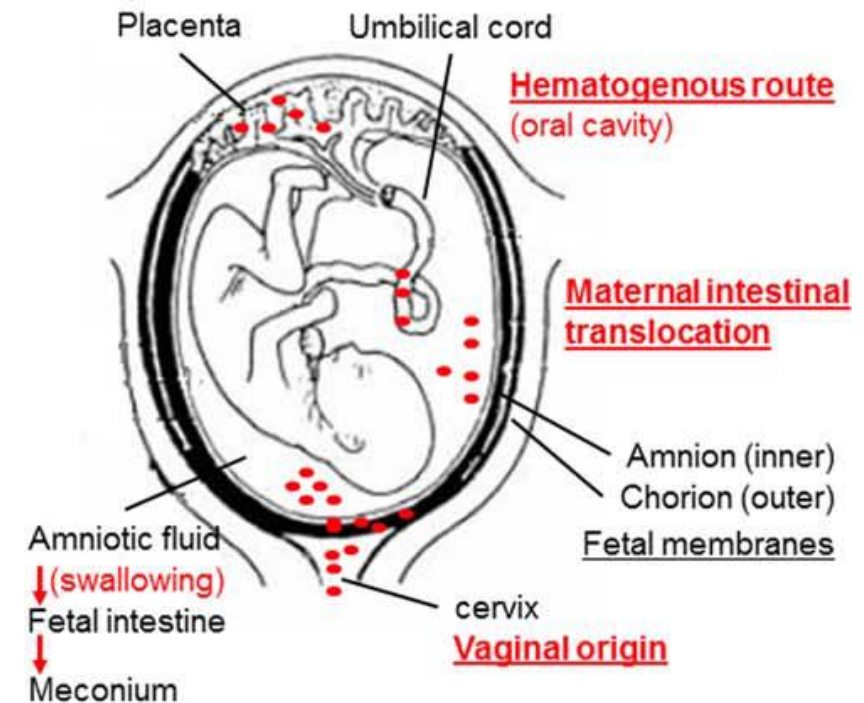
Bacterial Species	Children With GI Issues and		P
	Autism	Controls	
<i>Bacteroides vulgatus</i>	↓	↑	0.05
<i>Escherichia sp</i>	↓	↑	0.01
<i>Ruminococcus gnavus</i>	↓	↑	0.01
<i>Neisseria sp</i>	↓	↑	0.02
<i>Blautia coagulans</i>	↓	↑	0.03
<i>Enterobacter hormaechei</i>	↓	↑	<0.005
<i>Burkholderia cepacia</i>	↑	↓	0.02
<i>Pedobacter sp</i>	↑	↓	0.04



Un microbiote *in utero*? Quel rôle?

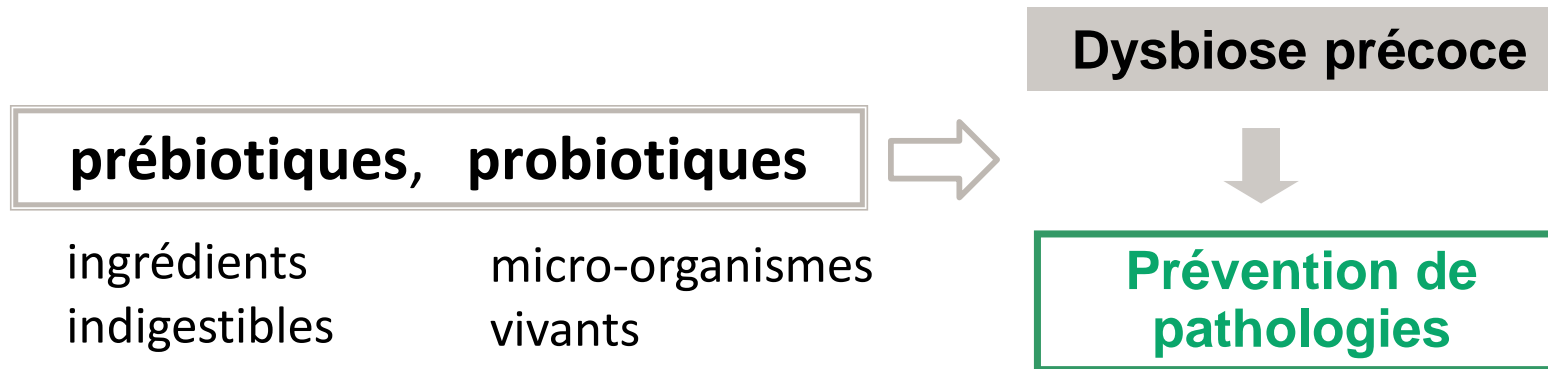
- Mise en évidence d'un microbiote dans
 - le placenta *Aagaard 2014, Collado 2016*
 - le sang de cordon *Jimenez 2005*
 - le liquide amniotique *Di Giulo 2012*
 - le méconium *Moles 2013, Collado 2016*
- Microbiote peu abondant, mais divers
 - Bactéries vivantes, ADN?
- Source(s)?
- Rôle(s)?
 - délétère? ⇨ profils liés avec un accouchement prématuré *Aagaard 2014, Mor 2015*
 - bénéfique? ⇨ maturation immunitaire? *Mor 2015*
- Influence du microbiote maternel?

A) Concepts of *in utero* colonization



Etablissement du microbiote et santé future

- Lien de plus en plus évident entre le microbiote précoce du nouveau-né et le statut santé ultérieur
 - ✓ Même s'il existe des controverses
- Intérêt de la **modulation précoce du microbiote**?



- **Intervariabilité** importante du microbiote
 - ⇒ nécessité de travailler sur des **cohortes** ⇒ ELFE, Epipage 2

Etablissement du microbiote et santé future

Projet EPIFLORE

Suivi d'une cohorte de prématurés (**Epipage 2**) vs cohorte de nouveau-nés à terme (**Elfe**)

- ✓ étude du microbiote par séquençage nouvelle génération
- ✓ lien avec le développement de pathologies? ECUN, pathologies tardives

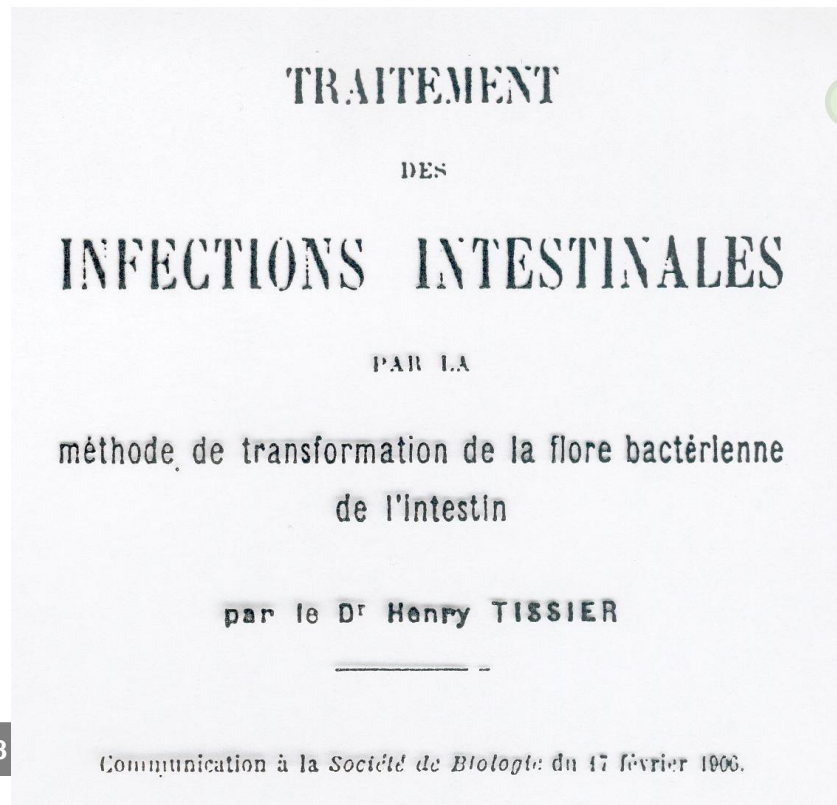
Projet METAKID

Étude métagénomique du microbiote intestinal à 3,5 ans

- ✓ le métagénome à 3,5 ans est-il le reflet de l'établissement précoce?
- ✓ le profil métagénomique à 3,5 ans est-il prédictif de pathologies ultérieures?

• Remerciements

- à tous les membres de l'EA 4065,
- nos collaborations: néonatalogistes, épidémiologistes, équipes de Micalis de l'INRA,
- et aux parents et enfants



On donne pour **hâter l'apparition d'une flore empêchante**, un à deux verres à bordeaux d'une **culture pure de *bac. acidiparalactici*** ou mieux d'une symbiose de cette espèce **avec le *bac. bifidus***