



HAL
open science

Le microbiote digestif: un acteur de la préservation de notre santé

Sylvie Combes, Laurent Cauquil

► **To cite this version:**

Sylvie Combes, Laurent Cauquil. Le microbiote digestif: un acteur de la préservation de notre santé. Master. Bio-Ingénierie: santé, aliments (BING) (microbiote digestif: un acteur de la préservation de notre santé), 2016, 107 p. hal-02792977

HAL Id: hal-02792977

<https://hal.inrae.fr/hal-02792977v1>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UMR GenPhySE

Équipe NED (Nutrition et Ecosystèmes Digestifs)



Orientation, contrôle et remédiation de l'écosystème digestif

Le microbiote digestif : un acteur de la préservation de notre santé

Sylvie Combes, Laurent Cauquil



Ecole d'Ingénieurs



GenPhySE

Génétique, Physiologie et Systèmes d'Élevage

Master 2 BT, ENSAT, 15 novembre 2016



Un microbe, c'est ...

Invisible à l'œil nu

Visible au microscope

Micro : petit / Biote : vie

Main sur une boîte de Pétri

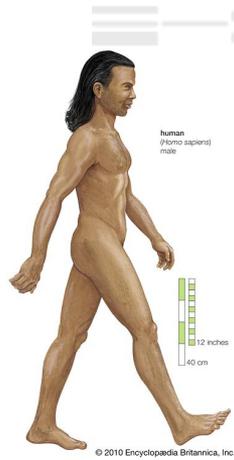


Un microbiote, c'est ...

un ensemble de microbes différents vivants dans un écosystème
= bactéries + virus + champignons

Le microbiome, c'est... selon les auteurs

- l'ensemble des microbiotes observés
- ou
- le microbiote dans son environnement (biotope)
- ou
- l'ensemble des génomes microbiens d'un microbiote

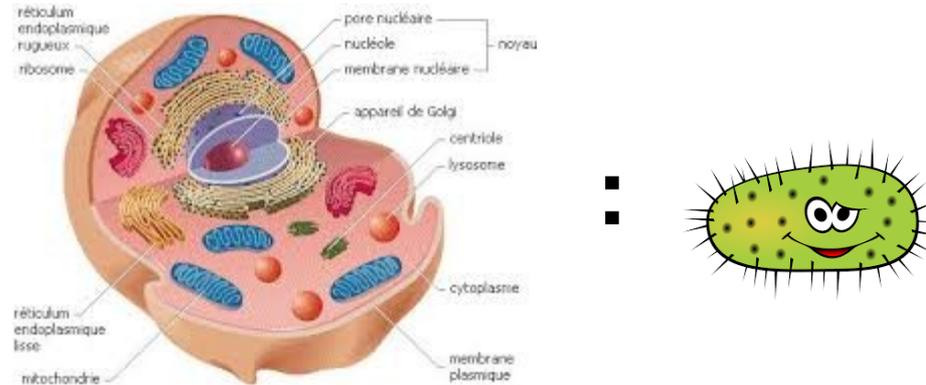


Homo sapiens :

... en nombres...

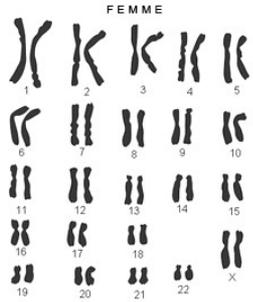
ratio bactéries : cellules humaines de 1:1

(Sender et al 2016 Cell)



~1 kilogramme de biomasse bactérienne

Phénotype de l'individu

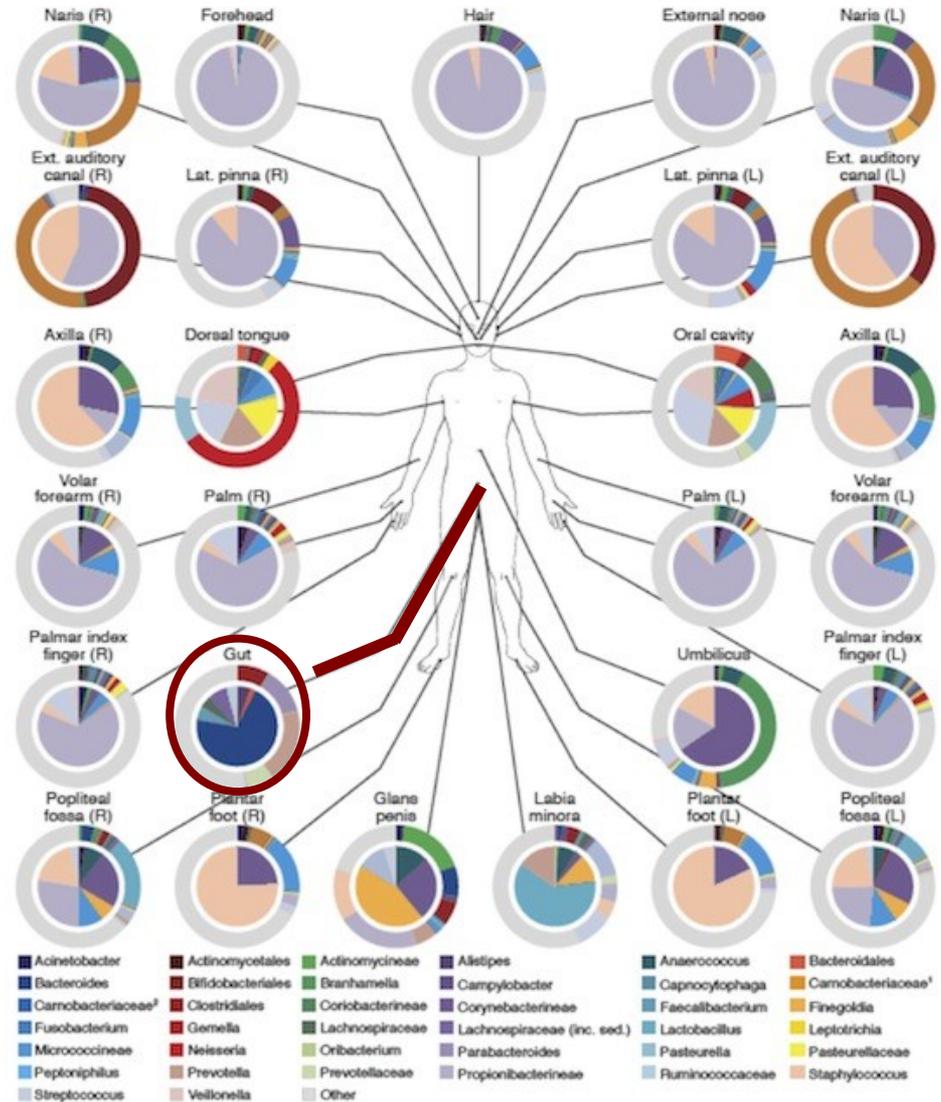


- Expression de ses gènes

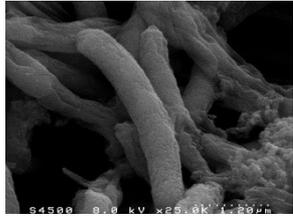
- Expression des gènes des microbiotes qui le colonise

Chaque individu est un hybride hôte / microbe

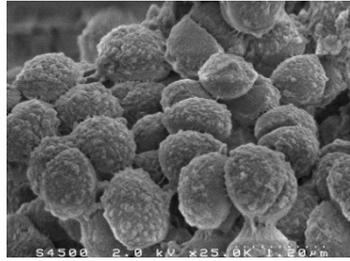
Notion d'holobionte et d'hologénome



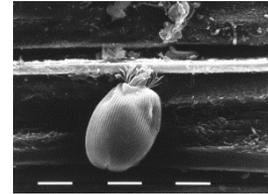
Le microbiote intestinale : organe situé à l'interface du bol alimentaire et de la muqueuse intestinale



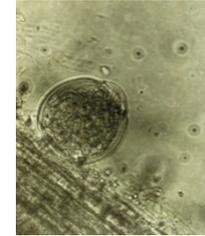
Faecalibacterium prausnitzii



Ruminococcus Spp



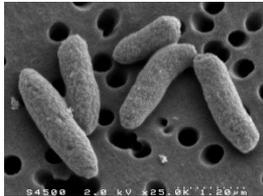
Protozoaire



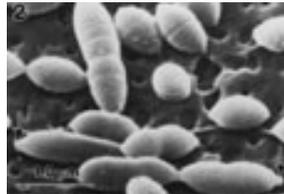
Champignon



Bacteroides dorei



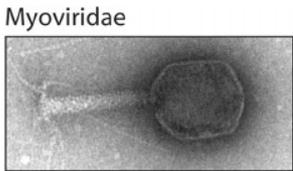
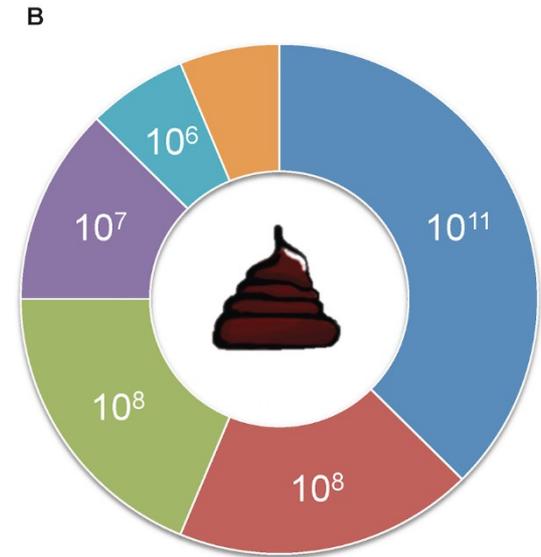
Escherichia coli



107 - 108 Archées

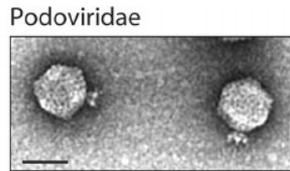
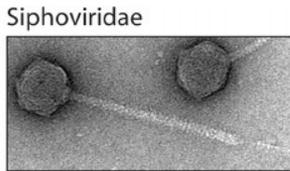
1012 Bactéries/g

Photos UEPSD



108 - 109 Virus

doi: 10.1128/MMBR.00011-11 *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2011

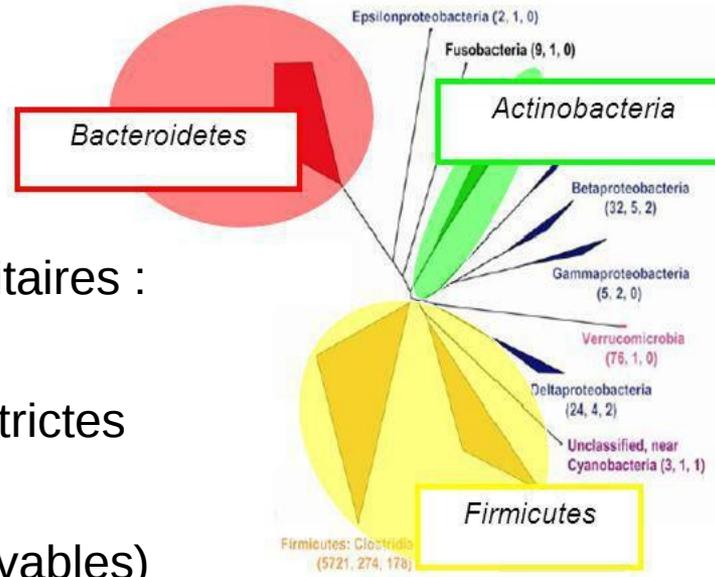


- Bacteria
- Colonocytes
- Archaea
- Fungi
- Viruses
- Metabolites, Protists, Other



Le microbiote intestinal humain

Abondance : 10^{14} bactéries / Diversité : ~ 1000 espèces
Phyla (divisions) majeurs



Trois phyla (division) majoritaires :

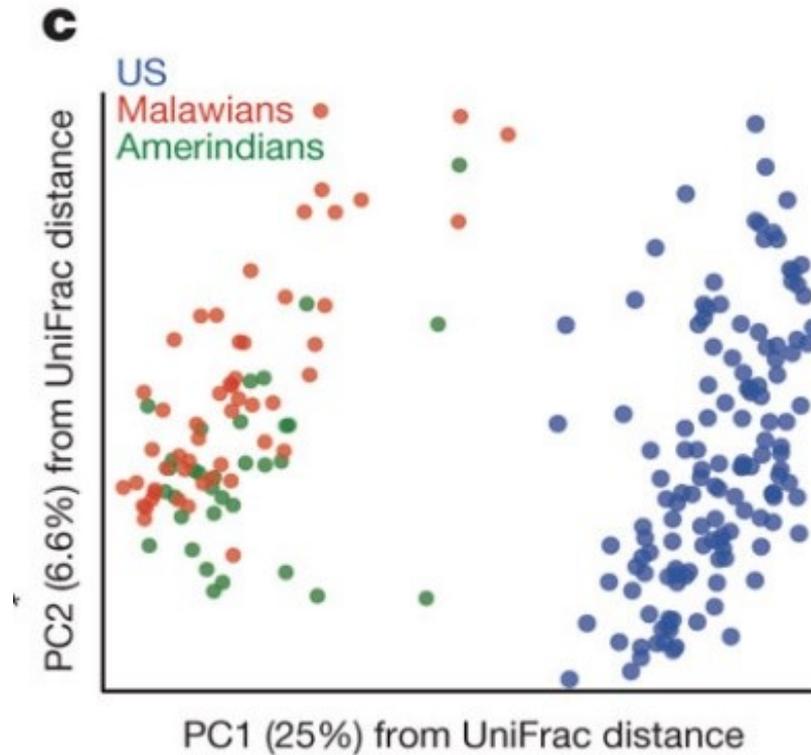
80% d'espèces anaérobies strictes

et

80-70 % inconnues (non cultivables)

Grande variabilité inter individuelle □ nature et abondances des espèces

~ 1000 espèces □ empreinte fécale
5 millions de gènes (20 000 gènes humains)

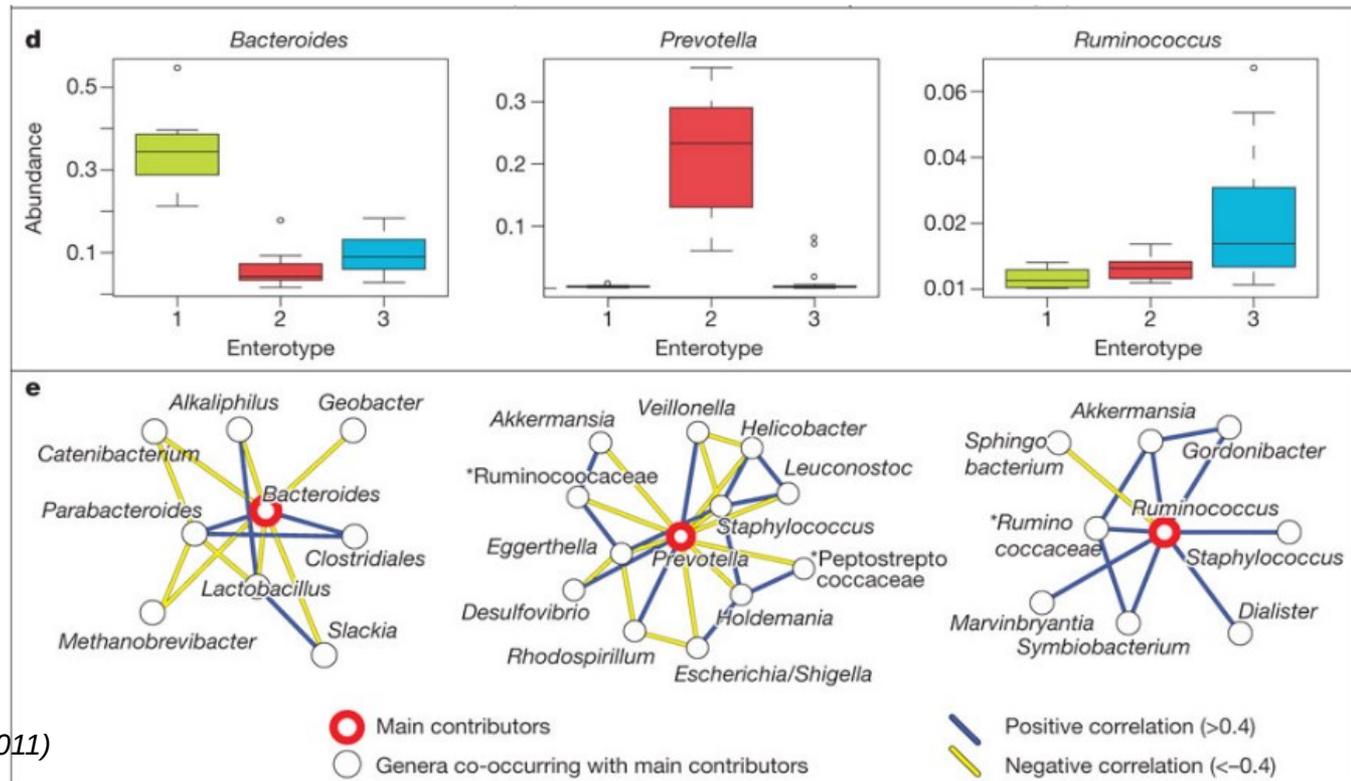


Yatsunenکو et al. Nature (2012) doi:10.1038/nature11053

Grand variabilité inter individuelle □ nature et abondances des espèces

~ 1000 espèces □ empreinte fécale
5 millions de gènes (20 000 gènes humains)

Notion d'Enterotype



(Arumugam et al., 2011)

Colonisation du tractus digestif du nouveau né

In utero, le TD est stérile

Les microorganismes primo-colonisateurs sont un échantillonnage d'une méta-communauté plus large incluant toutes les espèces capables de vivre et de se développer dans le tractus digestif (Curtis et Sloan, 2004)



- ✓ Mère: voie de naissance, tractus genital et digestif, peau
- ✓ Environnement : allaitement, contact, hygiène, soin, entourage

Le microbiote se stabilise en lien avec le type d'alimentation et le mode de vie

Illustration : [http://pt.slideshare.net/mikesorg/human-nutrition-gut-microbiome-and-immune-system/8?](http://pt.slideshare.net/mikesorg/human-nutrition-gut-microbiome-and-immune-system/8?smNoRedir=1)
smtNoRedir=1

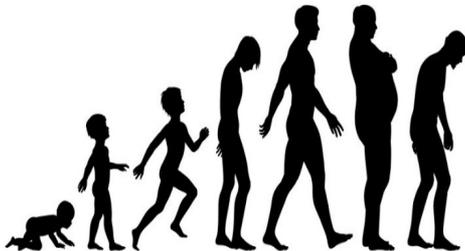
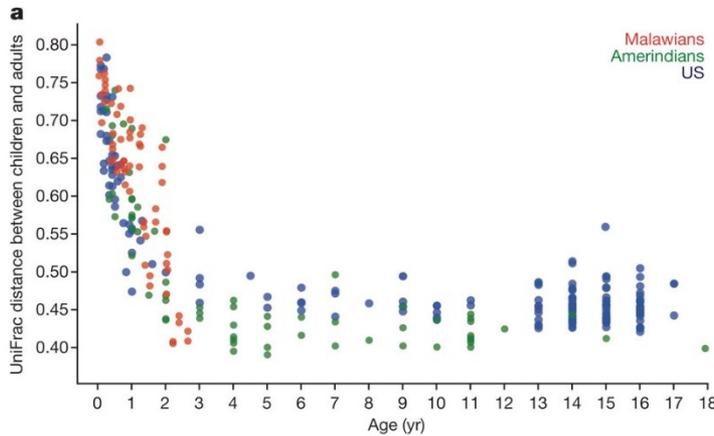
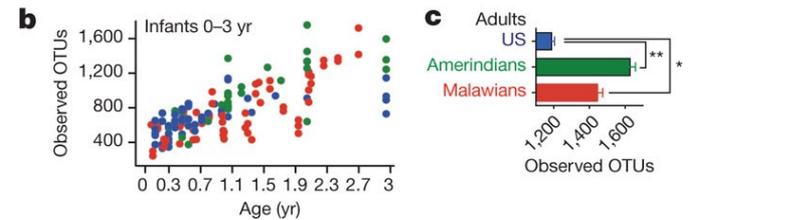
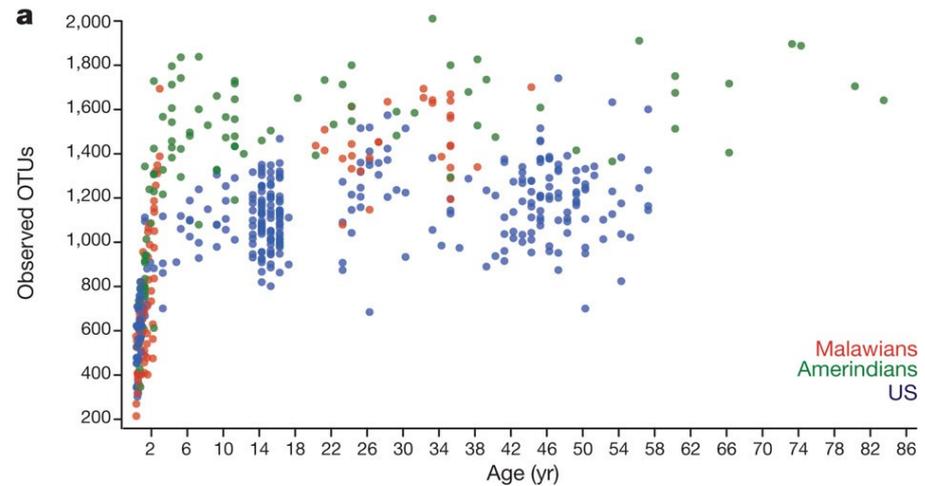
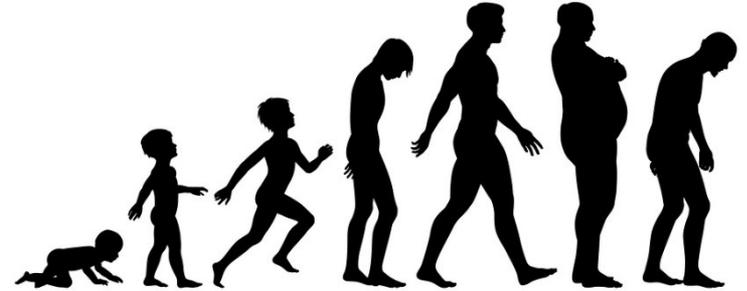
Succession écologique des espèces

Nouveau né : **conditions oxydatives**

□ primo colonisateur bactéries anaérobies facultatives (Protobactéria)

Milieu devient plus **réducteur**

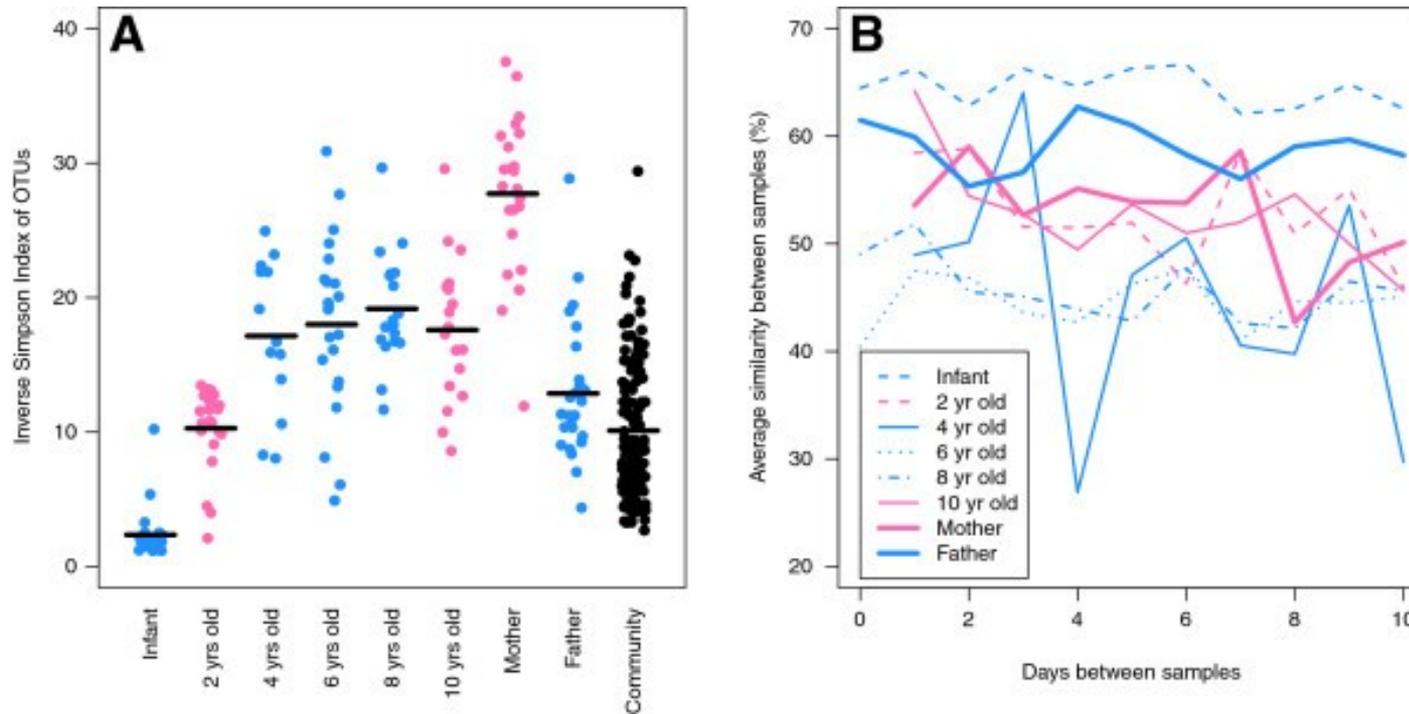
□ installation des phyla Bacteroides et Actinobacteria, et Firmicutes



Yatsunenکو *et al. Nature* (2012) doi:10.1038/nature11053

Dynamique d'abondance relative des espèces

Au sein des membres d'une seule famille



Une diversité qui évolue en fonction du temps

(Schloss et al 2014 Microbiome)

La gnotobiologie, outil d'étude des rôles du microbiote intestinal



- Souris axénique :
 - Elevées dès la naissance dans un milieu stérile
 - Dépourvues de microbiote intestinal

Rôle du microbiote digestif dans la construction de l'individu

Nutrition

fibres -> VFA, bacterial proteins, vitamins ...

Health

Intestinal barrier, immunity
Detoxification

Storage of lipids

Obesity

Central nervous system

Autism
Behaviour

Feed

Physiological state, stress (hormons, etc..)

Genetics

mucus, digestive secretion, peristaltism, immunity, tolerance

Microbiota
a

Antimicrobial Gene Reservoir

Symbiose et rôles physiologiques

1. **Nutrition et maladie métabolique**
2. **Developpement, éducation et stimulation du système immunitaire**
3. **Notre deuxième cerveau**

Contrôler son microbiote pour guérir ou préserver sa santé

1. **Principe écologique**
2. **Mise en place et contrôle néonatale**
3. **Outils biotiques**
4. **Outils abiotiques**

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage

1. **Pour qui : les stratégies digestives**
2. **Pourquoi : les services écosystémiques**
3. **Comment**

Méthodologie d'exploration des écosystèmes digestifs

Application statistique : un peu d'R dans l'écosystème digestif

Symbiose et rôles physiologiques

1. **Nutrition et maladie métabolique**
 - **La chaîne alimentaire**
 - **Focus Obésité**
 - **Focus sous nutrition**
2. **Développement, éducation et stimulation du système immunitaire**
 - **Rôle barrière**
 - **Rôle trophique**
 - **Stimulation, éducation**
 - **Mécanismes impliqués dans le dialogue**
3. **Notre deuxième cerveau**

Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition □ la chaîne alimentaire

Polysaccharide



Hydrolytic species

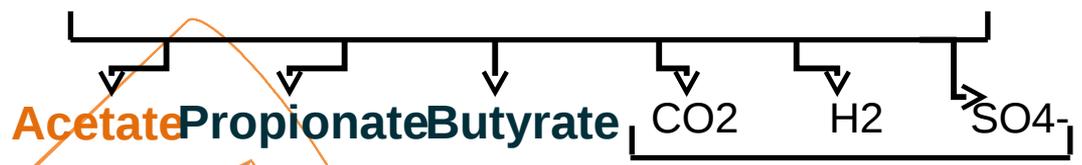
Saccharides- Oligosaccharides

Hydrolytic species



Glycolytic species

Intermediary metabolites



Acetate

Propionate

Butyrate

CO2

H2

SO4-2

Hydrogenotrophic species

Methanogens

Acetogens

Sulfate-reducing

CH4

Acetate

H2S

- ✓ Nutriments :
 - Fibres
 - Proteins
 - Mucus

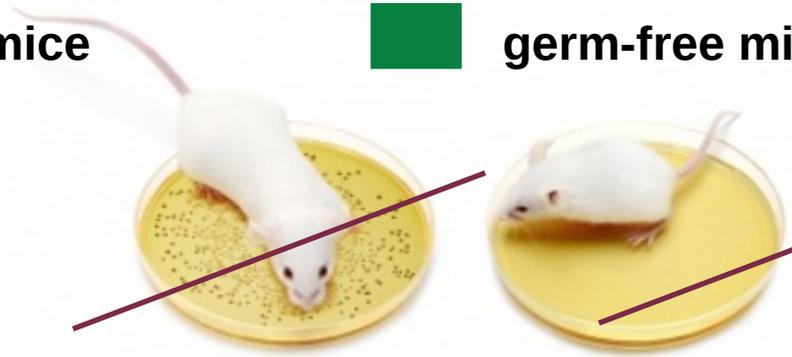
✓ Production of VFA, proteins and vitamins

✓ Host nutrition

Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition

conventional mice

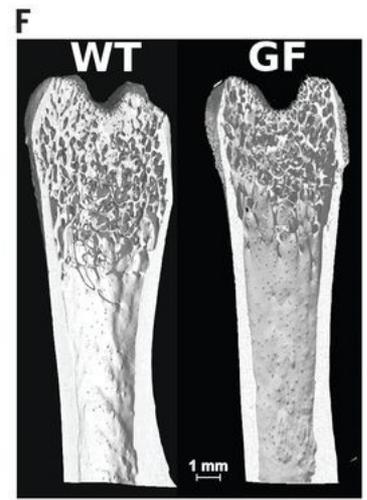
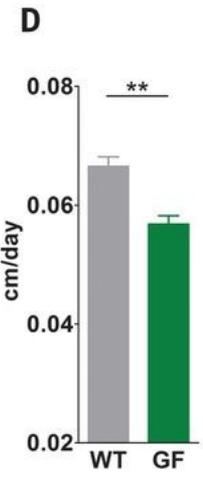
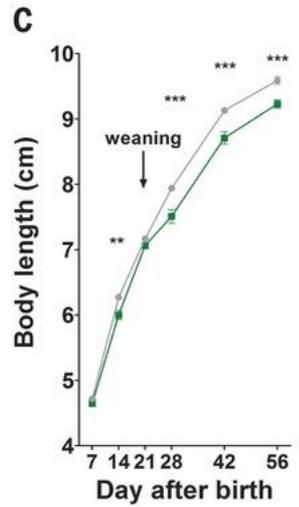
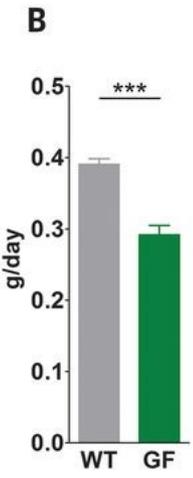
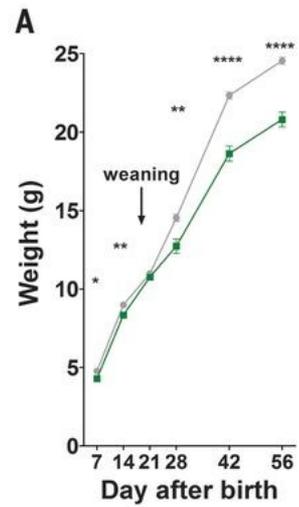
germ-free mice



© CNRS, Vincent Moncorgé
http://presse.inra.fr//Ressources/Comm-unique-de-presse/microbiote_croissance

Poids

Taille



Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition

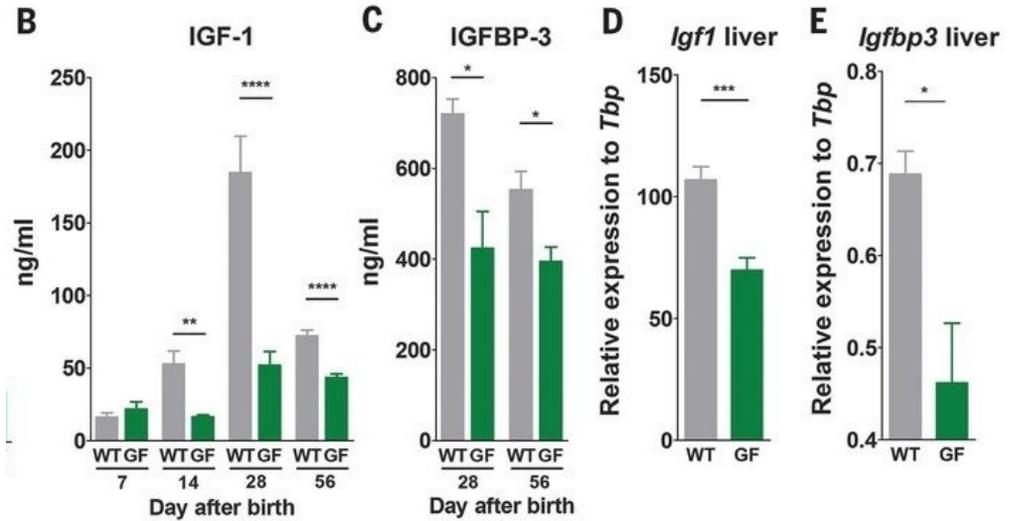
■ conventional mice

■ germ-free mice



© CNRS, Vincent Moncorgé
http://presse.inra.fr//Ressources/Communes-de-presse/microbiote_croissance

Mécanisme :
 Modulation sécrétion d'IGF-1



Schwarzer, et al Science, 19 février 2016.

Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition

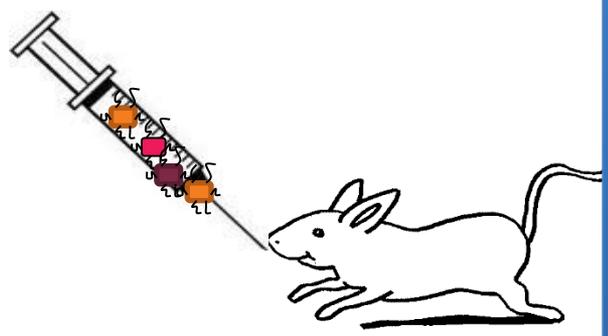
conventional mice



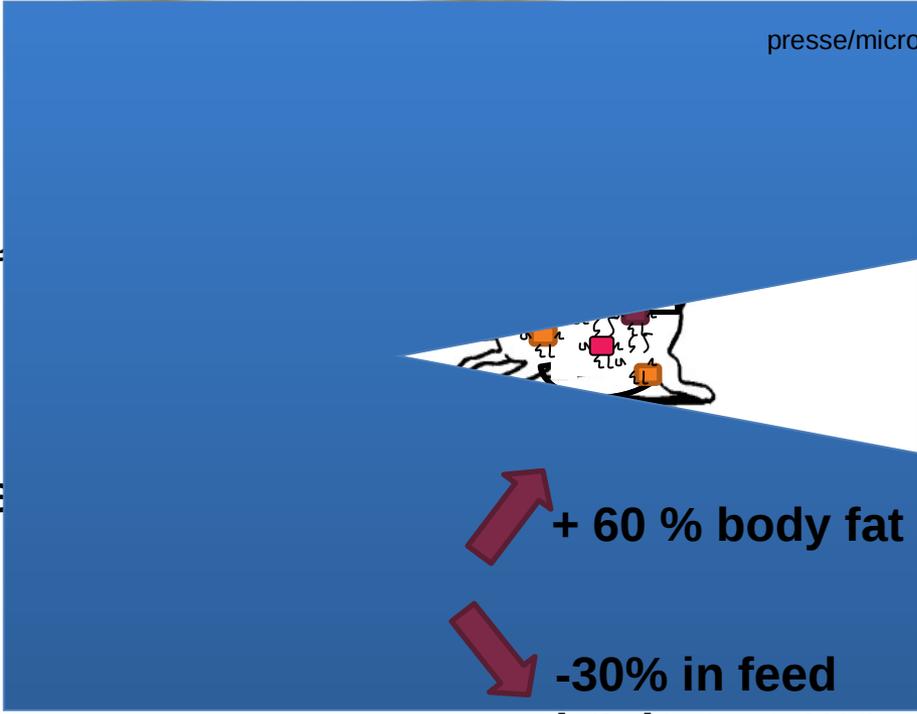
germ-free mice



© CNRS, Vincent Moncorgé
http://presse.inra.fr//Ressources/Communique-de-presse/microbiote_croissance



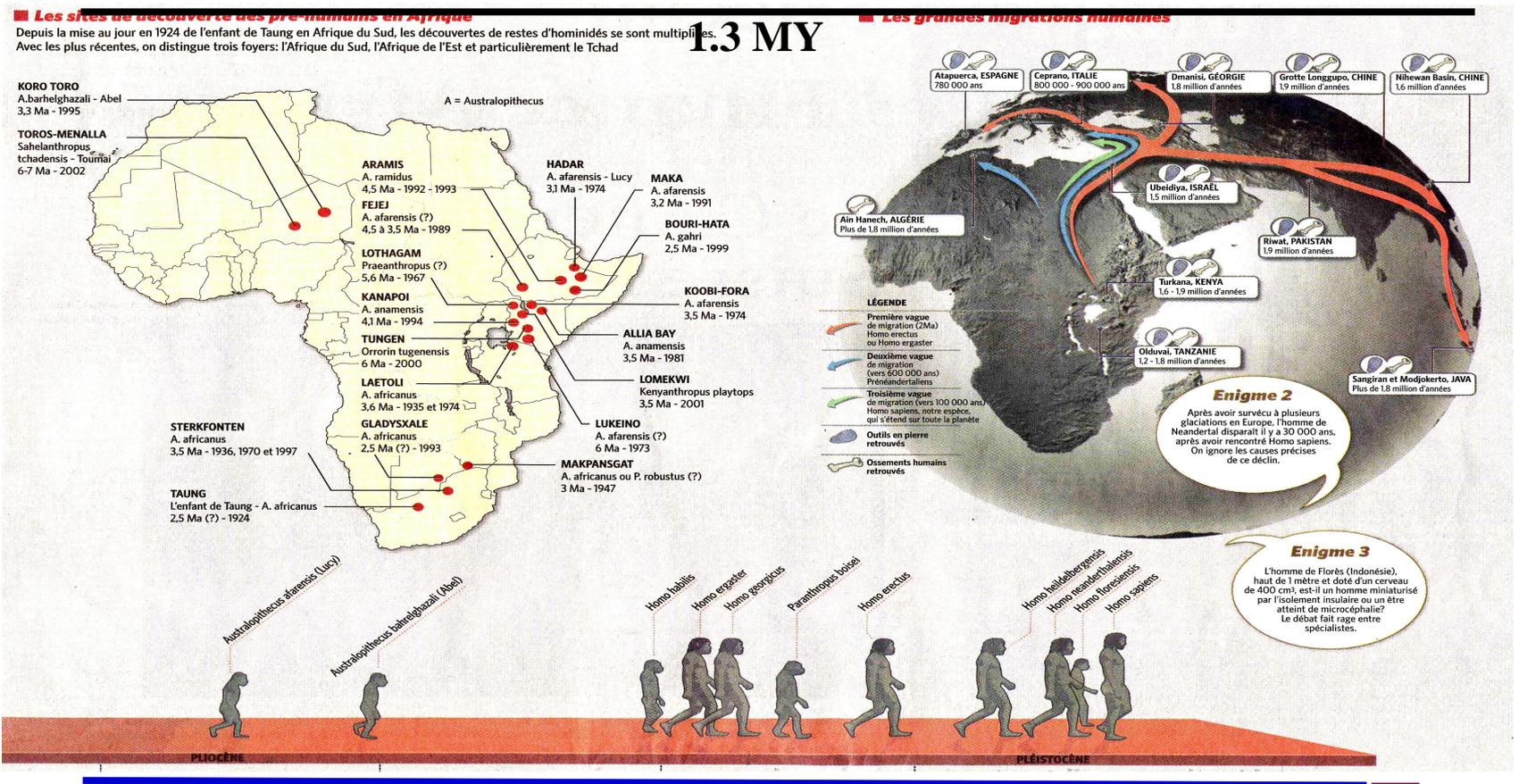
Inoculation of germ-free mice



(Foligne et al., 2004)

Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition □ maladie métabolique

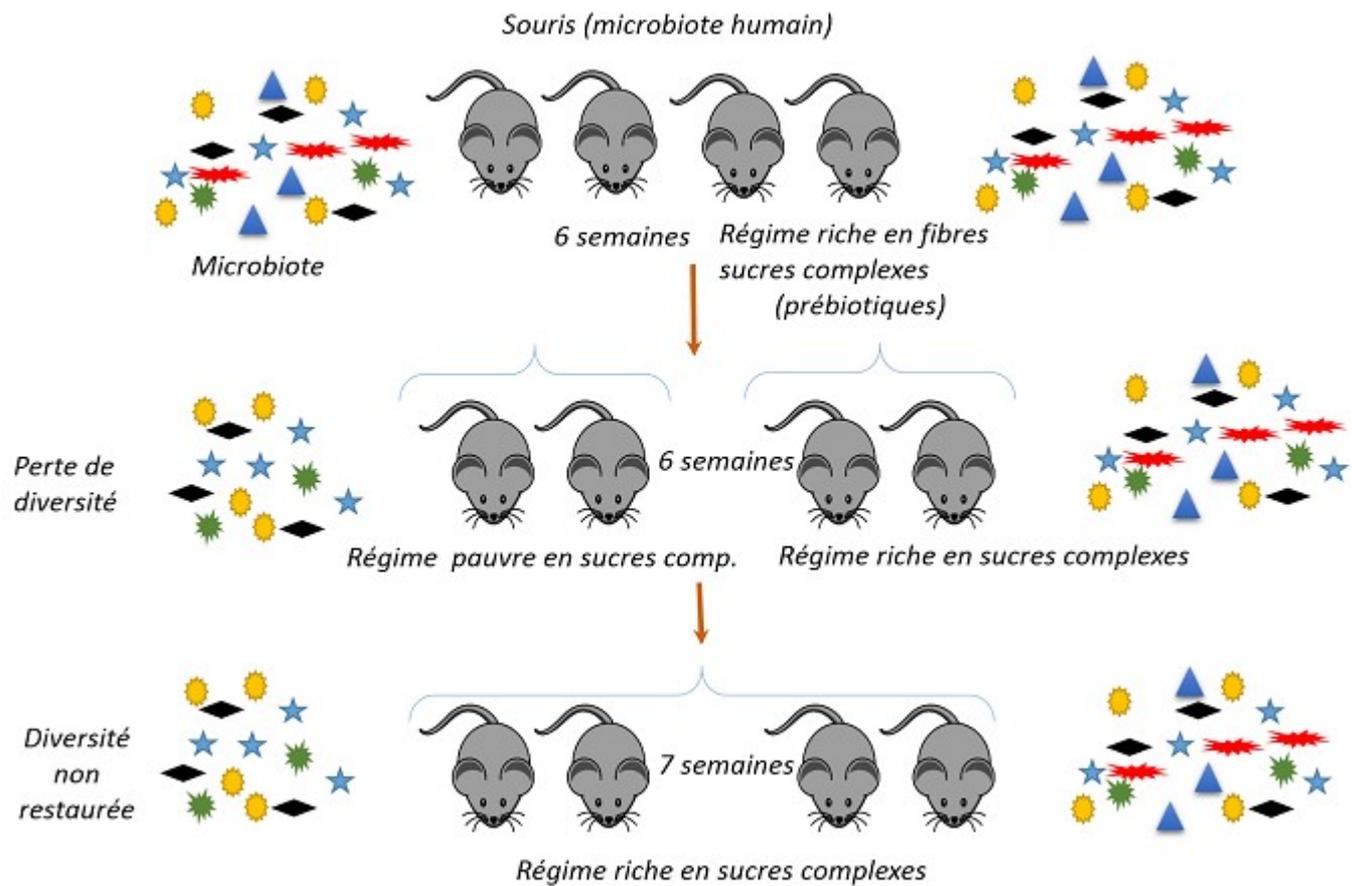
Histoire naturelle du genre *Homo* : l'alimentation a changé avec un impact potentiellement important sur la symbiose Homme-Microbiote



100 000 à 130 000 générations avec un régime riche en fibres (>60% de l'énergie venant des fruits, légumes, racines, noix,..)

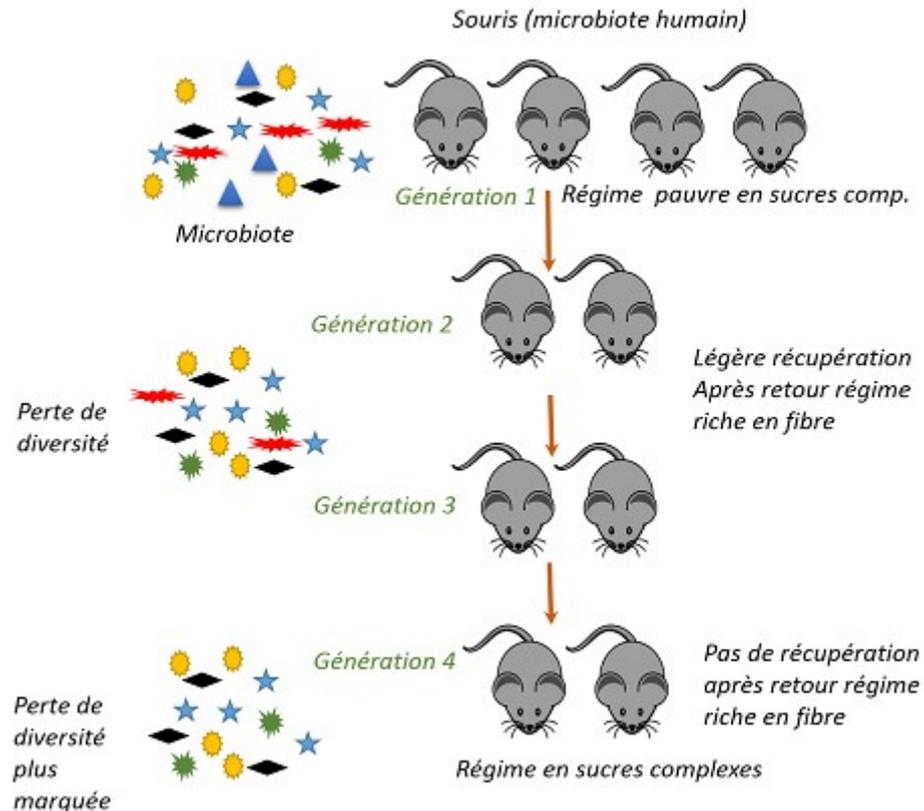
Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition □ maladie métabolique

- Le régime alimentaire modifie le microbiote à long terme



Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition □ maladie métabolique

- Le régime alimentaire modifie le microbiote à long terme

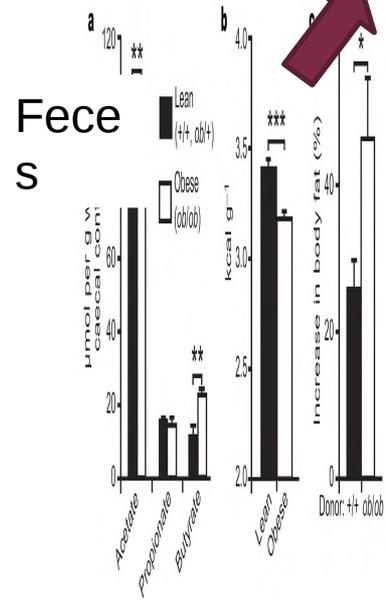
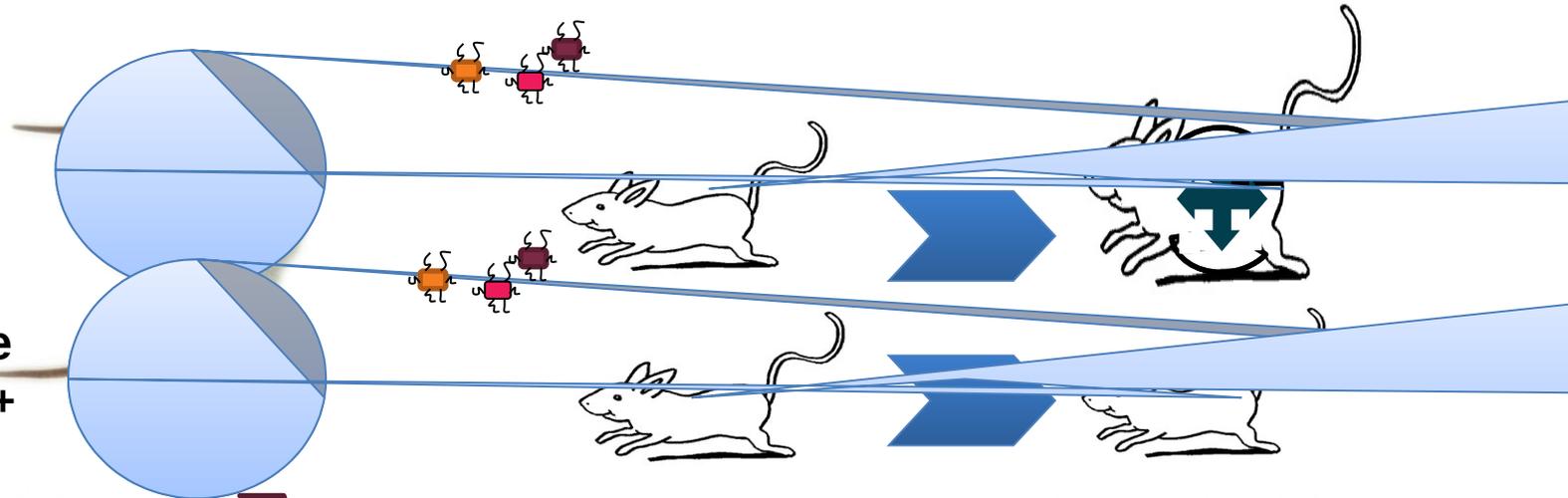


Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition □ obésité

• Obésité

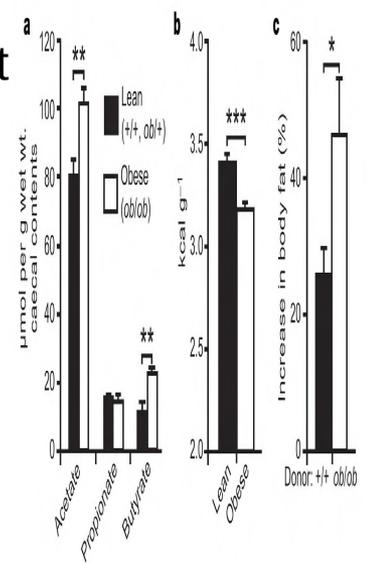
Obese mice
ob/ob

Lean mice
+/+ ou *ob/+*



in the energy extraction from diet

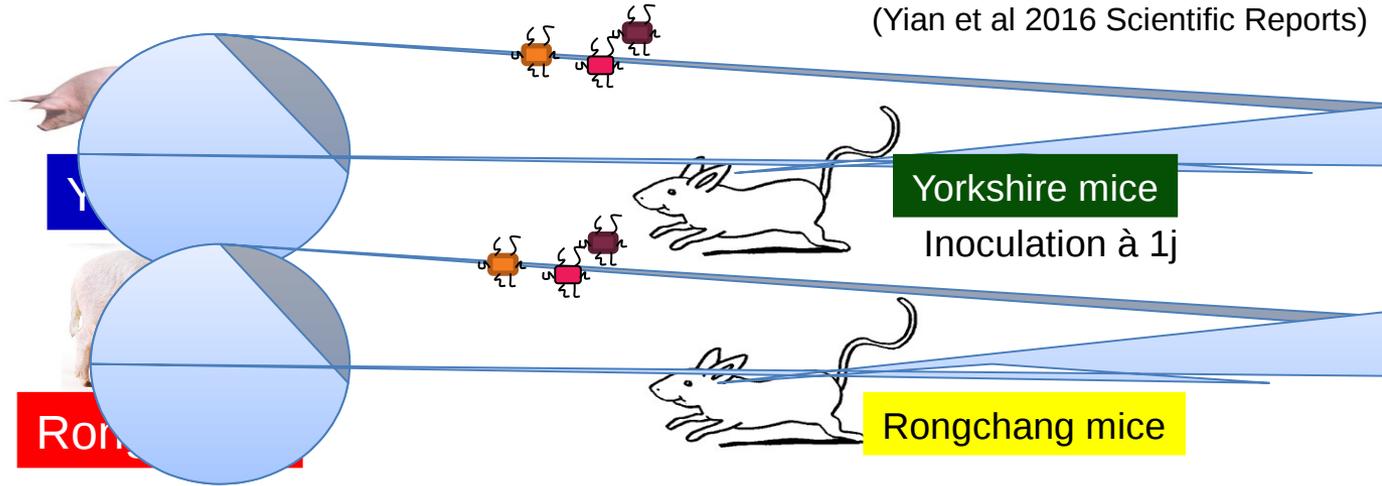
greater weight gain



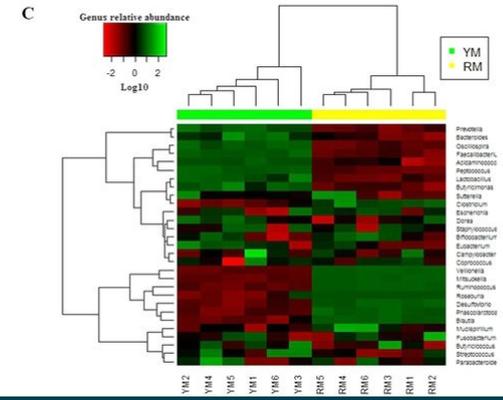
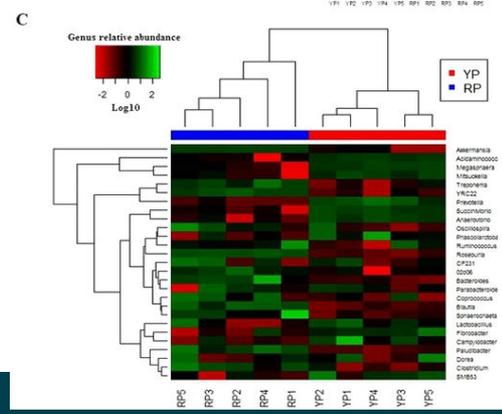
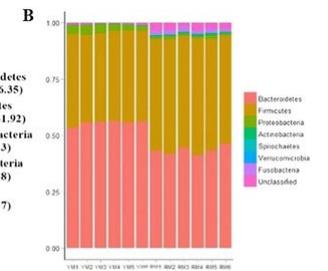
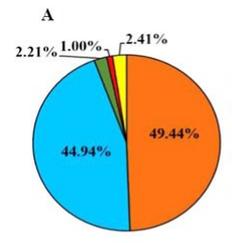
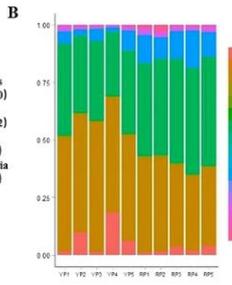
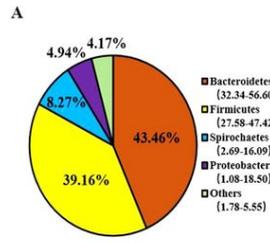
(Turnbaugh et al., 2006)

Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition obésité

Adiposité
Lipides intramusculaires

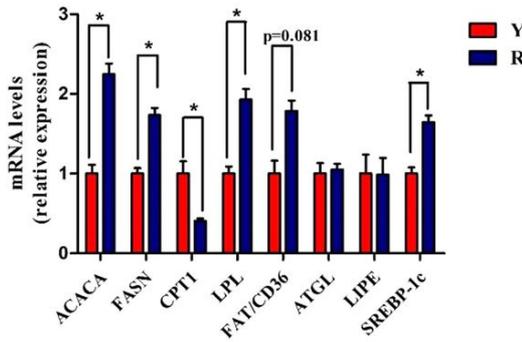
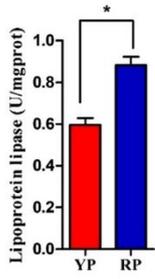
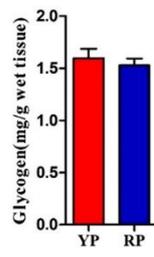
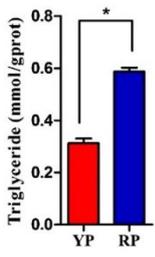
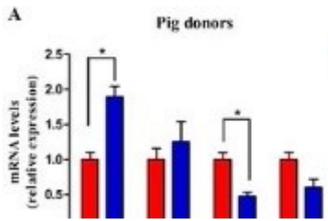
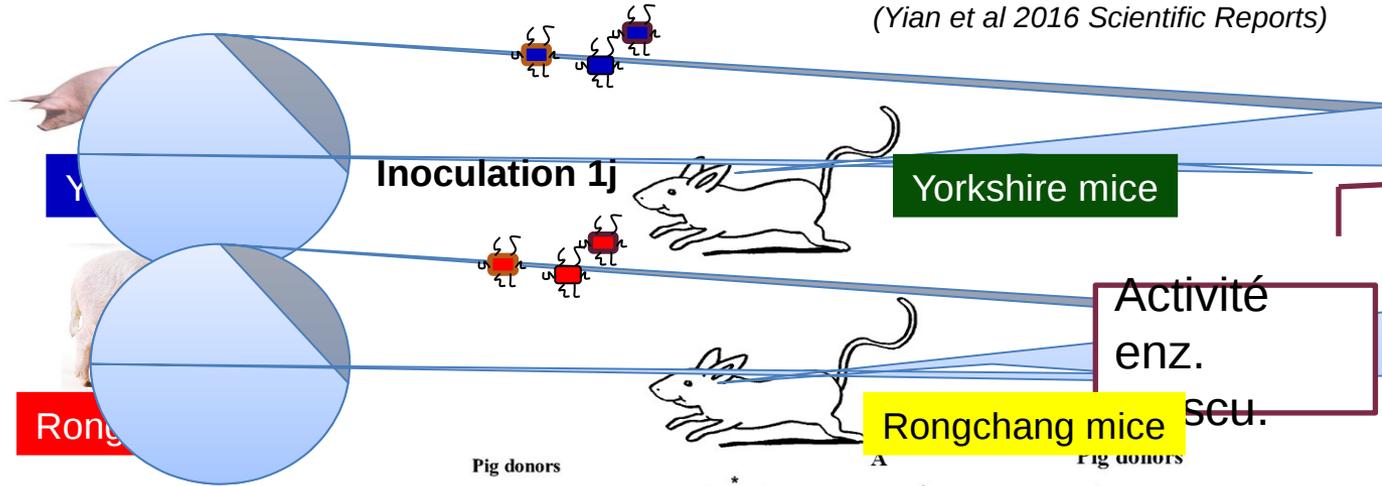


(Yian et al 2016 Scientific Reports)



Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition métabolisme musculaire

Adiposité
Lipides intramusculaires



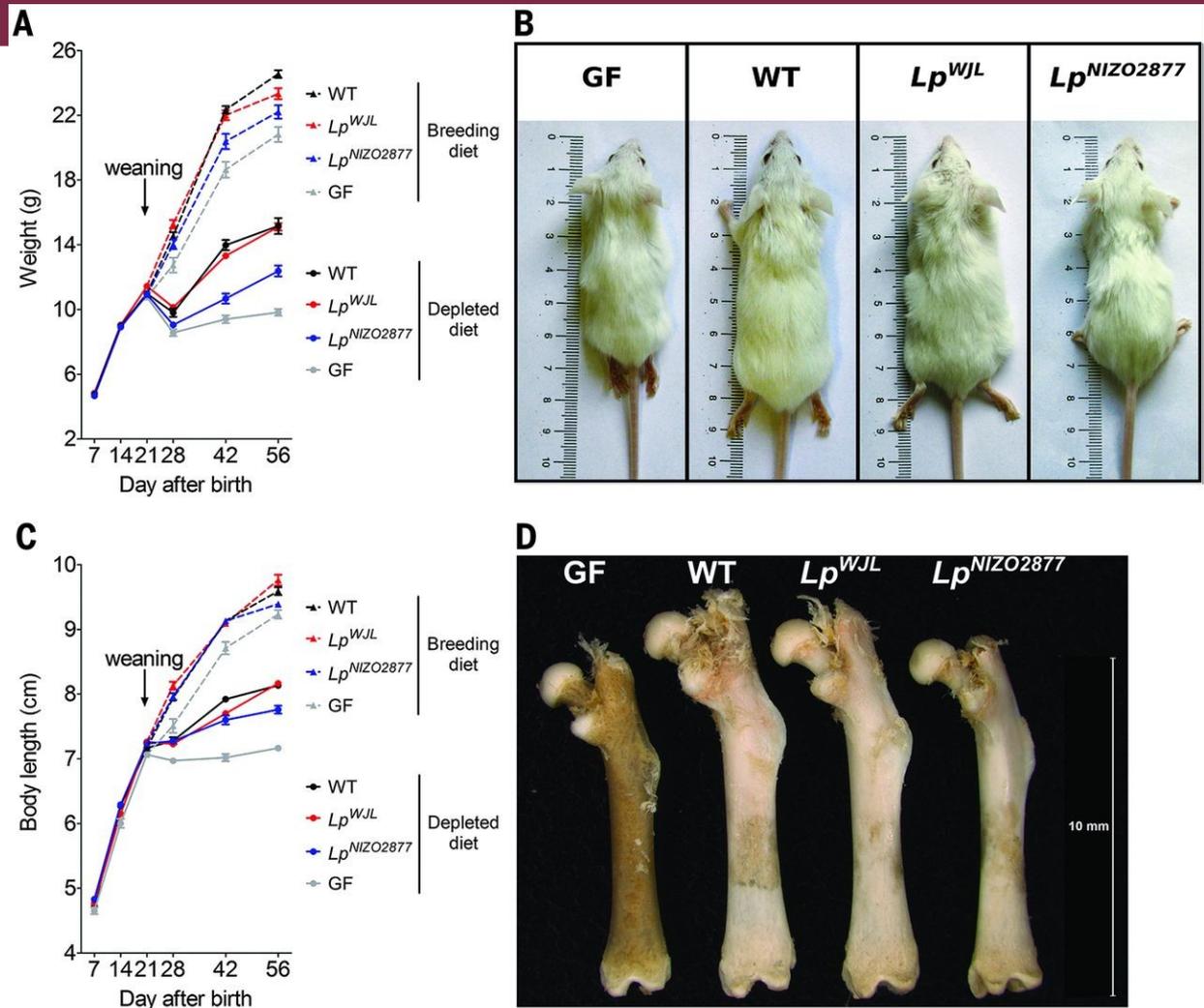
Métabolite

Proportion MHC

S musculaire

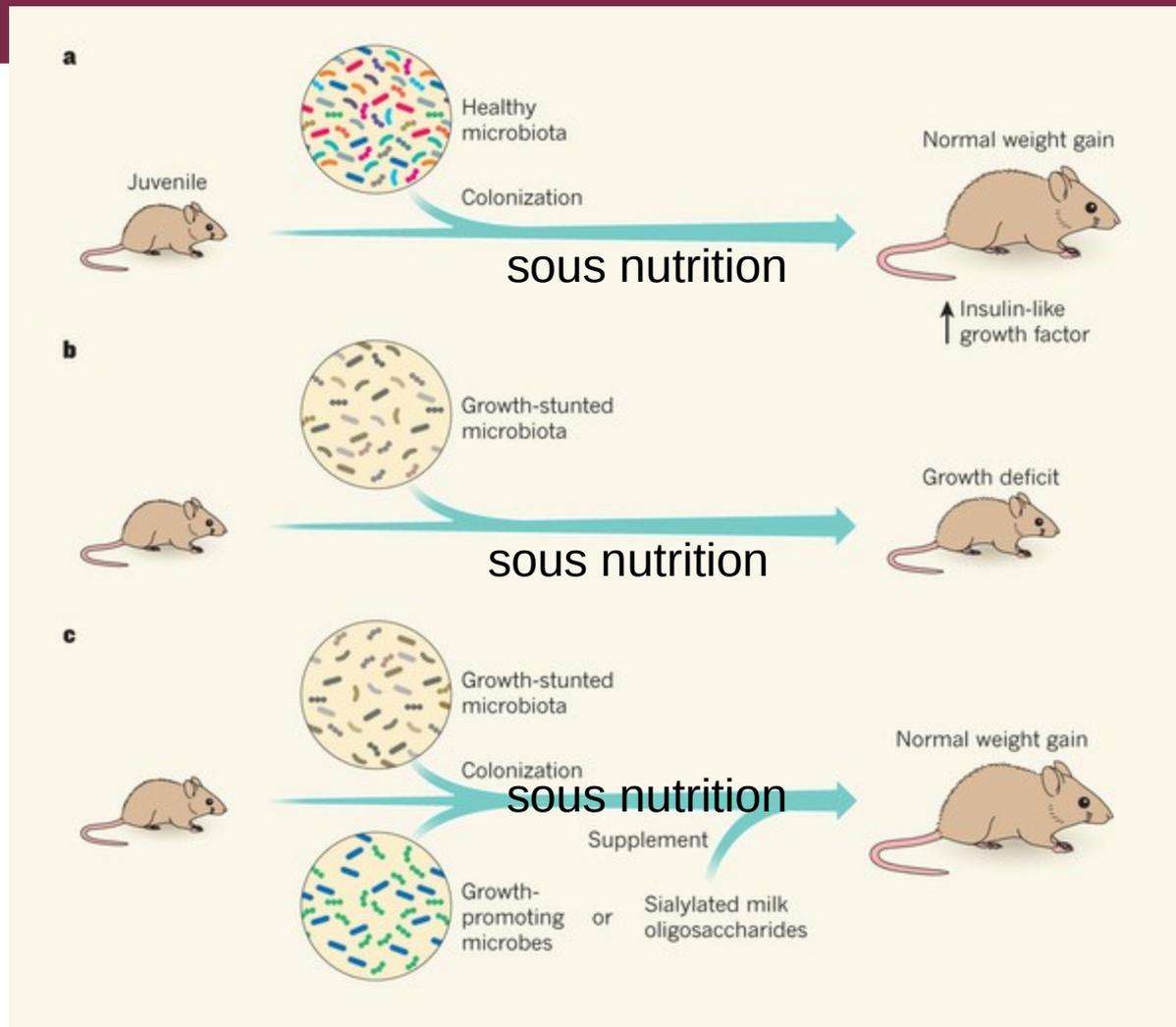
Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition □ sous nutrition et croissance

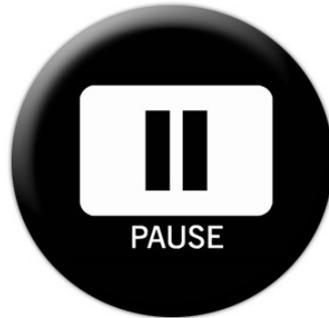
En sous-nutrition les écarts GF - conventionnel sont plus importants



Schwarzer et al. Science 2016;351:854-857

Symbiose et rôles physiologiques : Nutrition □ sous nutrition et croissance



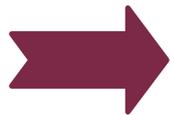


Symbiose et rôles physiologiques

1. **Nutrition et maladie métabolique**
 - **La chaîne alimentaire**
 - **Focus Obésité**
 - **Focus sous nutrition**
2. **Développement, éducation et stimulation du système immunitaire**
 - **Rôle barrière**
 - **Rôle trophique**
 - **Stimulation, éducation**
 - **Mécanismes impliqués dans le dialogue**
3. **Notre deuxième cerveau**

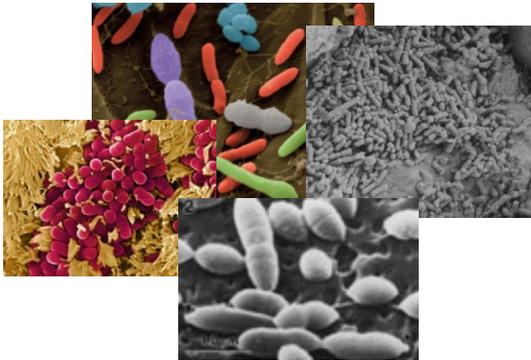
Le système immunitaire:

- Prévenir l'introduction et le développement de pathogènes
- Discriminer le soi du non soi



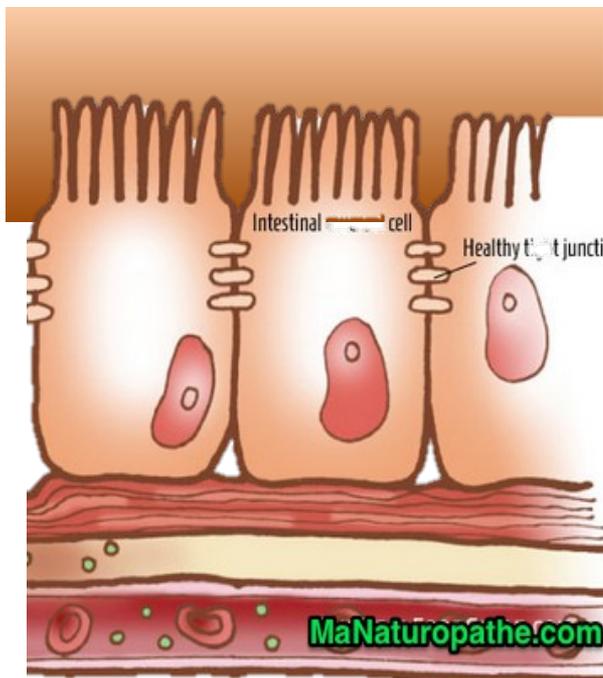
L'enjeu est de **tolérer** et **contenir** le microbiote commensale
(e.g. 10^{10-12} bactéries/g!)

- Rôle barrière
- Développement trophique
- Système inné
- Système adaptatif
- Focus sur les allergies alimentaires
- Focus maladie de Krohn, IBD
- Mécanismes moléculaires impliqués dans le dialogue



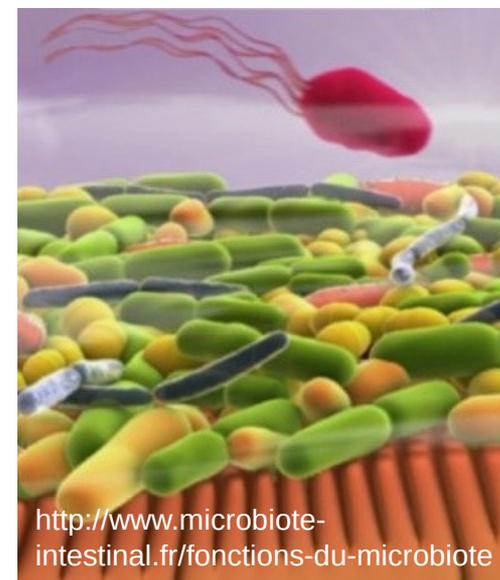
Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □ rôle barrière

• Rôle barrière



L'épithélium intestinal = une barrière physique et chimique

- Jonctions serrées
- La couche de mucus (cellule calciforme)
- Renouvellement rapide des cellules épithéliales
- Production de molécule antimicrobienne (défensine)



Microbiote participe à l'effet de Barrière

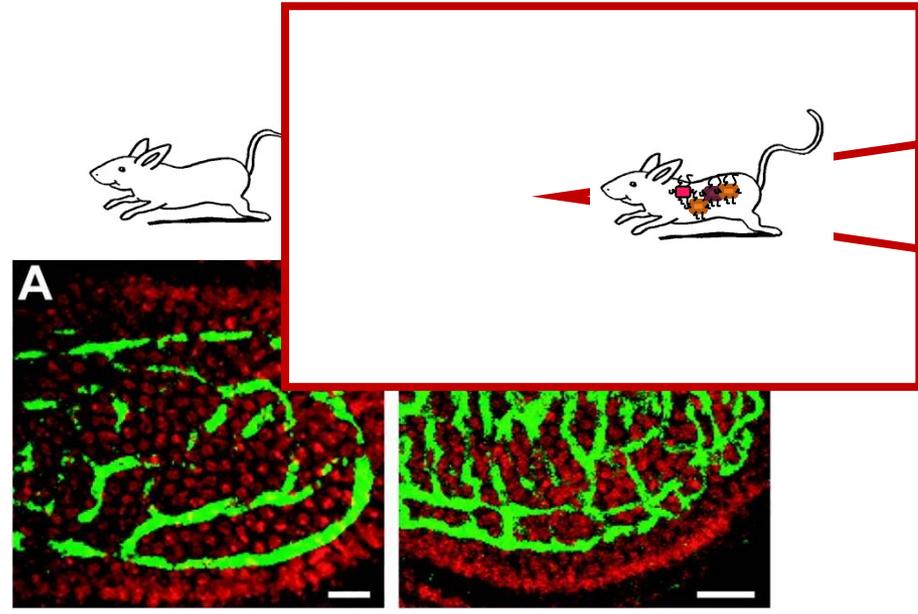
- ✓ Compétition à l'adhésion
- ✓ Compétition à l'accès au nutriment
- ✓ Production de substances anti-microbiennes

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □

développement

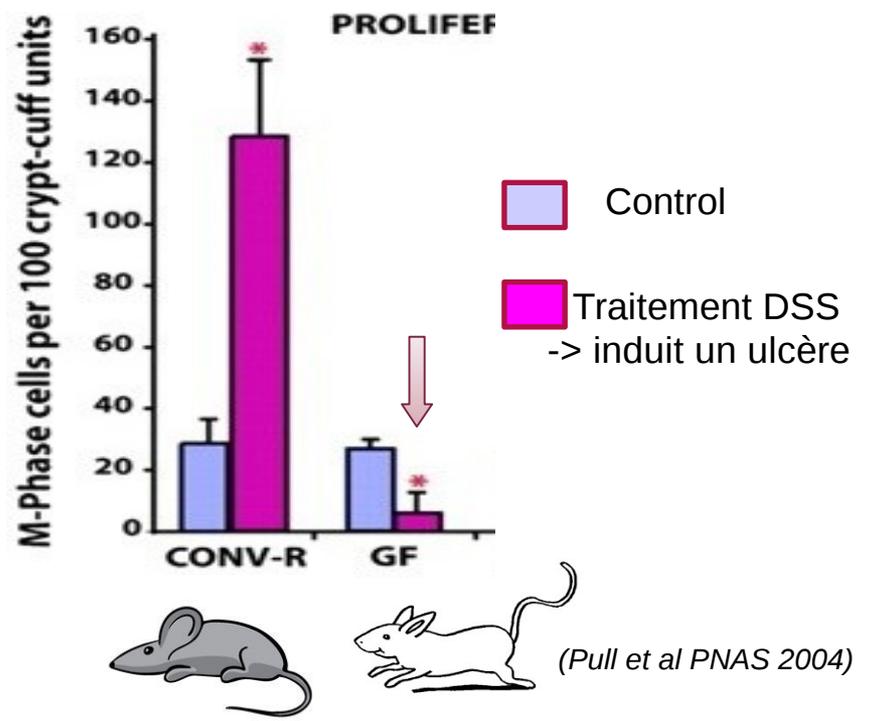
Acteur du développement

·L'angiogénèse



(Stappenbeck et al., 2002)

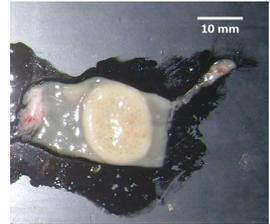
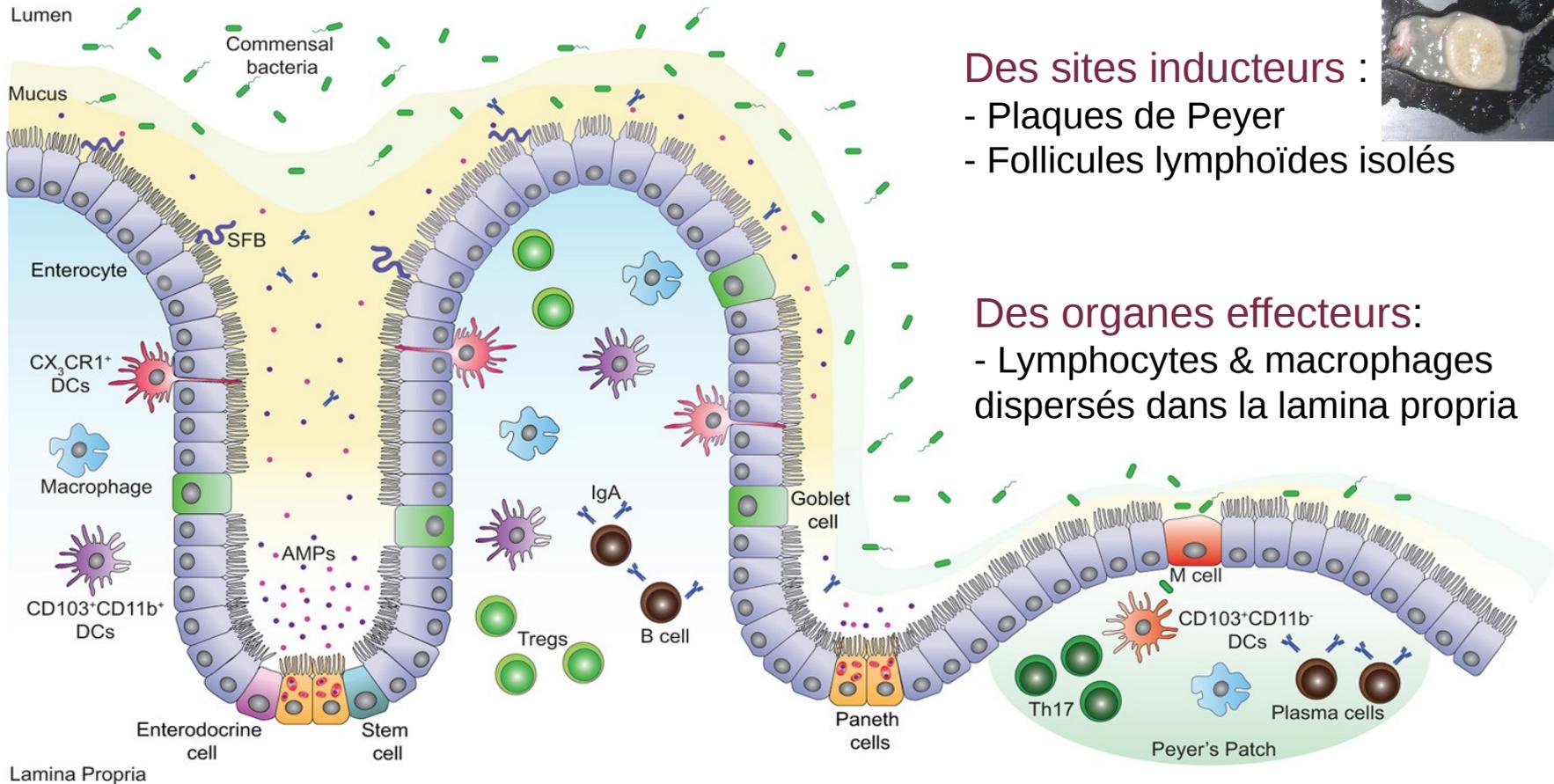
·la réparation de l'épithélium intestinal



(Pull et al PNAS 2004)

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI \square SI inné

Tissue)



Des sites inducteurs :

- Plaques de Peyer
- Follicules lymphoïdes isolés

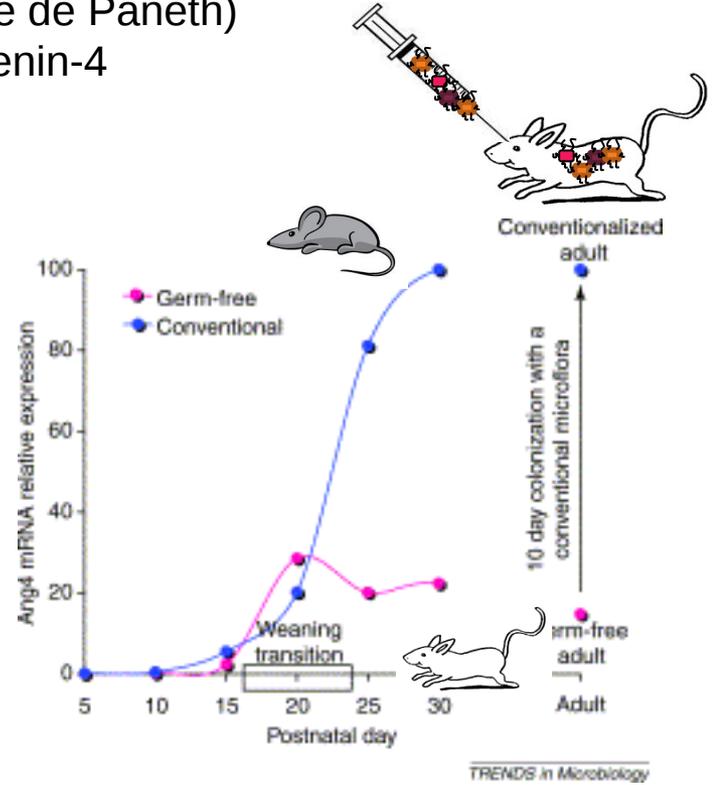
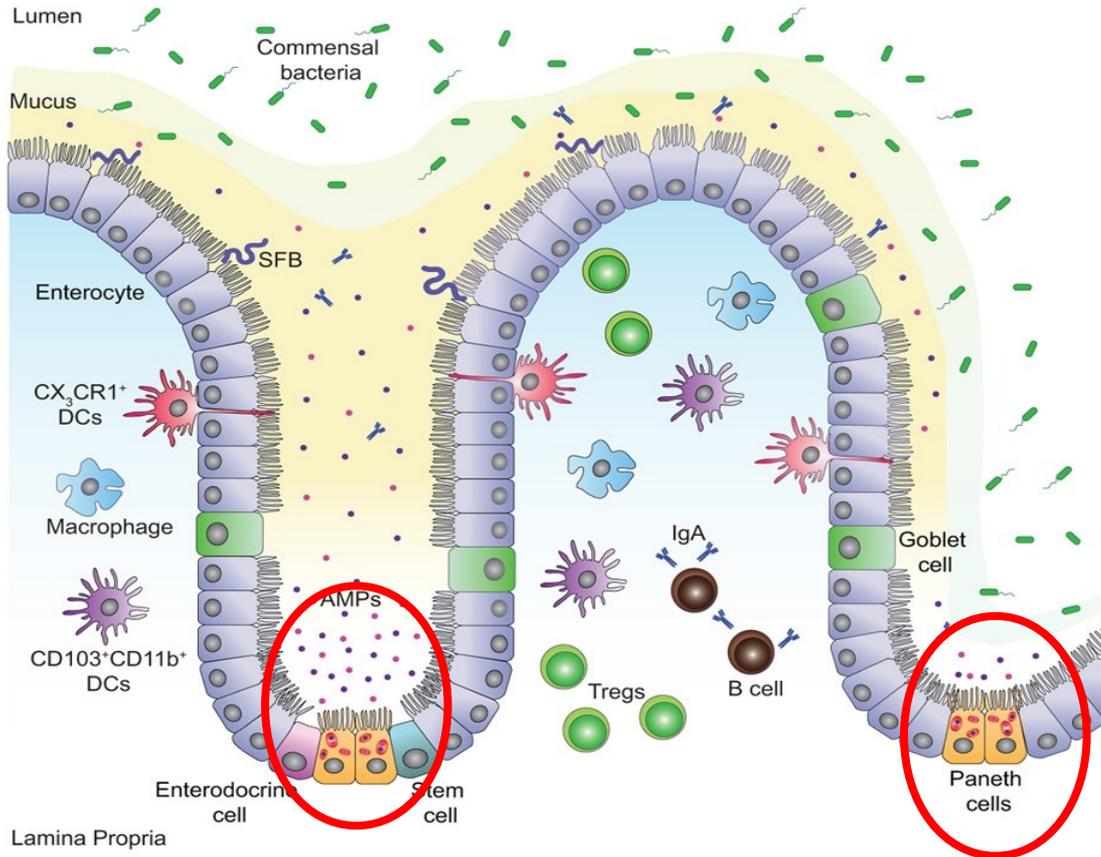
Des organes effecteurs:

- Lymphocytes & macrophages dispersés dans la lamina propria

(Muniz et al Frontiers in Immunology 2012)

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □ SI inné .

• Production de peptides antimicrobiens (cellule de Paneth)
 ✓ alpha-defensin, RegIII-gamma, angiogenin-4



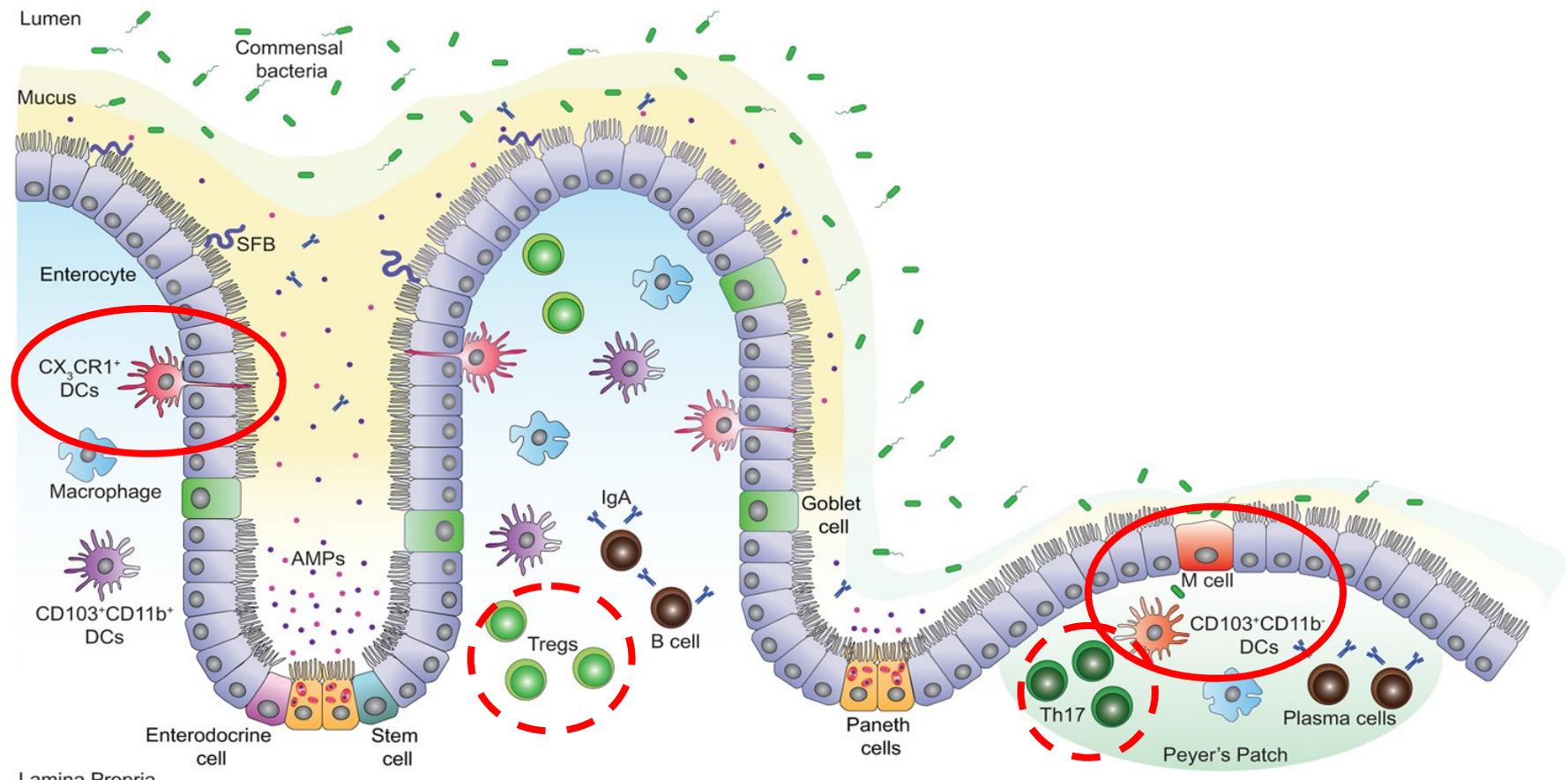
(Hooper 2004)

(Muniz et al Frontiers in Immunology 2012)

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □ SI

inné

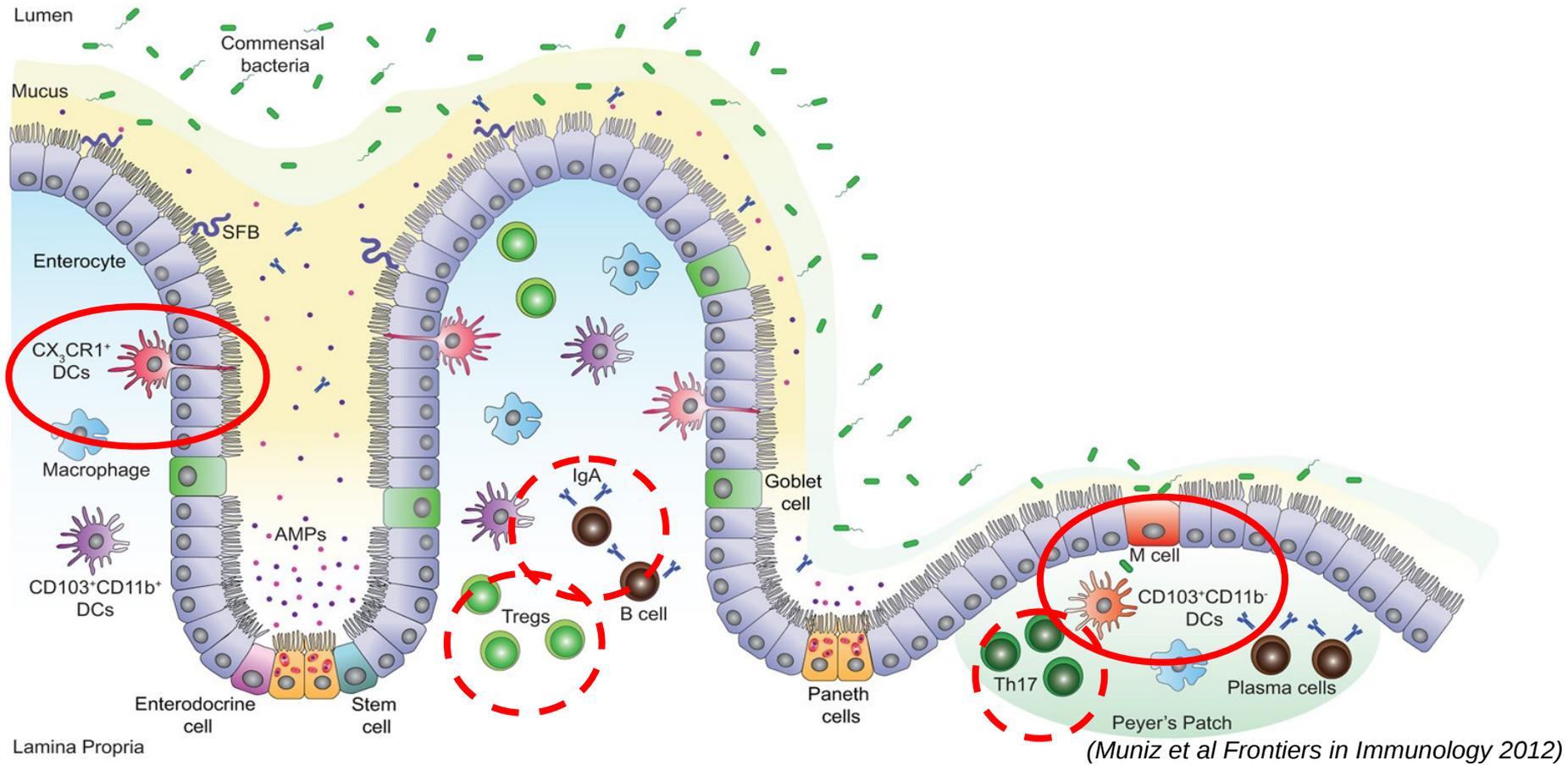
induction de la réponse innée (lymphocyte T et la production de cytokines)



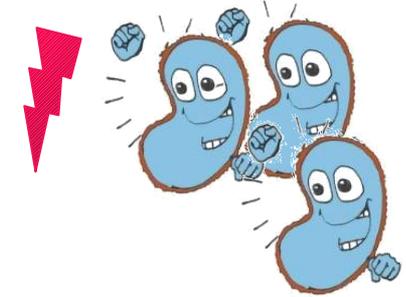
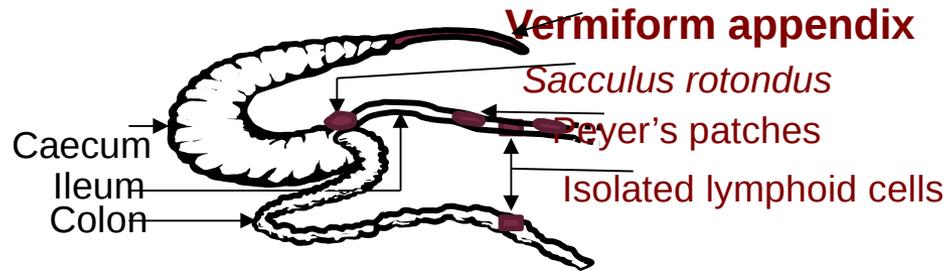
(Muniz et al *Frontiers in Immunology* 2012)

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □ SI adaptatif

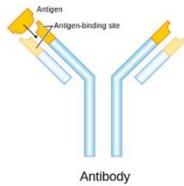
Stimulation de la réponse adaptative (secretion IgA par lymphocyte B)



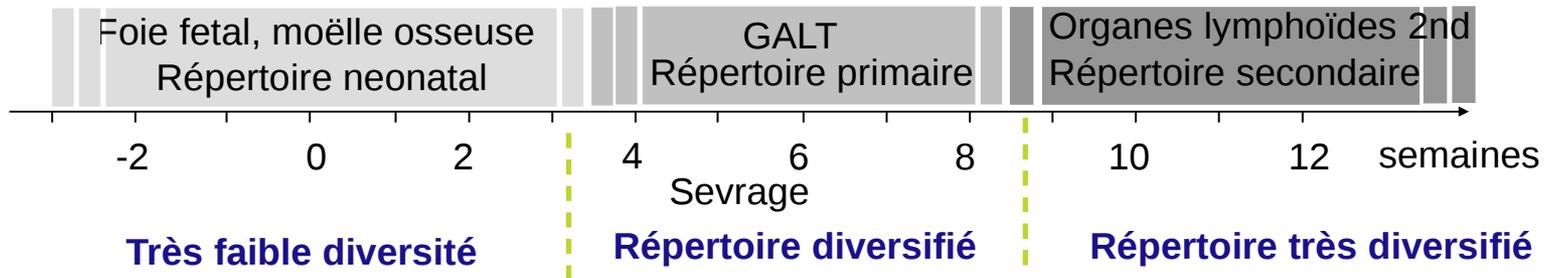
Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □ SI inné



(Rhee et al., 2004; Hanson et Lanning 2008)



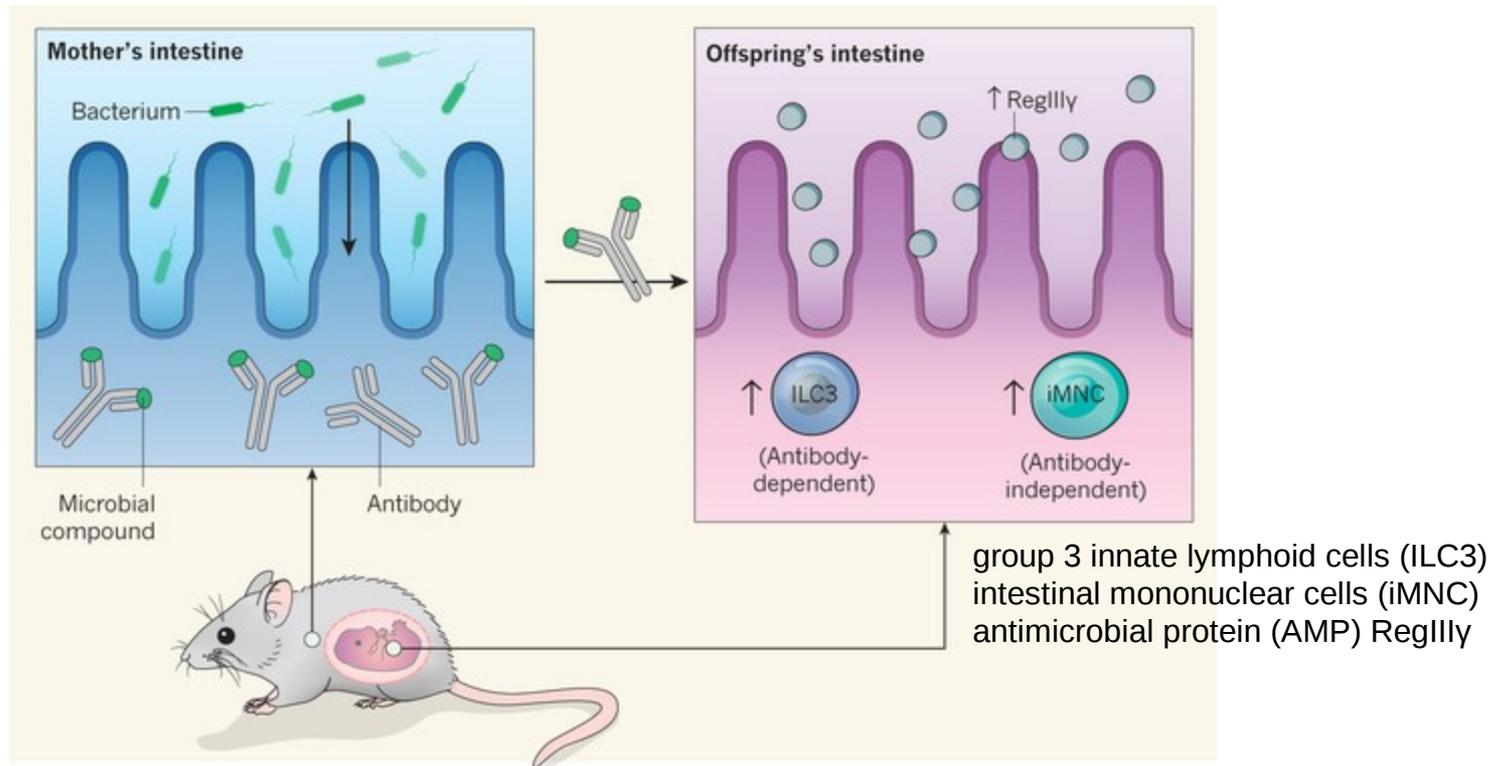
Stimulation Ag exogène
Réponse immunitaire spécifique



(Fortun-Lamothe et Boullier, 2007)

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI

- **Education du SI inné in utero par le microbiote de la mère**



La colonisation transitoire de la mère par Ecoli pendant 1 semaine permet la production d'anticorps spécifiques qui vont augmenter le nombre de cellules responsables de la réponse innée non spécifique chez le nouveau né

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI

- **Education du SI et maladie auto-immune**

« The hygiene hypothesis »

Le défaut de stimulation ou d'exposition aux agents pathogènes et aux microorganismes symbiotiques (microbiote intestinal) ou l'utilisation fréquente d'antibiotique chez le jeune enfant augmente la susceptibilité des patients à développer des troubles allergiques et des maladies auto-immunes

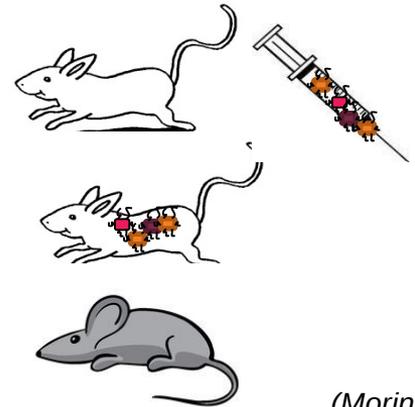
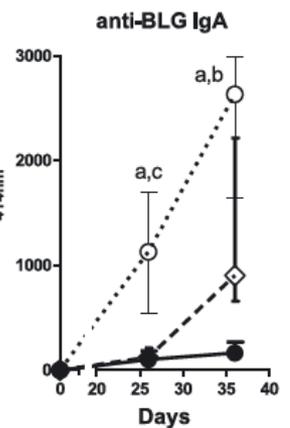
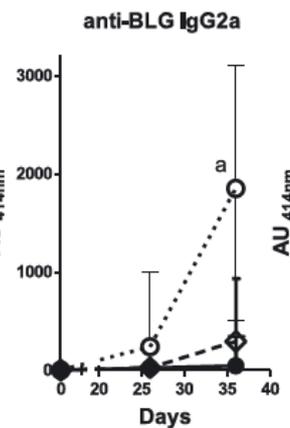
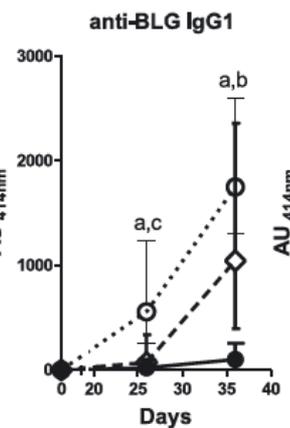
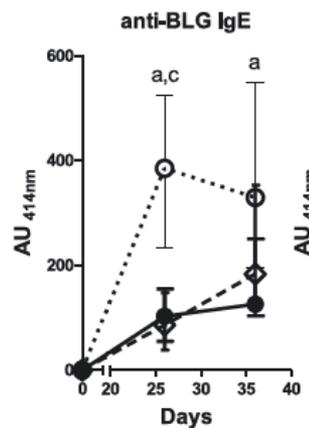
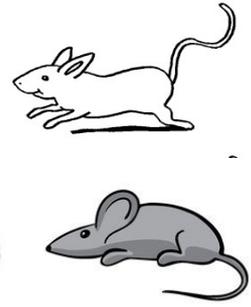
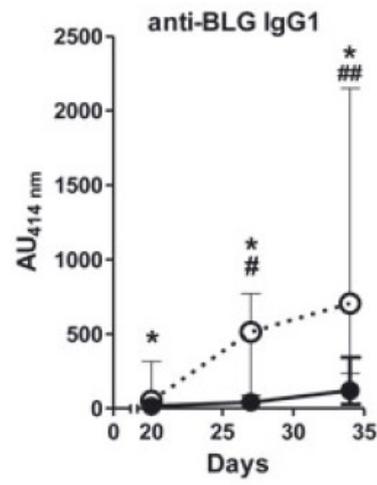
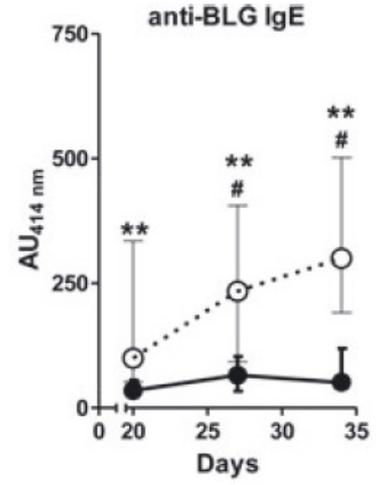


□ lié à une altération de la mise en place du système immunitaire en relation avec des modifications de la composition du microbiote (Okada *et al.*, 2010).

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □

allergie

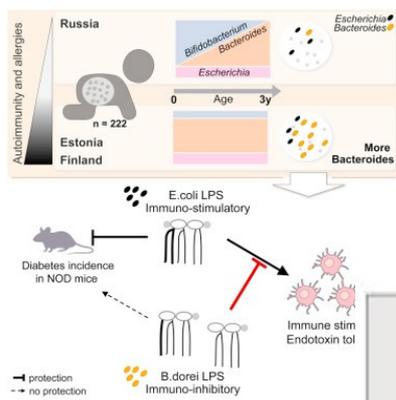
Réponse allergique de souris GF ou conventionnelles après sensibilisation à la beta-lactoglobuline



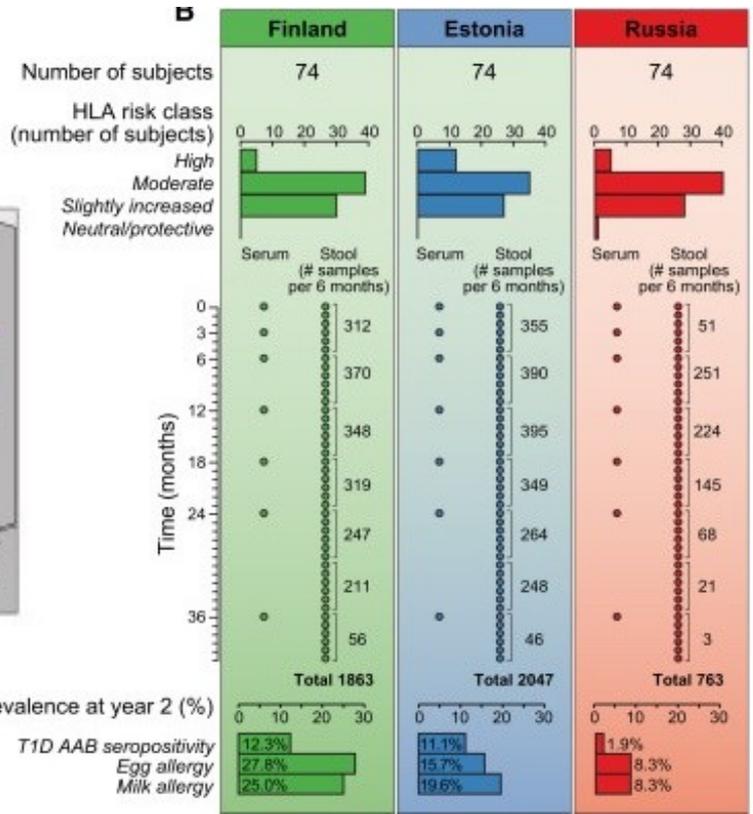
(Morin et al. 2012)

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI

• Education du SI et maladie auto-immune : Finlande Estonie vs Russie

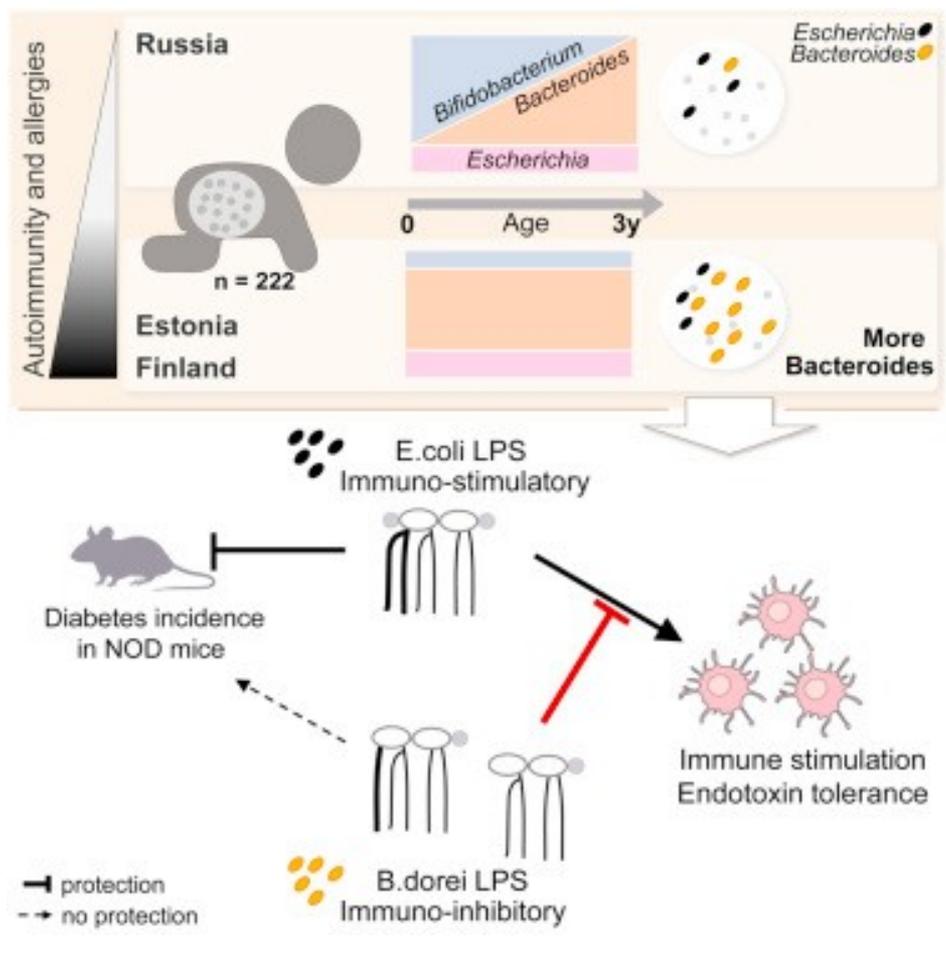


Maladie auto-immune
 T1D : diabète de type I
 Allergie Alimentaire

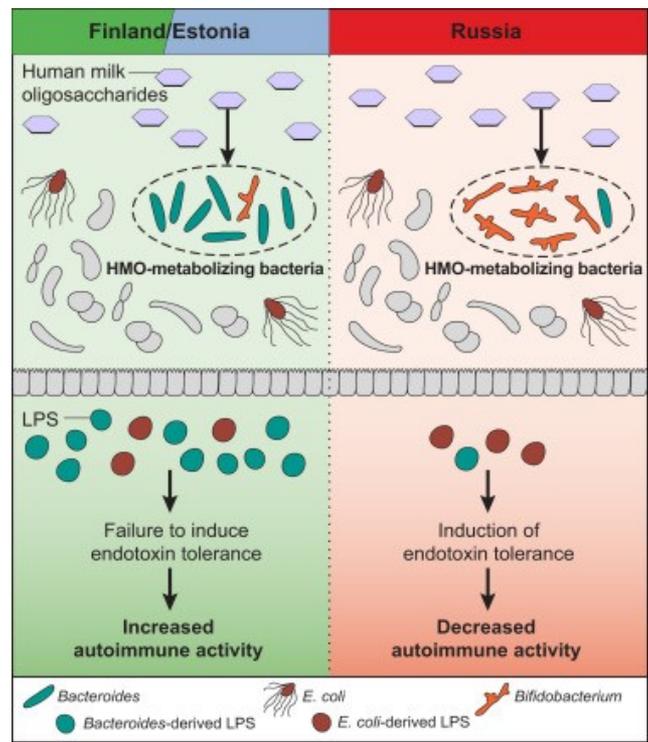


Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI

- **Education du SI et maladie auto-immune**



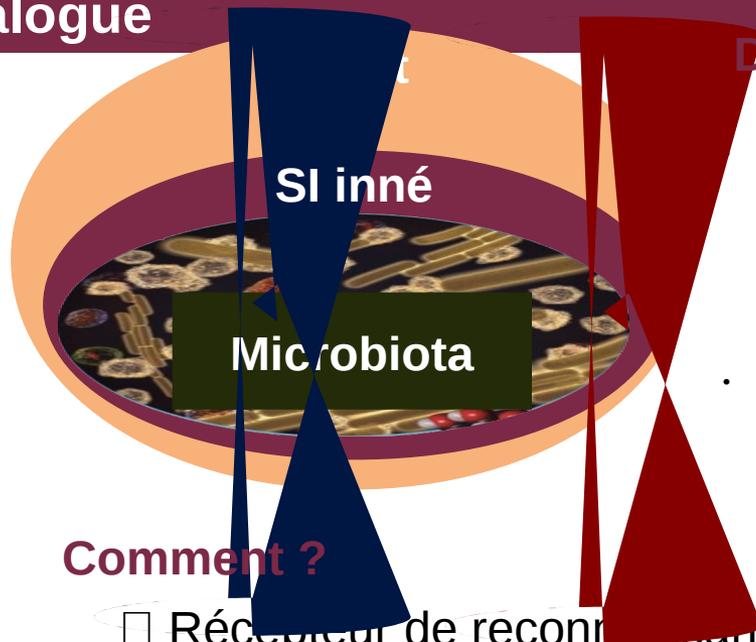
- Altération de la composition du microbiote (*Bacteroides*)
- La réaction pro-inflammatoire (liée au LPS E. Coli) est inhibée



Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □

dialogue

Dialogue SImme □ □ Microbiote



Assure l'équilibre entre la tolérance des micro-organismes commensaux et l'immunité contre les pathogènes

- Intervient également comme médiateur de tous les effets physiologiques du microbiote sur l'hôte

Comment ?

□ Récepteur de reconnaissance de pattern moléculaire PRRs (pattern-recognition receptor)

- TLRs (toll like receptor)
- NLRs (nucleotide-binding oligomerization like receptor) NOD1& NOD2
- RIG-I-like receptors,
- C-type lectin receptors,
- Etc...

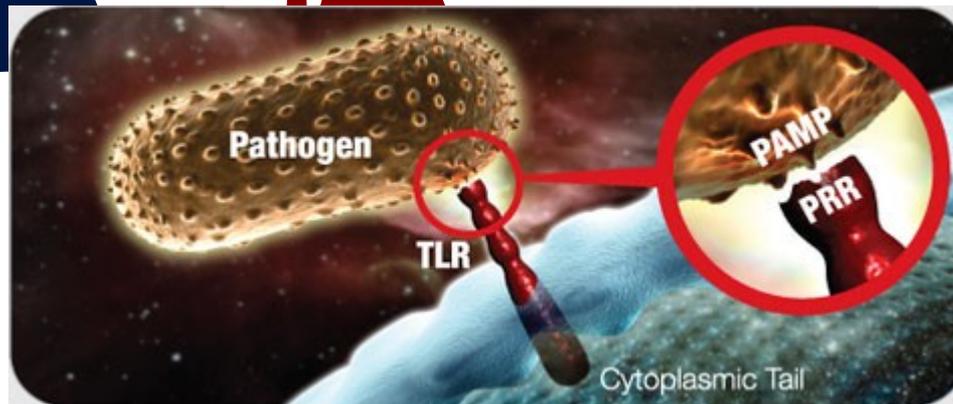
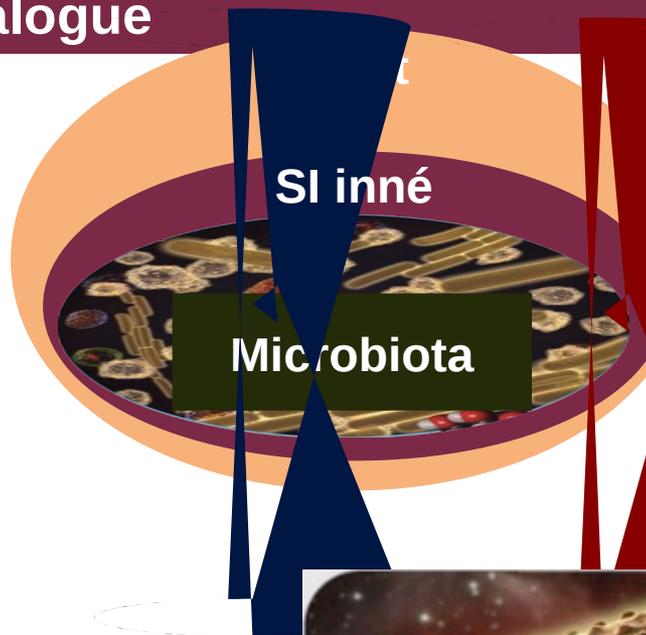
Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □

dialogue

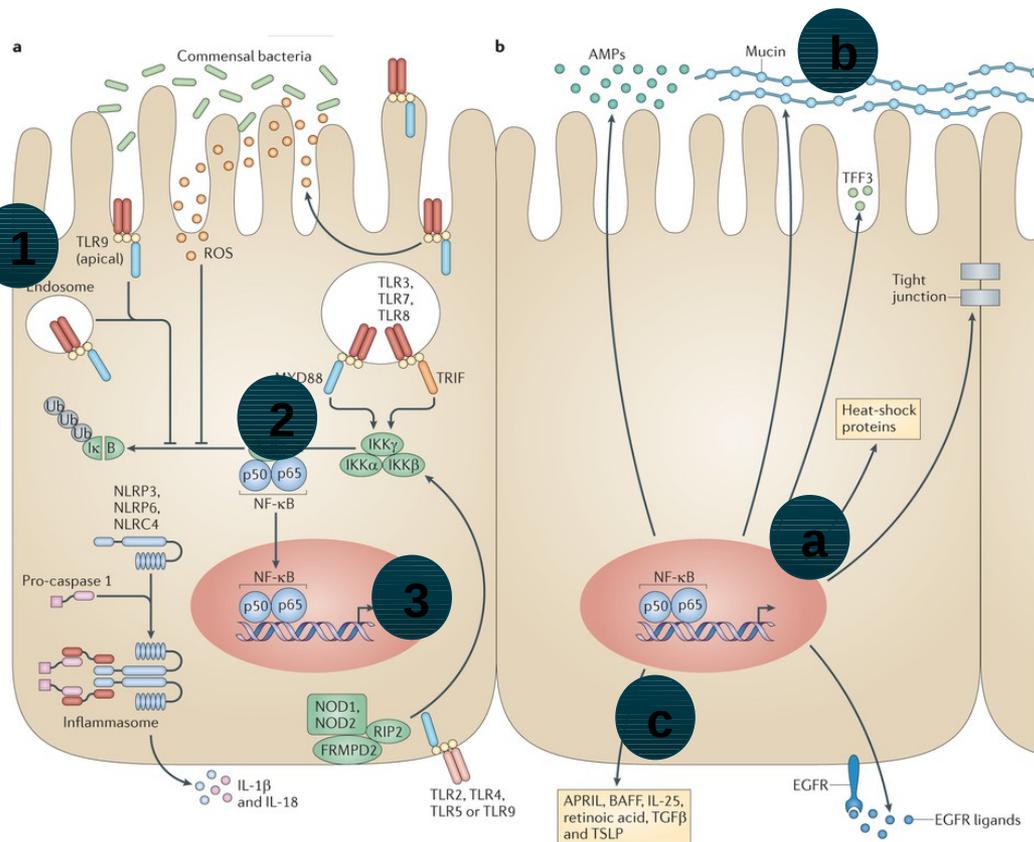
Dialogue SImme □ □ microbiote

Comment ?

- PRRs des cellules de l'hôte se lient avec des PAMPs (Pathogen associated molecular pattern)



http://www.intestin-carrefour-de-mon-destin.fr/_bibli/pages_images/pamp_prr_tlr.jpg



Dialogue SI inné □□ Microbiote

Comment ?

1. Reconnaissance
2. Recrutement de molécules signales
3. Activation de facteur de transcription
4. Sécrétion de cytokine (IL-18 et IL-1b)

Réponse de l'hôte ?

- a. **Stimulation des mécanismes de réparation**
- trefoil factor 3 (TFF3)
 - heat-shock proteins
 - epidermal growth factor receptor (EGFR) ligand expression

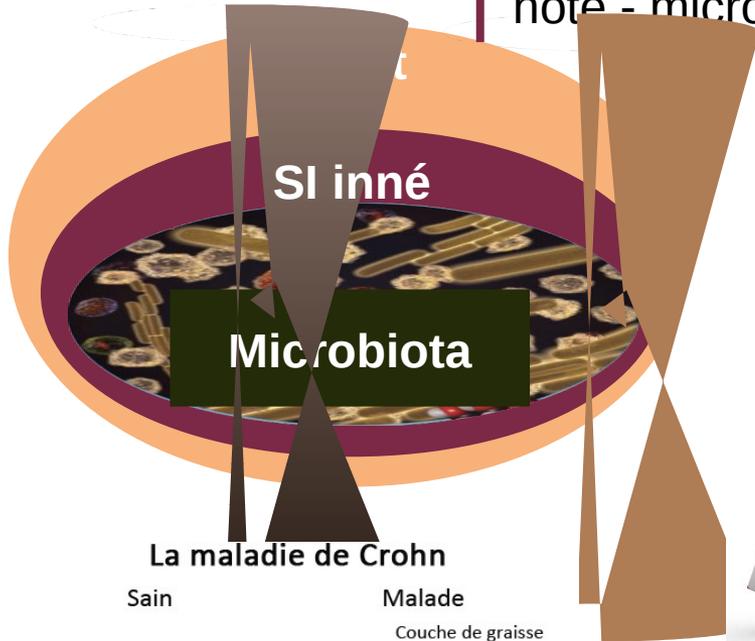
- b. **Fonction barrière**
- augmentation de la sécrétion de mucus
 - production de peptides antimicrobiens (AMP)
- c. **Réponse immunorégulatrice médiée** par
- proliferation-inducing ligand (APRIL),
 - B cell-activating factor (BAFF),
 - IL-25, retinoic acid,
 - transforming growth factor-β (TGFβ)
 - thymic stromal lymphopoietin (TSLP)

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □

Crohn et IBD

Maladie de Crohn :

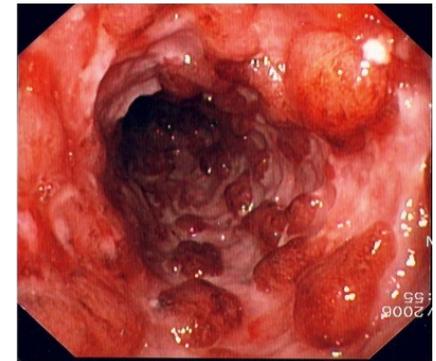
Maladie inflammatoire qui résulte d'interactions inadéquates hôte - microbiote



- Altération du microbiote □ diminution de sa diversité
- Altération du dialogue avec SI

Les moyens de lutte :

- Antibiothérapie
- Suppression de la réponse immunitaire
- Ablation



Mackenzie et al 2016 <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2016.02.028>

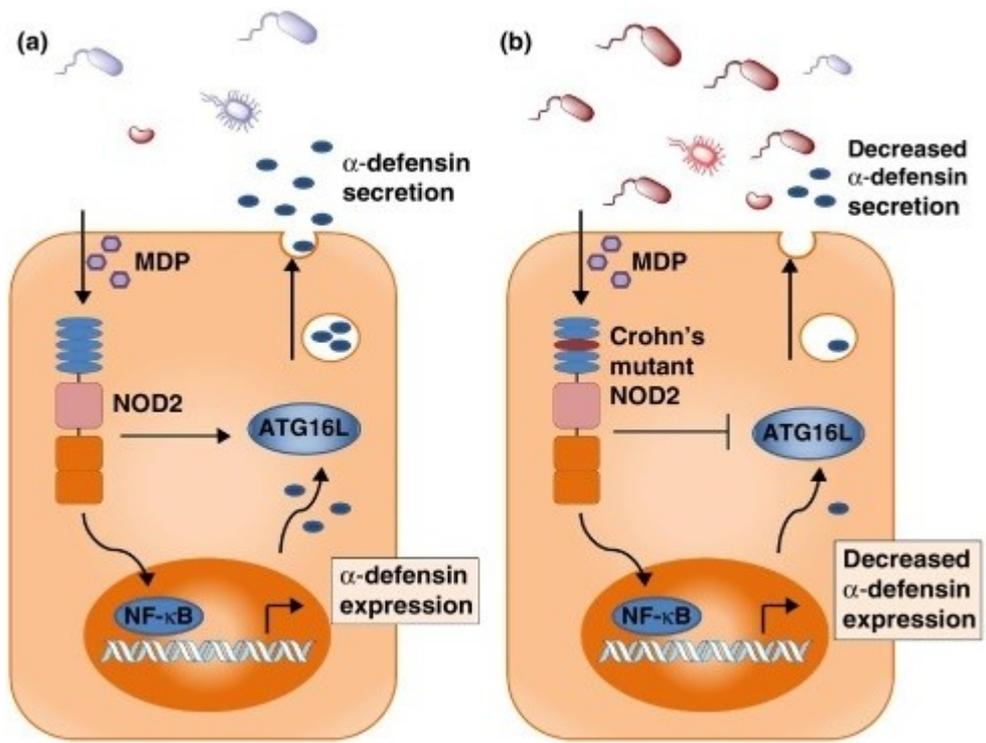
<http://www.e-semio.org/Maladie-de-Crohn>

Symbiose et rôles physiologiques : éducation et stimulation du SI □

Crohn et IBD

Mutation génétique : NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain-containing 2)

- Récepteur du SI intra cellulaire des cellules épithéliales
- Liaison avec des composants du peptidoglycan des parois bactériennes □ dipeptide muramyl (MDP)

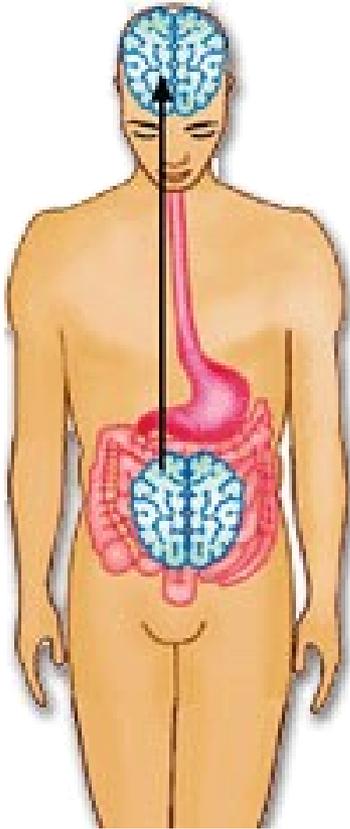


Le défaut de stabilité de NOD2 entraîne une prolifération bactérienne non souhaitée

Symbiose et rôles physiologiques

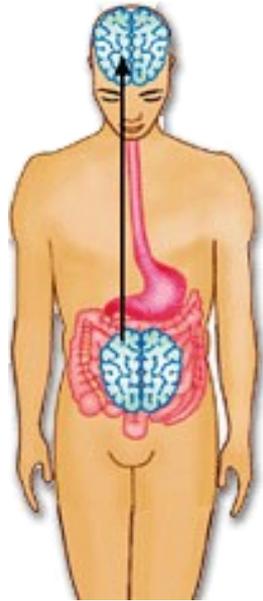
1. **Nutrition et maladie métabolique**
 - **La chaîne alimentaire**
 - **Focus Obésité**
 - **Focus sous nutrition**
2. **Développement, éducation et stimulation du système immunitaire**
 - **Rôle barrière**
 - **Rôle trophique**
 - **Stimulation, éducation**
 - **Mécanismes impliqués dans le dialogue**
3. **Notre deuxième cerveau**

Symbiose et rôles physiologiques : 2ème cerveau



- l'autisme
- rôle les comportements et des capacités cognitives
- mécanismes et dialogue

Symbiose et rôles physiologiques : 2ème cerveau □ l'autisme



Augmentation spectaculaire des cas d'autisme

□ meilleur diagnostique ?

Incidence de l'Autisme aux USA



Figure 1. Increase in prevalence of ASD from 1975 to 2012. Recent statistics indicate prevalence of 1/100 in the UK (UK census, 2010), 1/68 in USA (CDC, 2010), 1/66 in China (Fudan Univ, 2013), 1/38 in South Korea (Yale Child Study Center, 2011).

Etiologie non connue

- Piste psychique (rôle de la mère)
- Piste génétique (gènes et SNP)
- Piste environnemental (pesticide, pollution et alimentation)

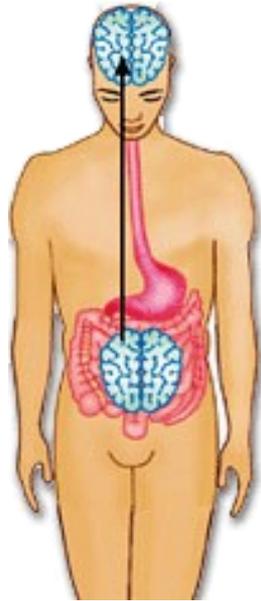
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4310852/>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4374086/>

B. L. Williams, M. Hornig, T. Parekh, and W. I. Lipkin, mBio 3(1):e00261-11, 2012

L'énigme de l'autisme - La piste bactérienne <http://boutique.arte.tv/f7630-autisme>

Symbiose et rôles physiologiques : 2ème cerveau □ l'autisme



D'une manière générale, les symptômes gastro-intestinaux (diarrhée, constipation, douleurs) sont présents chez 43,7% des autistes.

Incidence de l'Autisme aux USA



Figure 1. Increase in prevalence of ASD from 1975 to 2012. Recent statistics indicate prevalence of 1/100 in the UK (UK census, 2010), 1/68 in USA (CDC, 2010), 1/66 in China (Fudan Univ, 2013), 1/38 in South Korea (Yale Child Study Center, 2011).

Les symptômes peuvent être contenus par la prise d'antibiotiques

- Clostridium suspectée
- Une bactérie du groupe Sutterella chez 12 autistes sur 23
- Perméabilité intestinale ?
- Propionate important ?

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4310852/>

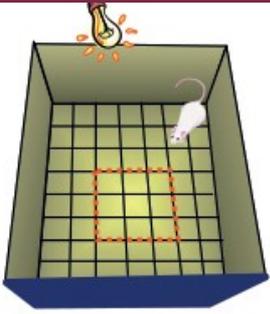
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4374086/>

B. L. Williams, M. Hornig, T. Parekh, and W. I. Lipkin, mBio 3(1):e00261-11, 2012

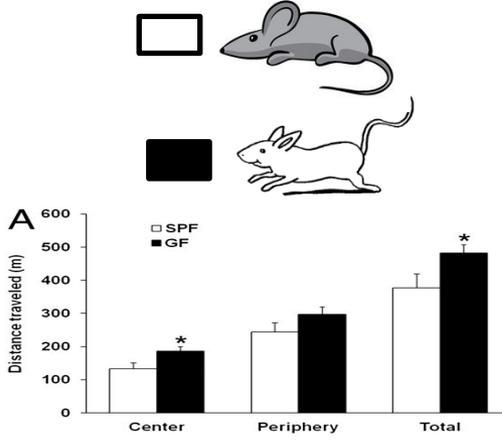
L'énigme de l'autisme - La piste bactérienne <http://boutique.arte.tv/f7630-autisme>

Symbiose et rôles physiologiques : 2ème cerveau □ Comportement

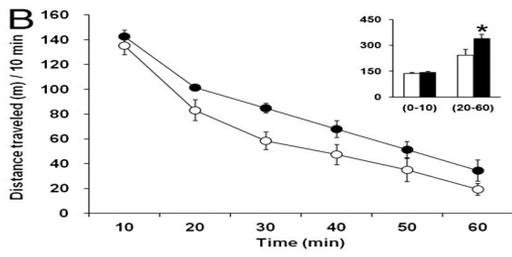
GF mice display increased spontaneous motor activity



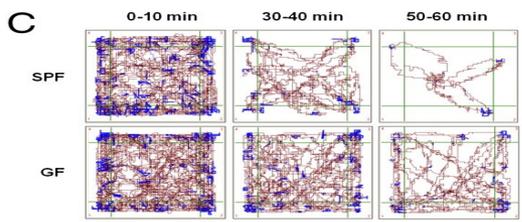
Distance cumulée parcourue



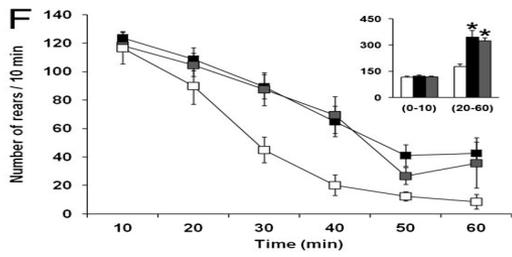
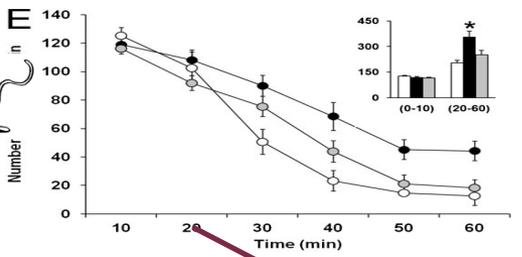
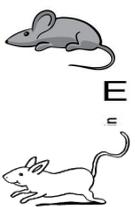
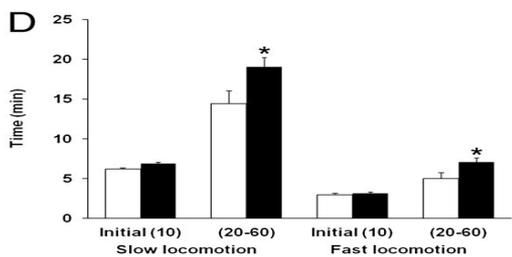
Test en open field



Déplacement



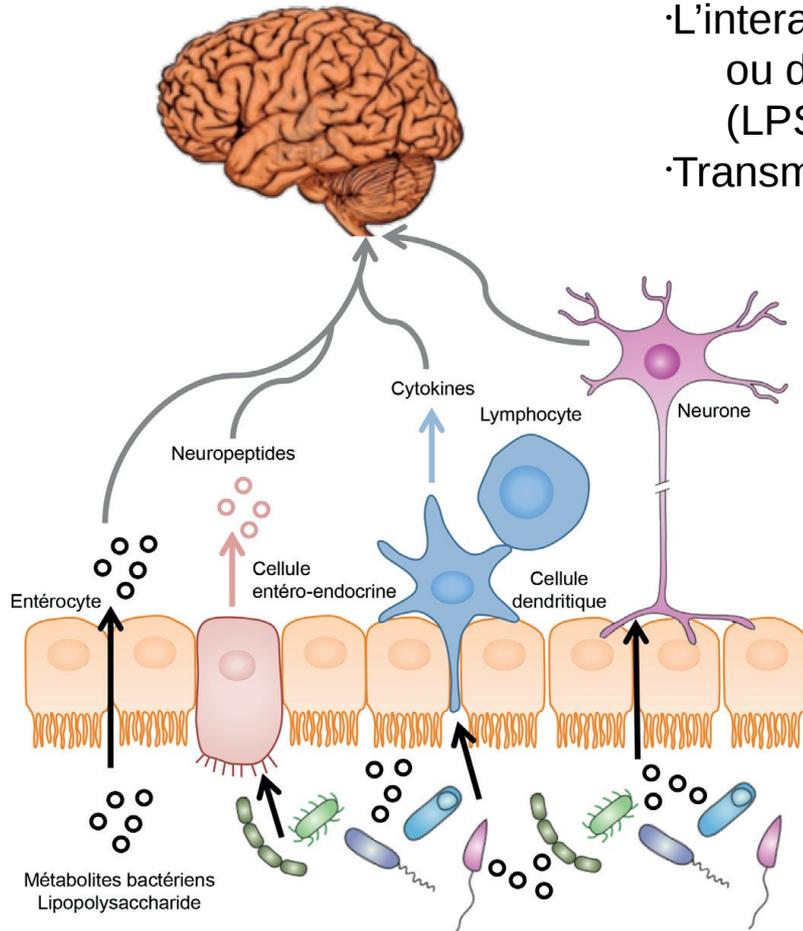
Distance moyenne parcourue



Rochellys Diaz Hejtz et al. PNAS 2011;108:3047-3052

PNAS

Symbiose et rôles physiologiques : 2ème cerveau □ mécanisme et dialogue



·L'interaction avec les bactéries se fait via des métabolites ou des macromolécules de l'architecture cellulaire (LPS)

·Transmission via :

- Voie **métabolique** : après absorption intestinale (transcellulaire ou paracellulaire)
- Voie **endocrine** : stimulation de la sécrétion des neuropeptides par les cellules entéro-endocrines
- Voie **immune**: stimulation des cellules immunitaires intestinales et de la production de cytokines
- Voie **nerveuse**: stimulation des neurones du système nerveux entérique et de la composante parasympathique du système nerveux autonome

DOI : 10.4267/2042/57938

(Rabot, 2015)

Symbiose et rôles physiologiques

1. **Nutrition et maladie métabolique**
 - **La chaîne alimentaire**
 - **Focus Obésité**
 - **Focus sous nutrition**
2. **Développement, éducation et stimulation du système immunitaire**
 - **Rôle barrière**
 - **Rôle trophique**
 - **Stimulation, éducation**
 - **Mécanismes impliqués dans le dialogue**
3. **Notre deuxième cerveau**
 - **Autisme et comportement**
 - **mécanismes**

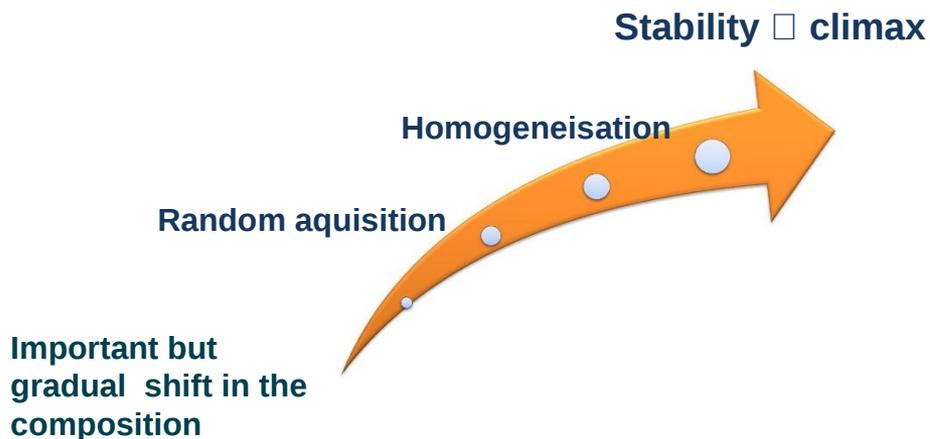




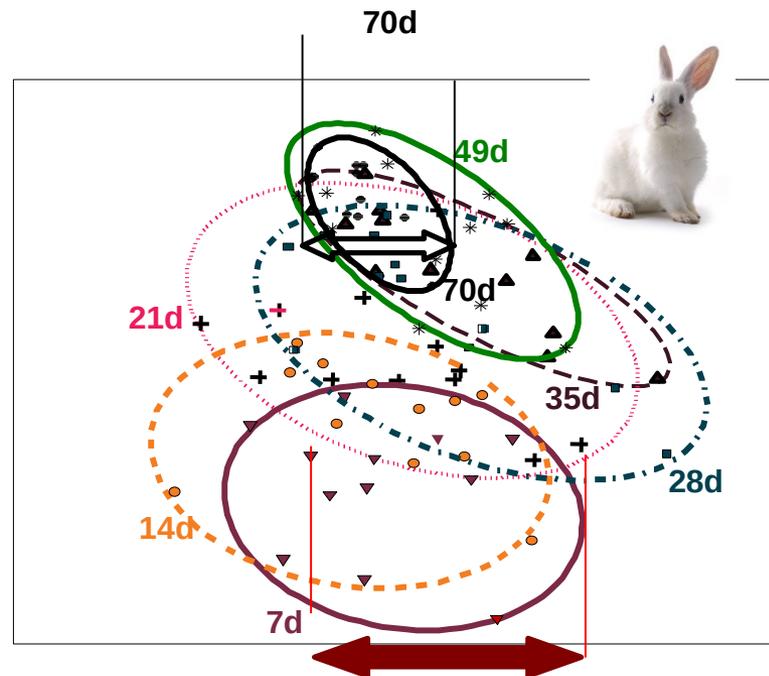
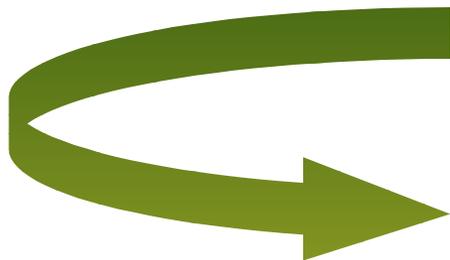
Contrôler son microbiote pour guérir ou préserver sa santé

1. **Principe écologique**
2. **Outils**
 - **Alimentation**
 - **Prébiotiques**
 - **Probiotiques**
 - **Antibiotiques**
 - **La transplantation fécale**
 - **La phagothérapie**

Contrôler son microbiote : principes écologiques



1. Modifier les espèces pionnières
2. Modifier la succession écologique des espèces
3. Accélérer la maturation



- Introduction d'espèces : probiotique
- Exclusion compétitive : inoculation communauté complexe
- Modification du biotope : aliments, prébiotiques

Contrôler son microbiote : ingénierie écologique

Les outils :



L'environnement immédiat

Nutrition

Quantity and quality of fibres, proteins ...

Prebiotics

Probiotics

Antibiothérapie

Greffe fécale

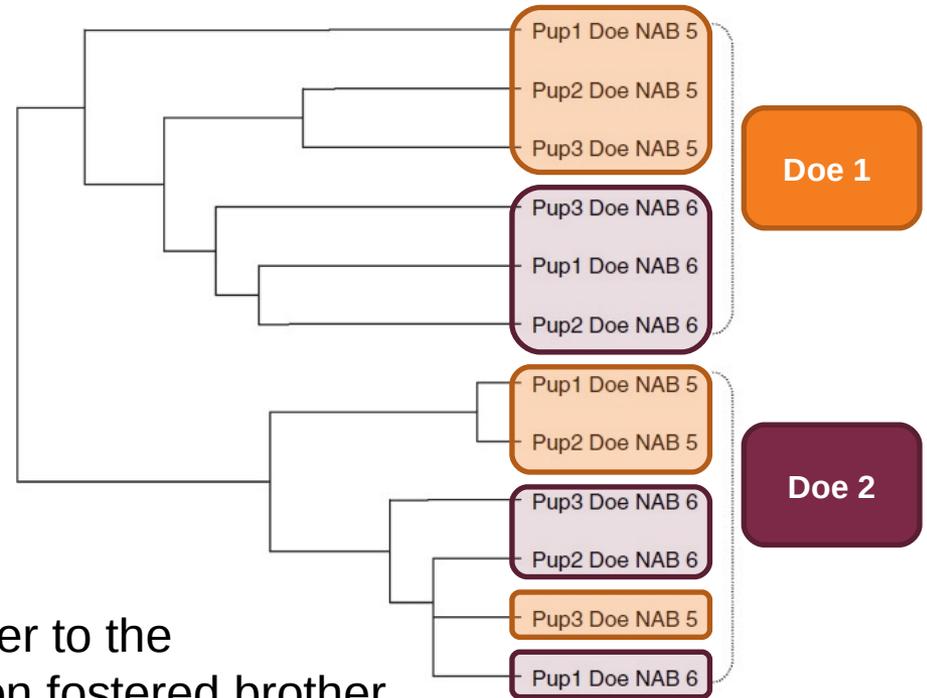
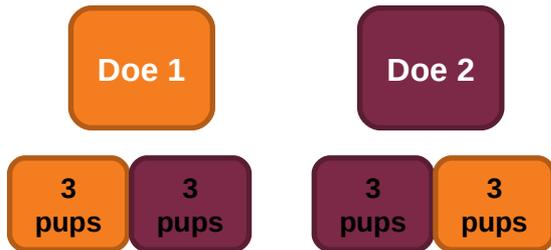
Phagothérapie





Immediate environment: milking mother

✓ nursing mother vs the biological mother

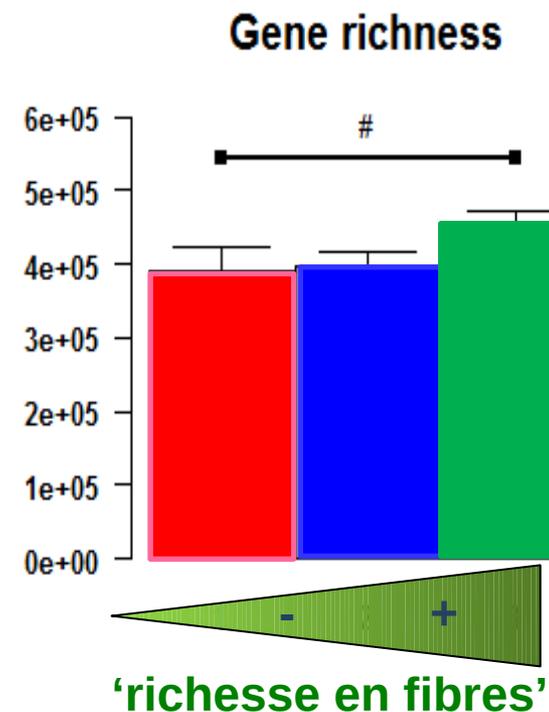
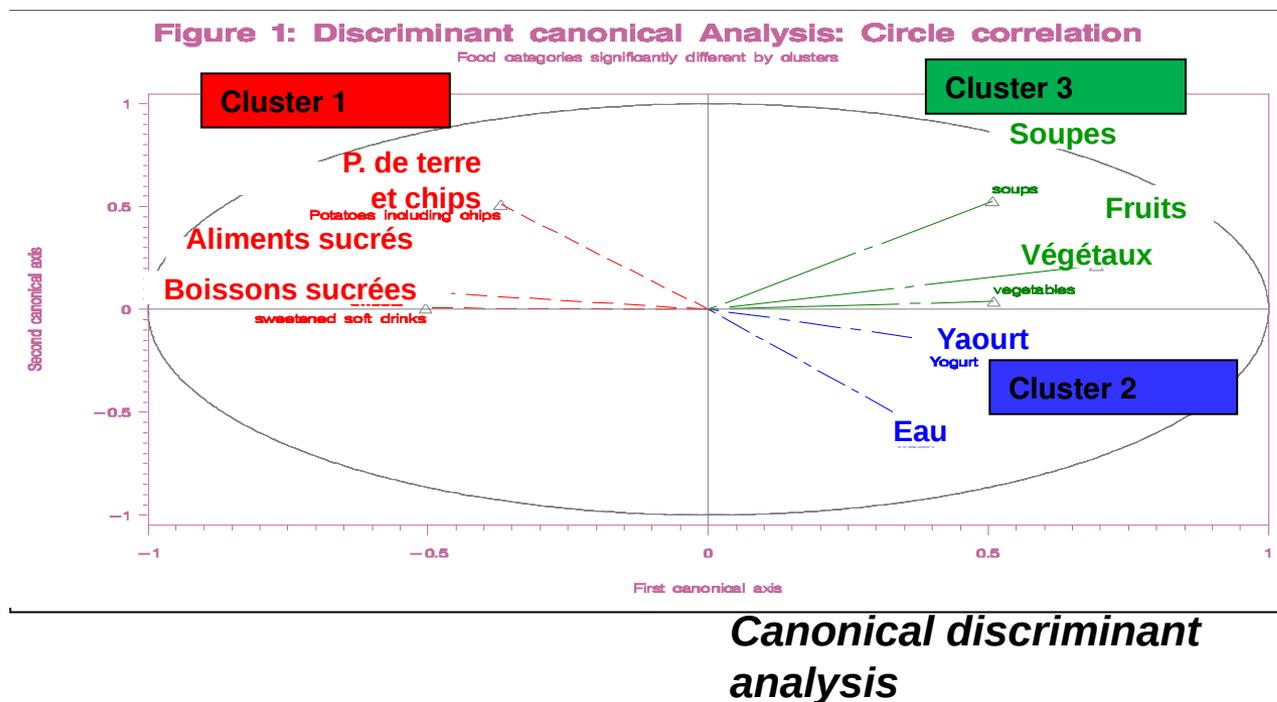


Microbiota of the fostered pups was closer to the cohabiting pups than that of their own non fostered brother

(Abecia et al. 2007)

Contrôler son biotope

Analyse basée sur la fréquence de consommation de 26 aliments



La richesse en fibres du régime favorise la richesse en gènes du microbiote !!!

Nourrir ses bactéries préférées



Prébiotiques

(oligosaccharides non digestible)



« ingrédient alimentaire non digestible qui affecte positivement l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries intestinales » (Gibson et Roberfroid, 1995).

competition by masking the binding sites of pathogenic bacteria to the mucosa

Nourrir ses bactéries préférées



Prébiotiques



Prébiotiques

Origine

Inuline

Racines de chicorée, artichaut

FOS (fructo-oligosaccharides)

Hydrolyse de l'inuline de chicorée
Synthèse à partir de saccharose

GOS (galacto-oligosaccharides)

Synthèse à partir du lactose

Lactulose

Isomérisation du lactose

Oligosaccharides de soja

Soja

MOS (Manannes)

Levure

Beta glucane

Levure, blé

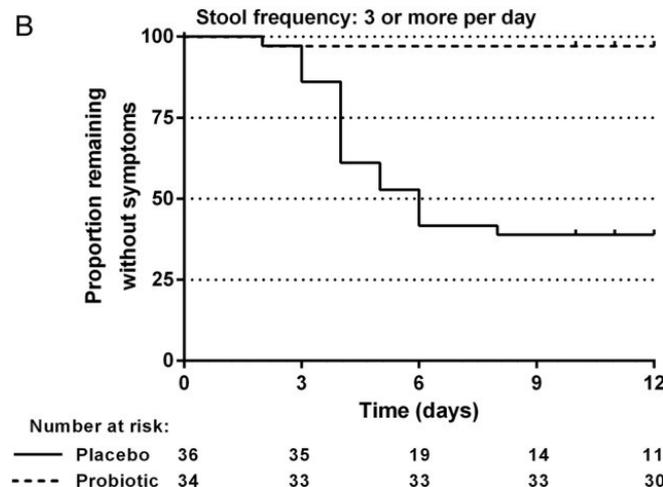
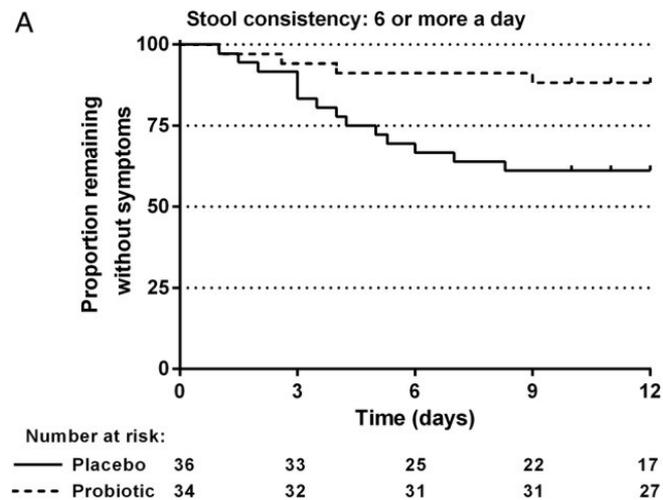
Principaux prébiotiques commercialisés (modifié d'après Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007)

J'invite une bactérie "amie"

 **PrObiotiques**



Micro-organismes vivants, utilisés comme additif alimentaire, capables de moduler les activités du microbiote digestif, dans le but d'améliorer la santé ou les performances de l'hôte. Ils sont constitués d'une ou plusieurs espèces de microorganismes vivants accompagnés ou non des résidus de culture



J'invite une bactérie "amie"

PrObiotiques

Bifidobacterium	B. longum B. breve, B.infantis, B. bifidum, B. adolescentis
Lactococcus	L. cremoris, L. lactis
Streptococcus	S. thermophilus
Enterococcus	E. faecium
Lactobacillus	L. rhamnosus, L. acidophilus, L. casei, L. bulgarus, L. gasseri, L. reuterii, L. plantarum, L. srogenes
Pedicococcus	P. acidilactici
Bacillus	B. cereus, B. subtilis, B. clausii, B. licheniformis, B. pumilus, B. laterosporus, B. megaterium
Saccharomyce	S. cerevisiae, S. cerevisiae subp boulardii
S	

Principales espèces microbiennes utilisées comme probiotique (Fonty et Gouet, 1989)

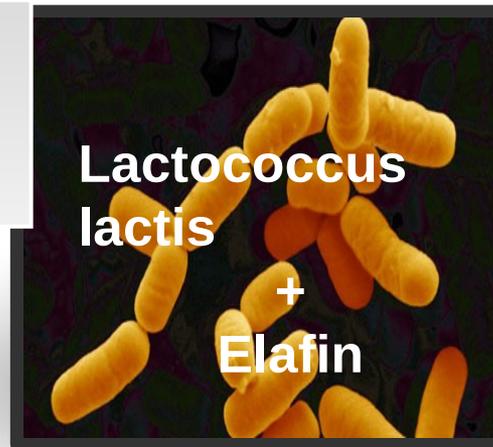
J'invite une bactérie "amie"

PrObiotiques

Action:

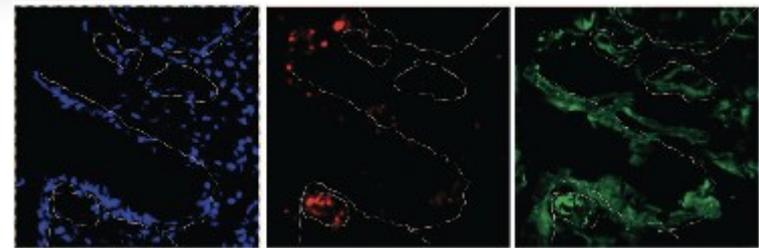
Production de facteurs antimicrobiens (bacteriocin), métabolites ou enzymes

Gut protection and decrease of inflammatory symptoms



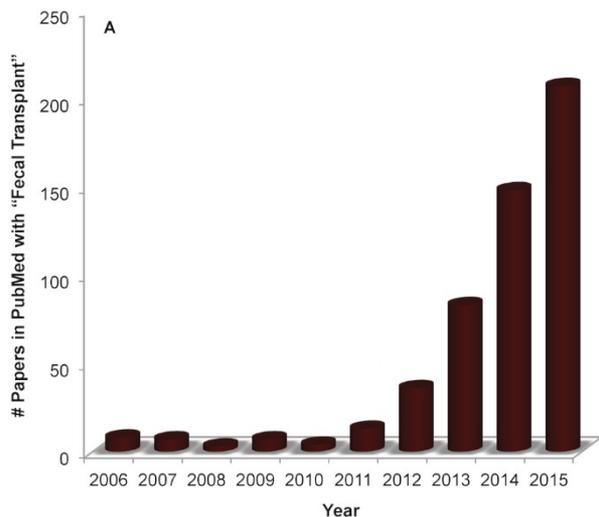
Bactérie OGM pour la synthèse in situ de protéines

(Motta et al. 2012)



La transplantation fécale

95% de réussite contre *Clostridium difficile*



Nombre d'articles traitant de transplantation fécale



La proximité génétique ou environnemental n'a pas d'incidence sur le succès

La transplantation fécale



Transposition moderne d'un remède ancestral chinois :

Au IV^e siècle, l'alchimiste Ge Hong administrait des suspensions fécales humaines pour traiter des diarrhées sévères.

La « soupe dorée » figure toujours dans l'arsenal thérapeutique traditionnel chinois.

En savoir plus sur http://www.lemonde.fr/sante/article/2015/07/14/nos-bacteries-intestinales-medicaments-de-demain_4682189_1651302.html#32giWQEDdQjipmUM.99

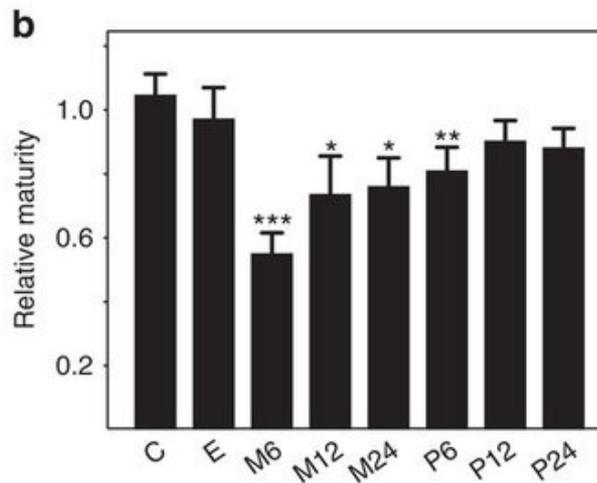
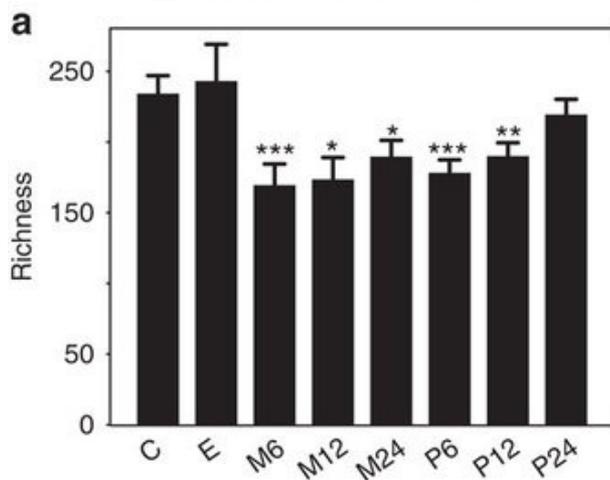
Antibiothérapie □ peu spécifique et dégâts colatéraux



Diminue la richesse spécifique
Modifie l'abondance relative des espèces
Des modifications qui perdurent à long terme

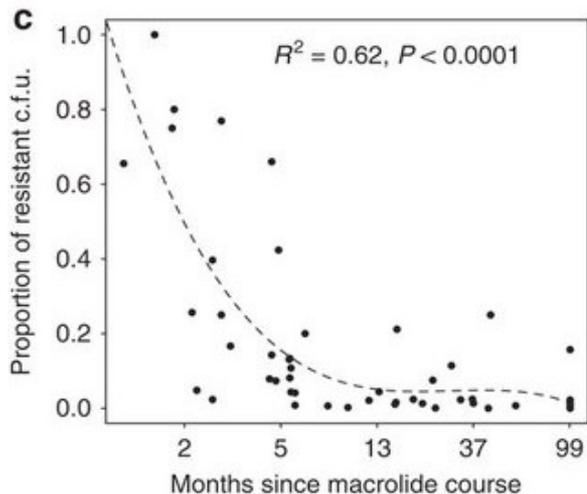


Enfant de 5 ans

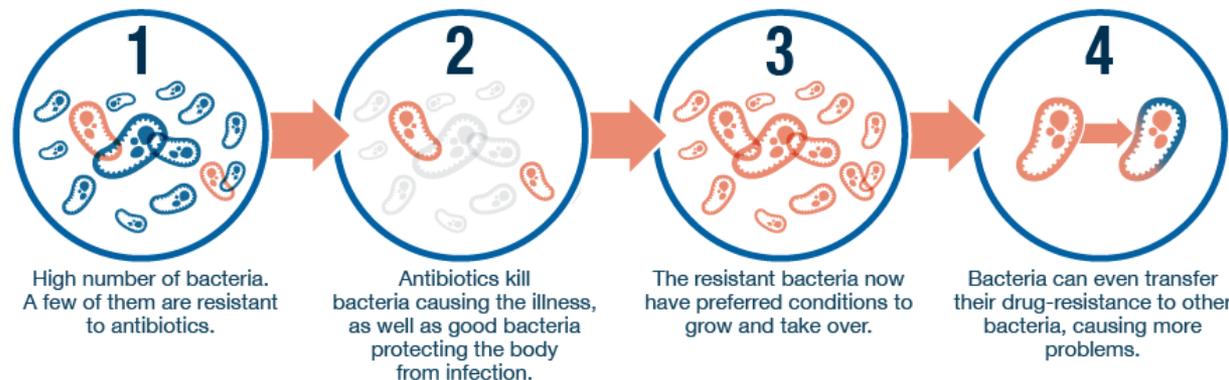


- C: control
- E: exposition précoce
- M6-12-24: macrolides 6-12-24 derniers mois
- P6-12-24: penicilline 6-12-24 derniers mois

Antibiothérapie □ peu spécifique et dégâts colatéraux



How does antibiotic resistance occur?



Film sur l'antibiorésistance en 11 jours

The evolution of bacteria
on a "mega-plate" Petri dish



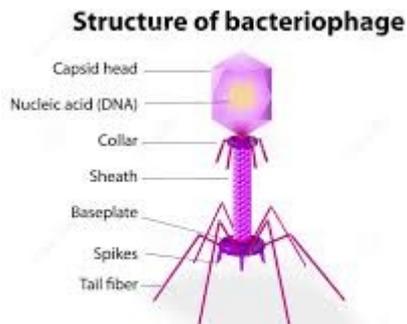
HARVARD
MEDICAL SCHOOL

The Evolution of Bacteria on a "Mega-Plate" Petri Dish (Kish)

<http://www.biorigami.com/?p=7250>

<https://www.youtube.com/watch?v=plVk4NVIUh8>

Les bacteriophages : Sniper et super-sniper



Attaque ciblée des bactériophages



Lyse

re-programmation
CRISPR-Cas9
Destruction du gene de
résistance et
“immunisation”
(Bikard et al. 2014)

Ce qu'il faut retenir....



Contrôler son microbiote pour guérir ou préserver sa santé

1. **Principe écologique**
2. **Outils**
 - **Alimentation**
 - **Prébiotiques**
 - **Probiotiques**
 - **Antibiotiques**
 - **La transplantation fécale**
 - **La phagothérapie**

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage

1. Pour qui :

- Stratégies digestives et les fermenteurs
- Caecotrophie, coprophagie illustration lapin

2. Pourquoi ?

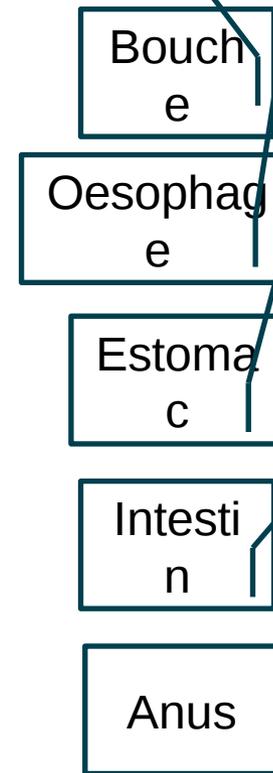
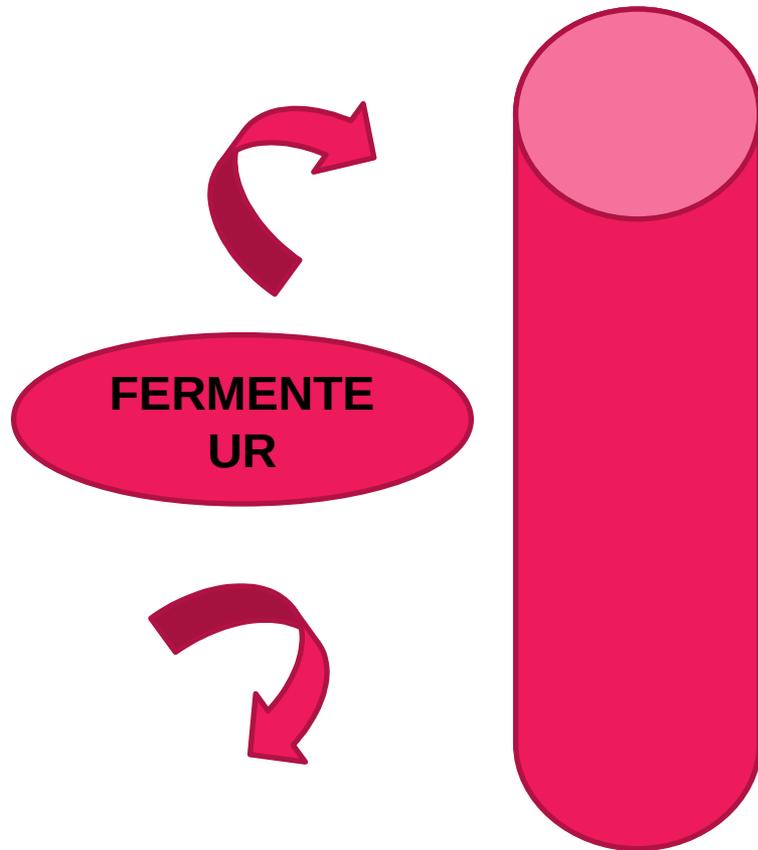
- Efficacité digestive
- Production de méthane
- Gavage
- Robustesse au sevrage
- Fibre et truie en gestation
- Résistance à la colonisation exemple salmonella

3. Comment

- Nutrition : fibres, prébiotiques
- Broilac
- Transmission mère jeune

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pour qui ?

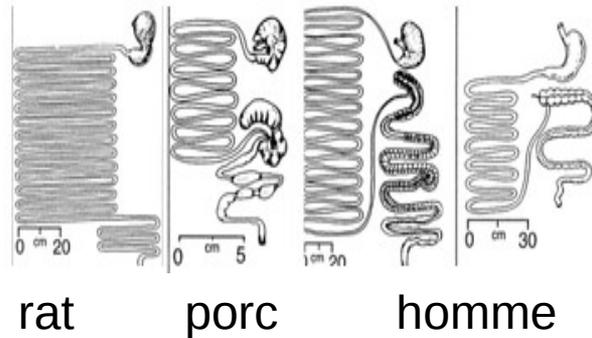
- Stratégies digestives et fermenteurs



Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pour qui ?

Stratégies digestives et fermenteurs

Omnivores



rat

porc

homme

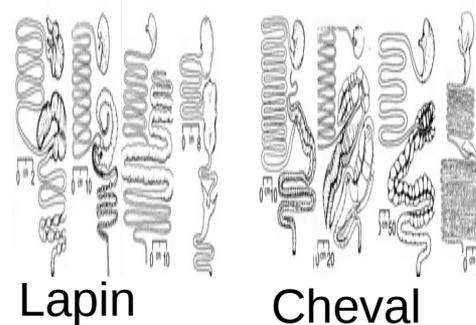
Position des
fermenteurs

postérieure

Caractéristique
symbiotique

Modèle
compétition –
coopération

Herbivores

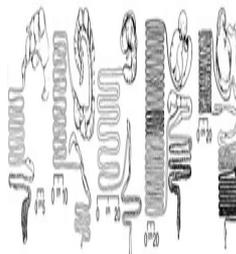


Lapin

Cheval

postérieure

Modèle
compétition –
coopération



Ruminant

antérieure

coopération

Stratégie digestive herbivore



- Rétention de particules dans le rumen
- Fermentation
- Evacuation de particules de faibles tailles vers les segments postérieurs

- Digestion enzymatique



- Digestion enzymatique des aliments segments proximaux

- Fermentation dans le caecum et le colon
- Rétention des particules fines
- Rejet rapide des particules grossières (crottes dures)



consomme une grande variété d'aliments (graine, aux plantes herbacées voire ligneuses)

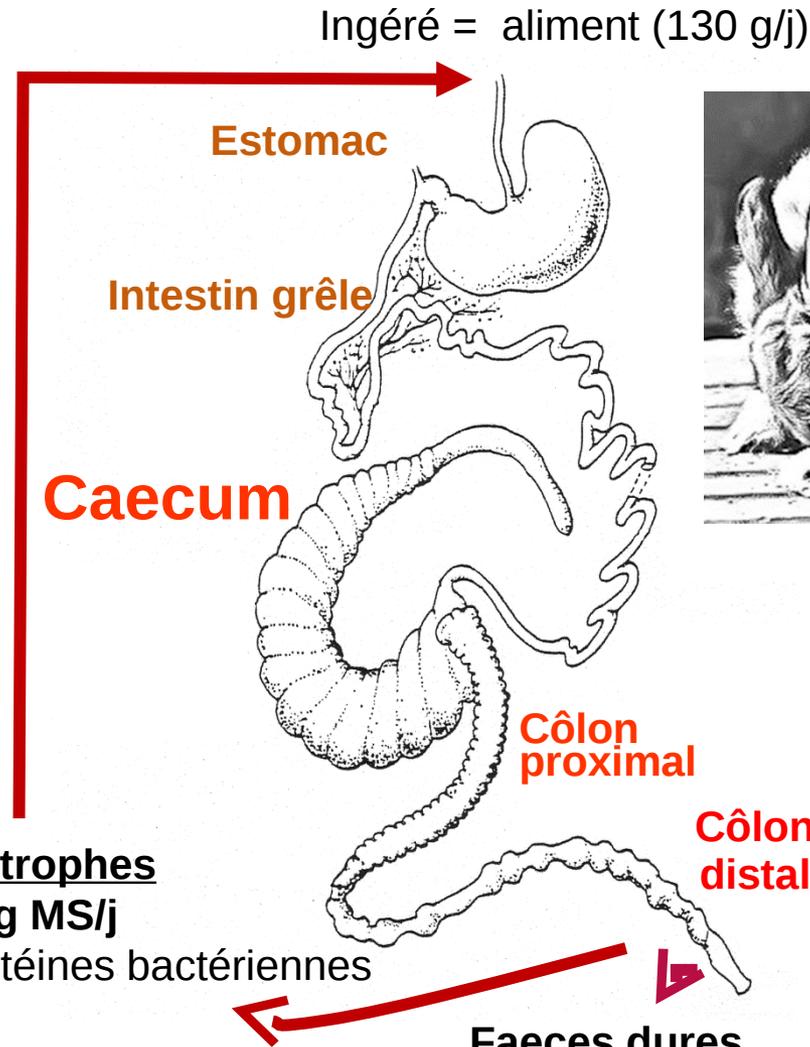
Caecotrophie

caecotrophes

Caecotrophes riches en vitamines, à gauche et excréments normaux en forme de billes, à droite.



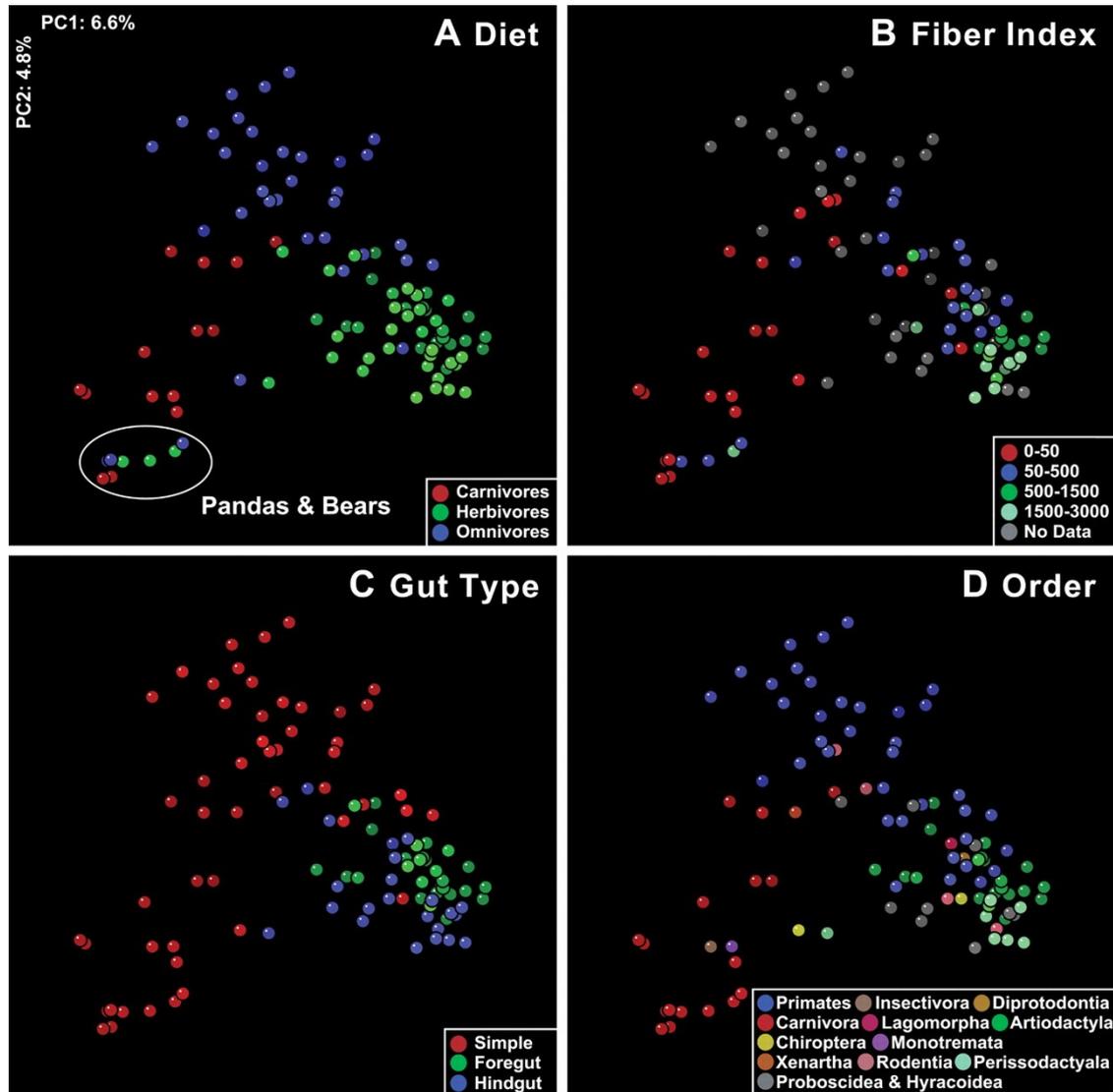
crottes



→ Pas besoin d'apports de vit B et C

Faeces dures
rejet de ± 40 g MS/j

Fig. 2. Mammalian fecal bacterial communities clustered using principal coordinates analysis (PCoA) of the UniFrac metric matrix.



Ruth E. Ley et al. Science
 2008;320:1647-1651

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage

1. Pour qui :

- Stratégies digestives et les fermenteurs
- Caecotrophie, coprophagie illustration lapin

2. Pourquoi ?

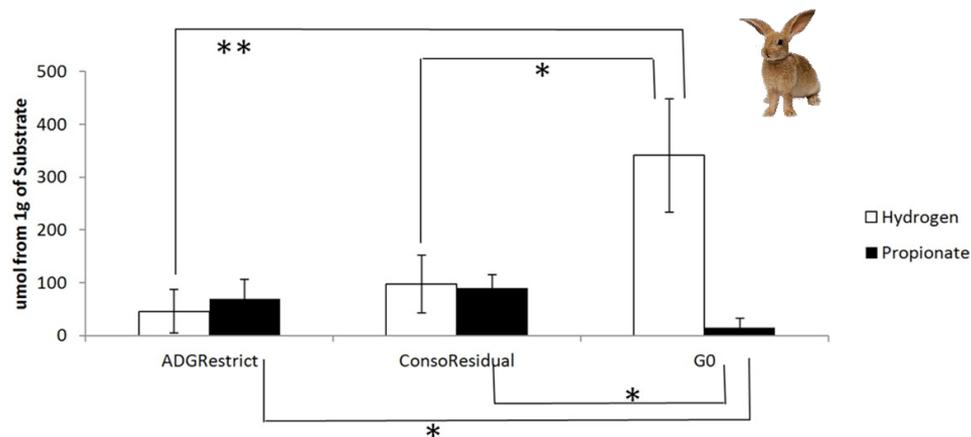
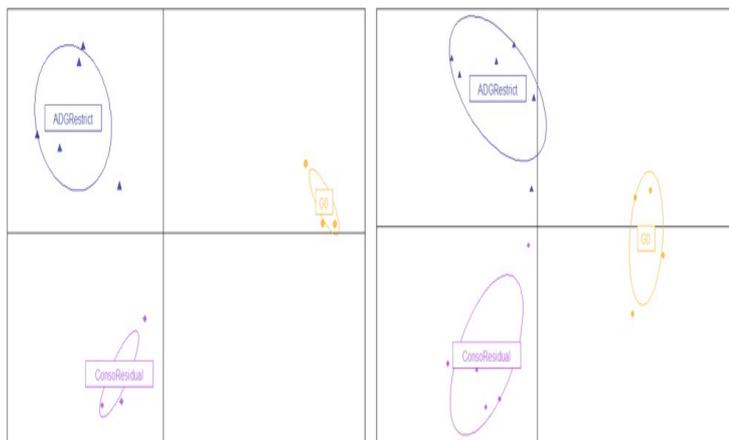
- Efficacité digestive
- Production de méthane
- Gavage
- Robustesse au sevrage
- Fibre et truie en gestation
- Résistance à la colonisation exemple salmonella
- Qualité des produits (lait, viande)

3. Comment ?

- Nutrition : fibres, prébiotique
- Broilac
- Transmission mère jeune

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pourquoi ?

- Améliorer l'efficacité digestive et la croissance



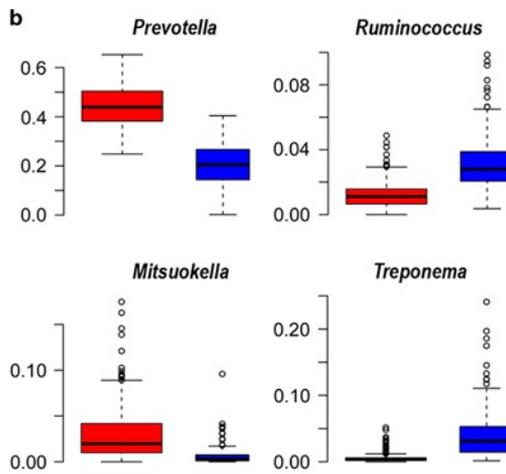
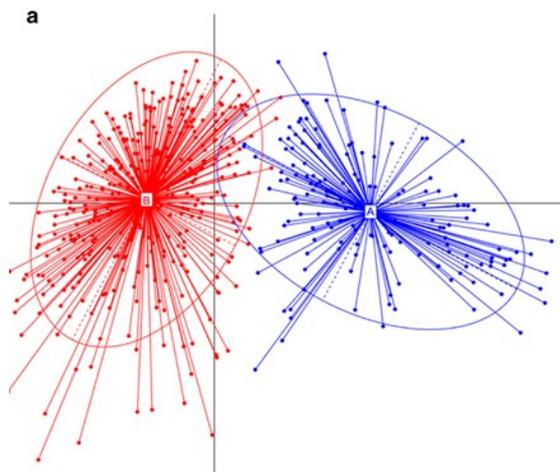
Drouilhet 2015 Journal of Animal Science

La sélection sur l'efficacité digestive et la croissance modifie:

- composition
- capacité métabolique du microbiote

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pourquoi ?

- Améliorer la croissance

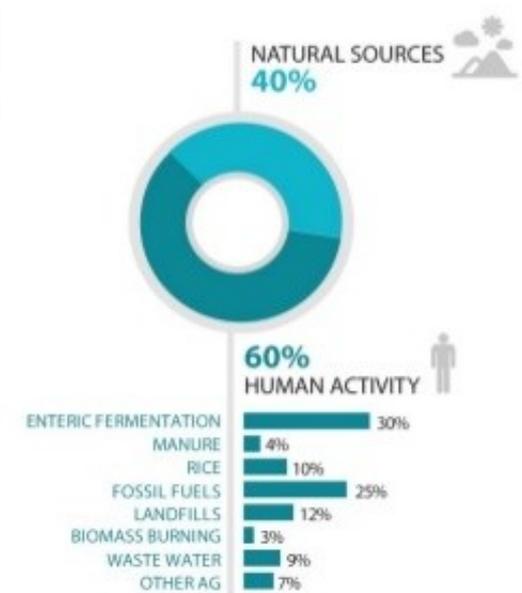


Enterotypes	ADG (g/day)
Ruminococcus, Treponema	438.3 ± 6.7
Prevotella, Mitsuokella	456.3 ± 4.4

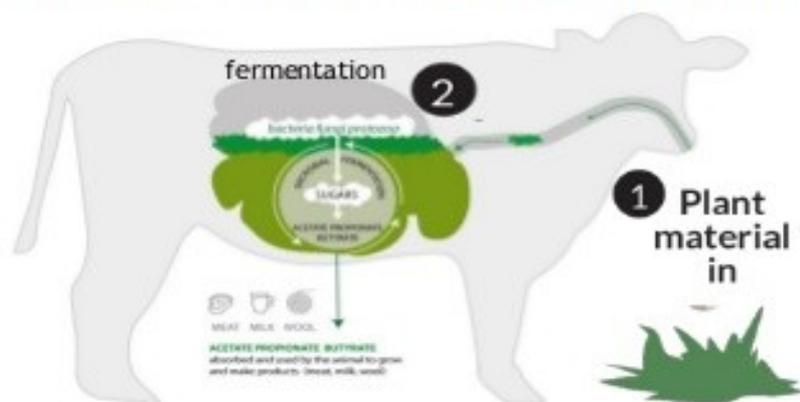
(Ramayo-Caldas et al., 2016)

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pour

- Diminuer la production de CH₄

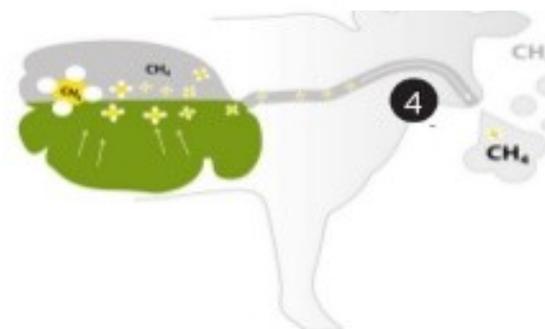


THE RUMEN: MICROBIAL FERMENTATION



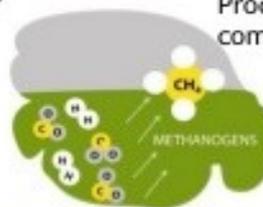
Rumen microorganisms and their roles

- **Bacteria:** ferment fiber, starch, sugar in feed to VFA, H₂, CO₂
- **Protozoa:** consume and ferment bacteria to VFA and NH₃, ferment starch, recycle N
- **Funghi:** assist in fibre digestion



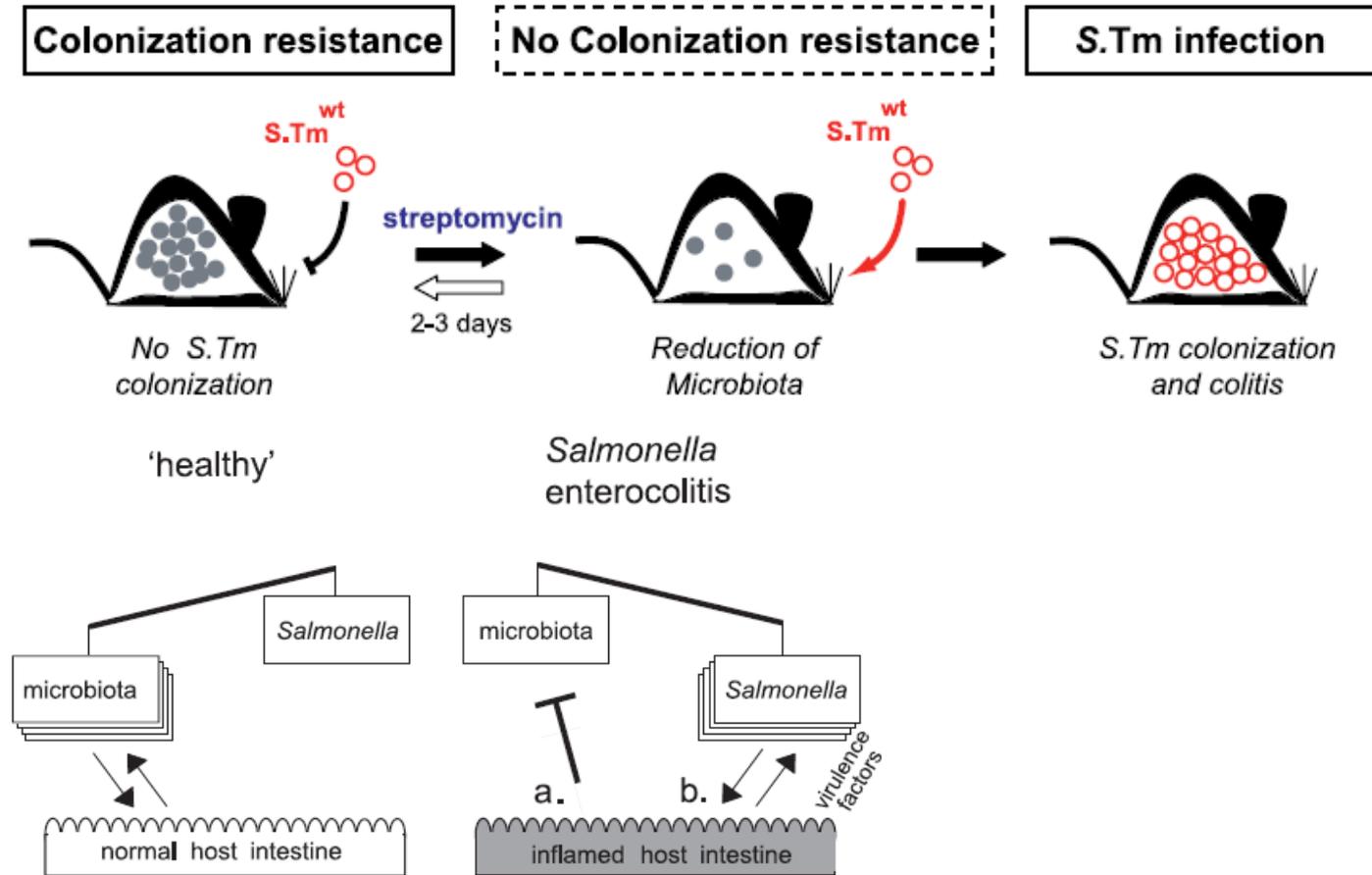
3 Methanogens

Produce CH₄, but allows for more complete feed utilization



Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pourquoi ?

- Résistance à la colonisation de pathogènes (*Salmonella*)



Stecher 2007 Plos Biology

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pourquoi ?

- Résistance à la colonisation de pathogènes (*Salmonella*)

Prevention of *Salmonella typhimurium* Colonization of Broilers with D-Mannose¹

B. A. OYOFO, J. R. DeLOACH,² D. E. CORRIER, J. O. NORMAN, R. L. ZIPRIN, and H. H. MOLLENHAUER



TABLE 2. Effect of D-mannose treatment on *Salmonella typhimurium* colonization of the caecum of broiler chickens

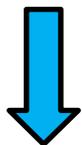
Group	Treatment	Number of chickens colonized/group ¹					
		1st Replication		2nd Replication		3rd Replication	
		n	% Colonized	n	% Colonized	n	% Colonized
1	Control (water)	0	...	0	...	0	...
2	Control (mannose)	0	...	0	...	0	...
3	Salmonella (water)	22/28	78	23/28	82	26/28	93
4	Salmonella (mannose)	8/29	28***	6/28	21***	12/28	43***



Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pourquoi ?

- **Gavage**

Optimisation du microbiote



Améliorer le stockage des lipides dans le foie



Piste pour une alternative au gavage



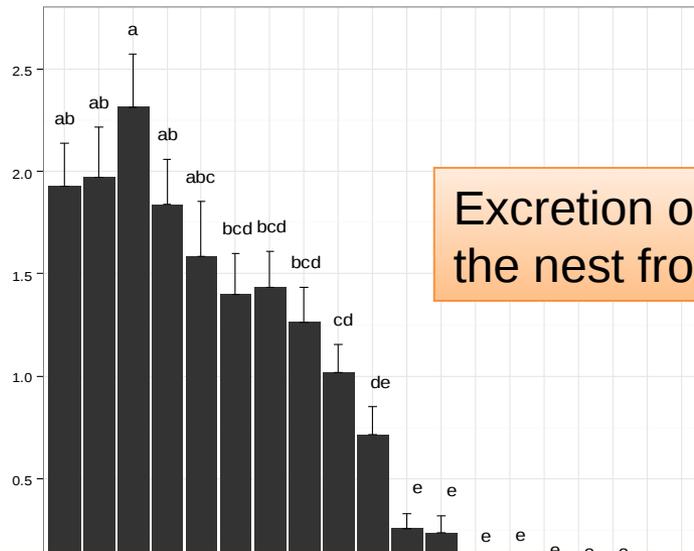
Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pourquoi ?

- Robustesse au sevrage

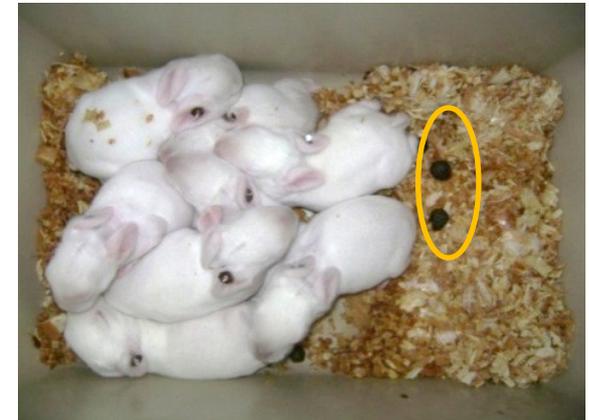


Coprophagie

✓ during nursing, the doe leaves some faecal pellets in the nest that are eaten by the pups (*Moncomble et al., 2004; Kovacs et al .2006*)



Excretion of fecal pellet in the nest from d1 to d12



(*Combes et al., 2014*).

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pourquoi ?

- Robustesse au sevrage



Coprophagie

	Control	No Feces	Feces supply
# feces intake	10 c	-	36 a
Live weight at 35 days (g)	858 ab	837 b	891 a
Mortality 2-70 days (%)	15.5 ab	22.8 a	9.3 b



(Combes et al., 2014)

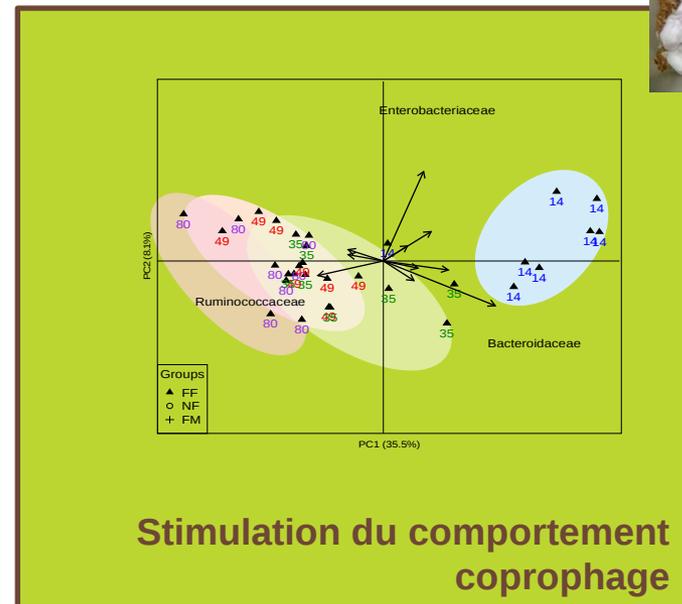
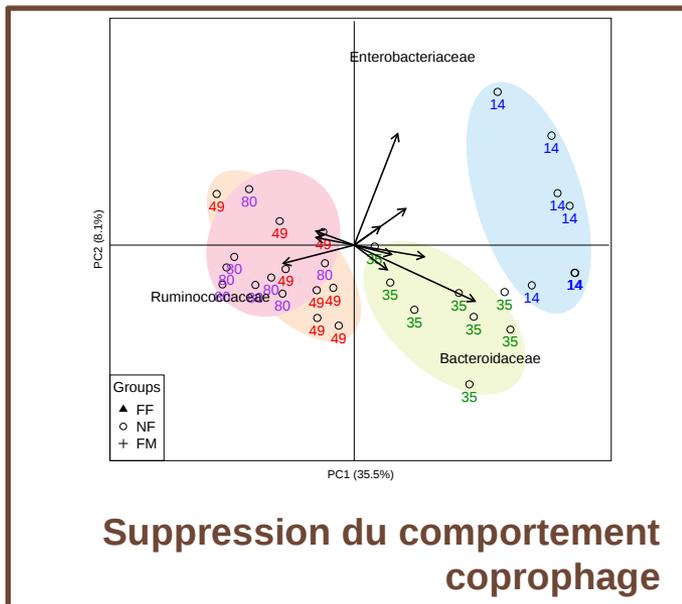
Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pourquoi ?

- Robustesse au sevrage



Immediate environment: coprophagia

- Does this behaviour contribute to mother microbiota transmission ?



80 j

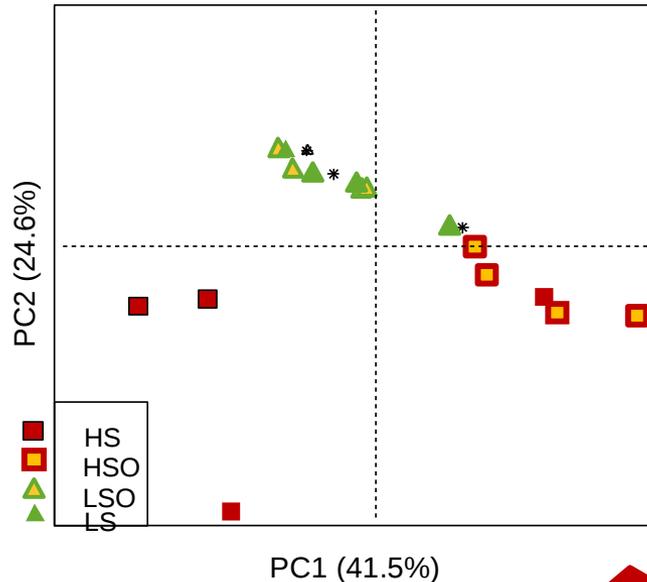
49 j

35 j

14 j

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ pourquoi ?

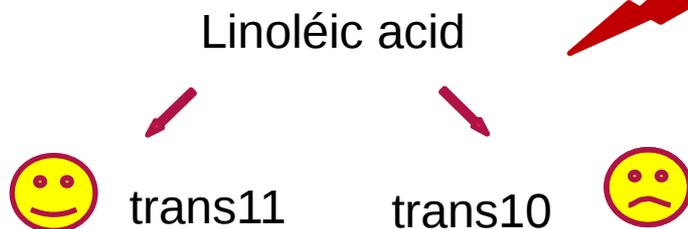
Qualité des lipides du lait



Ruminal biohydrogenation and lipid supplementation



Feed manipulation



We demonstrate that alteration of ecosystem functioning was related to a modification of the composition of microbiota

(Zened et al., 2013 FEMS., 2011 JDS).

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage

1. Pour qui :

- Stratégies digestives et les fermenteurs
- Caecotrophie, coprophagie illustration lapin

2. Pourquoi ?

- Efficacité digestive
- Production de méthane
- Gavage
- Robustesse au sevrage
- Résistance à la colonisation exemple salmonella
- Qualité des produits

3. Comment ?

- Nutrition : fibres, (lipides, prébiotique, probiotique)
- Vaccination
- Broilact
- Transmission mère jeune

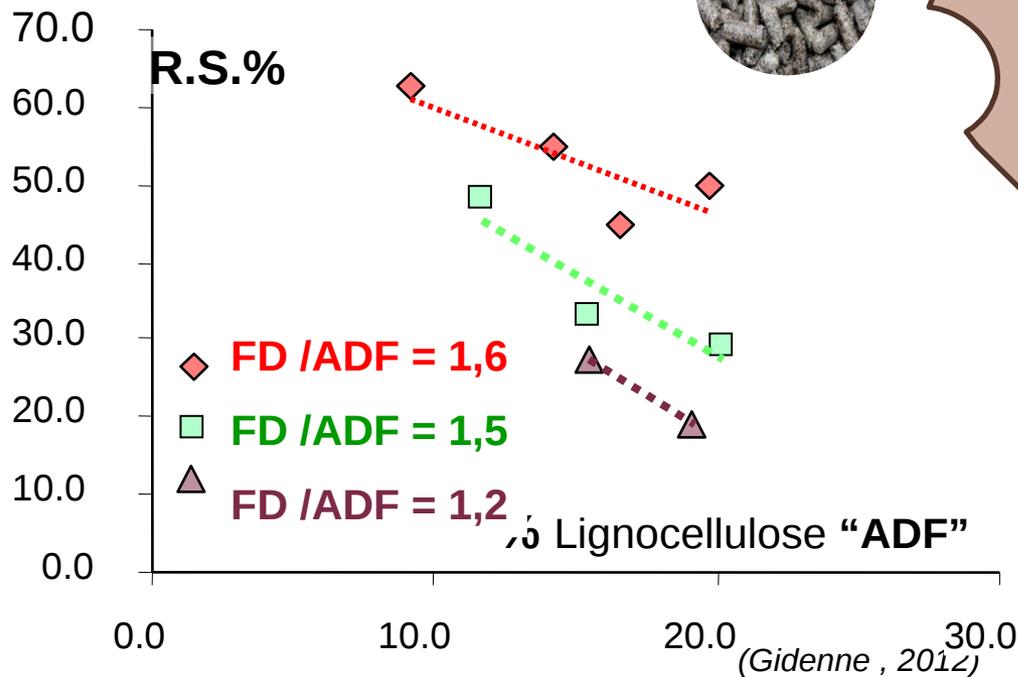
Contrôler le microbiote des animaux d'élevage

- Nutrition

 - Fibres: quantité et qualité



Microbiot
a



FD : Fibres digestibles
Hémicelluloses + Pectines

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ Comment ?

- Vaccination anti-archée méthanogène



Method	How it works	Advantages	
Nitrate additive	Promotes formation of ammonia instead of methane	Highly effective in some experiments	
Plant extract additive	Alters the chemistry of the rumen	Natural	Cost concerns; may affect taste of feed
Increasing concentrates	Substitutes feed that relies less on fermentation	Increases milk production in dairy cows; already available	Can be expensive; environmental cost if transportation needed
Synthetic additive	Blocks enzyme that drives last step of methane formation	In one experiment, methane dropped 30 percent and cows gained weight	Rumen may adapt, reducing effectiveness over time
Vaccine	Antibodies to methanogens	Easy to use	Potential for cows to accumulate hydrogen; effectiveness unknown
Selective breeding	Cows require less feed for same growth	Cumulative and permanent	Changes are slow; may affect other traits, such as health or fertility



Contrôler le microbiote des animaux d'élevage □ Comment ?

- **Broilact**

Competitive exclusion

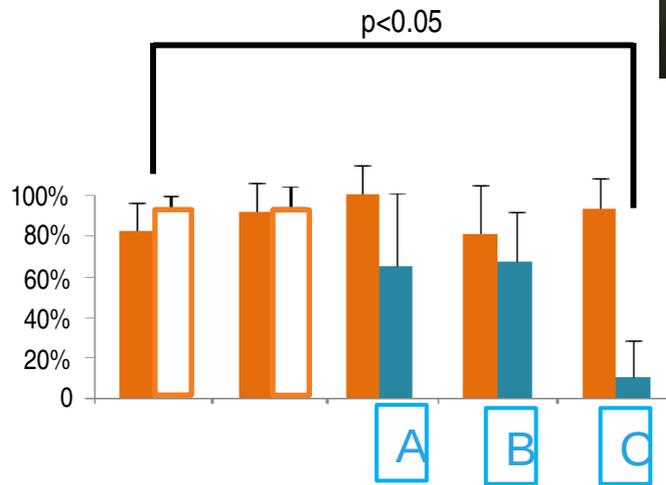
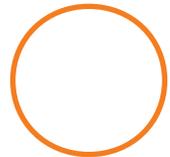
Broilact is a selected competitive-exclusion microflora for poultry. Given once, to day-old chicks, Broilact bacteria colonize the gut permanently and make a lasting contribution to gut health.

Its efficacy has been confirmed in 19 studies published in peer-reviewed journals including Poultry Science, Preventive Veterinary Medicine and Avian Diseases.

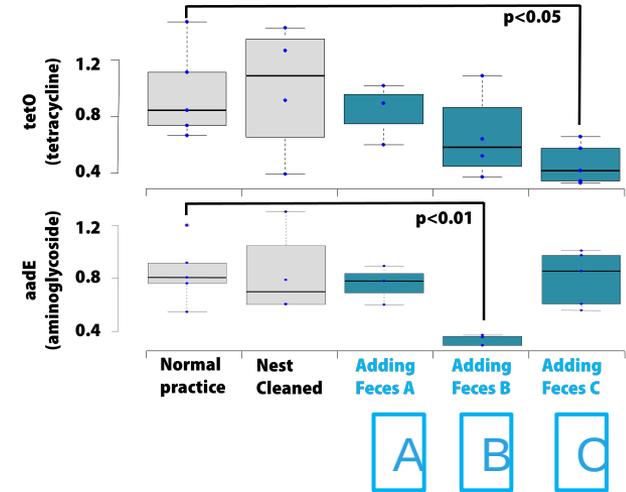
[Please contact us](#) for more information about Broilact



Exclusion compétitive



Tetracycline resistant *Enterobacteria*



(Achard et al., 2016)

Contrôler le microbiote des animaux d'élevage

1. Pour qui :

- Stratégies digestives et les fermenteurs
- Caecotrophie, coprophagie illustration lapin

2. Pourquoi ?

- Efficacité digestive
- Production de méthane
- Gavage
- Robustesse au sevrage
- Résistance à la colonisation exemple salmonella
- Qualité des produits

3. Comment ?

- Nutrition : fibres, (lipides, prébiotique, probiotique)
- Vaccination
- Broilact
- Transmission mère jeune





Méthodologie d'exploration des écosystèmes digestifs

Culture

Amplicon

Métagénomique

Transcriptomique

Protéomique

Métabolomique

Place de la bioinformatique et de la biostatistique

Microbiote dominant

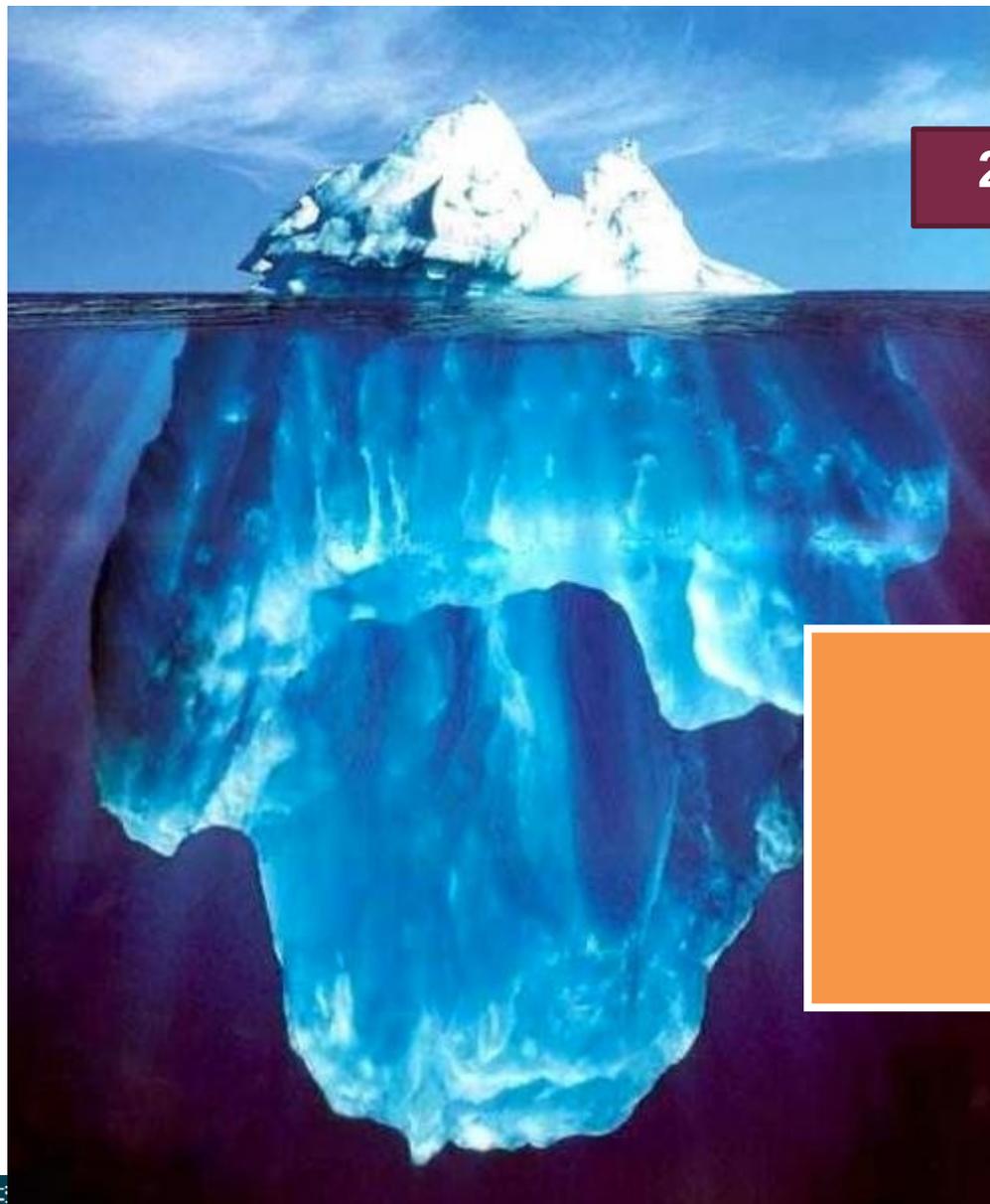


20 to 30%



(Suau et al., 1999)

Microbiote dominant



20 to 40%

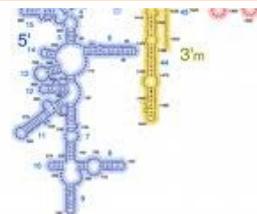


Re-évaluation par
approches moléculaires
indépendantes de la culture

16S

Light
subunit

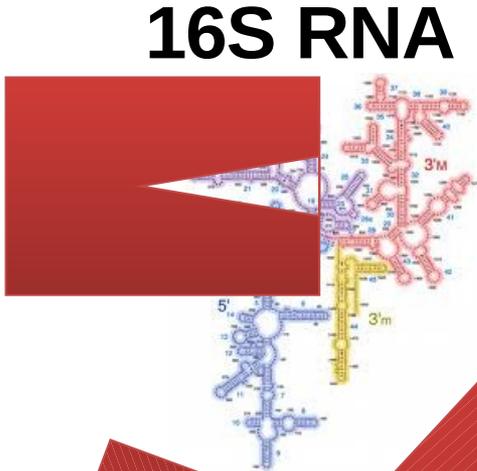
Heavy
subunit



Méthodologie d'exploration des écosystèmes digestifs

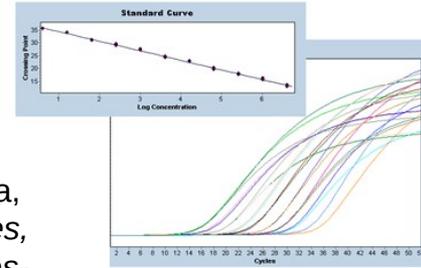
Contenu digestif

extraction



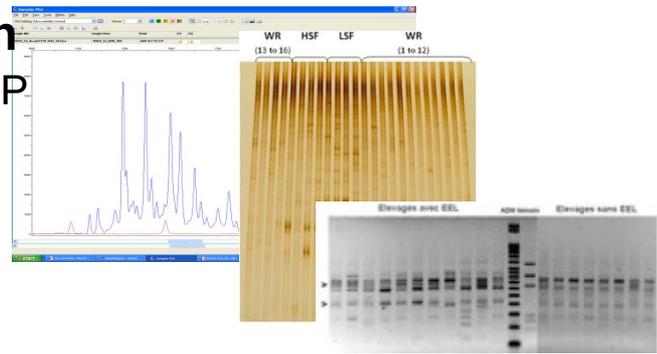
qPCR

Bacteria, Archaea,
Firmicutes,
Bacteroides-
Prevotella



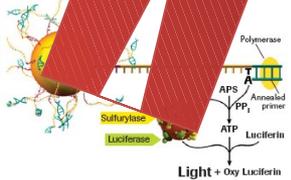
Fingerprint

- CE-SSCP
- DGGE
- RFLP



Pyrosequencing

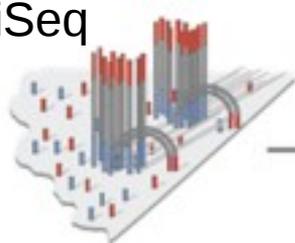
454 GS FLX



Sanger clone-based seq



MiSeq

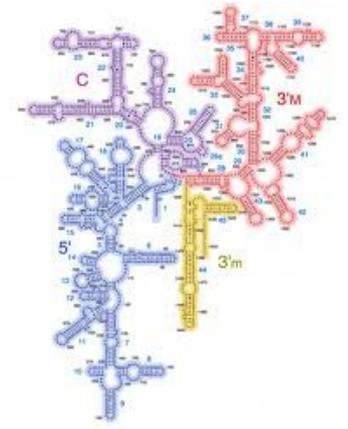




DNA extract from digestive content or feces



paire-end 2x250nt sequencing
V3-V4 rDNA 16S (440 - 460 pb)



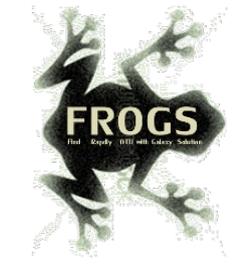
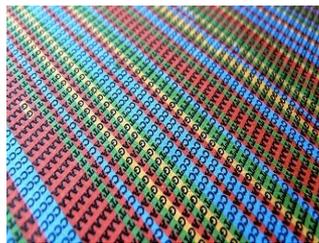
R1 = 250pb



V4

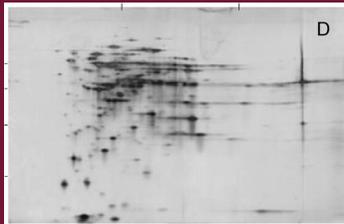


Hypervariable area

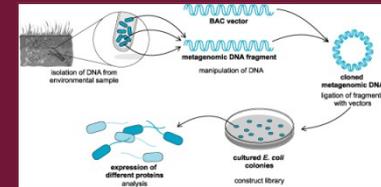


Méthodologie d'exploration des écosystèmes digestifs

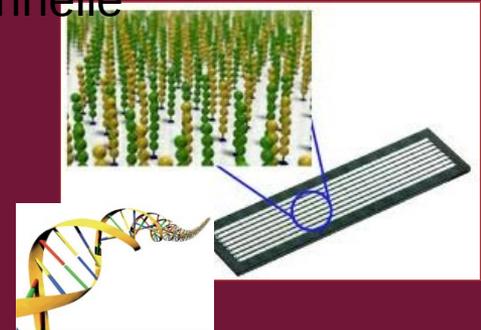
Méta-protéomique



Méta-génomique

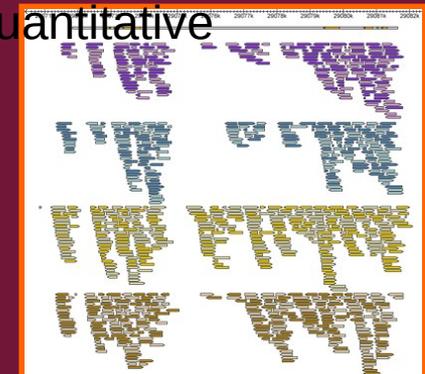


Métagénomique fonctionnelle

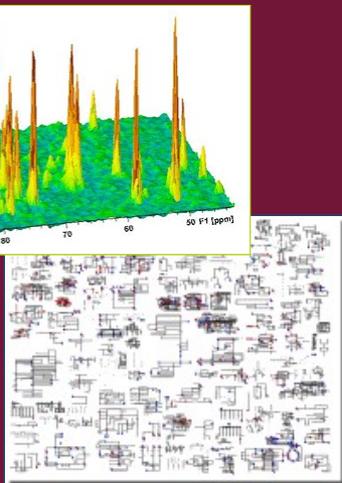


Digestiv
e
conten

Métagénomique quantitative



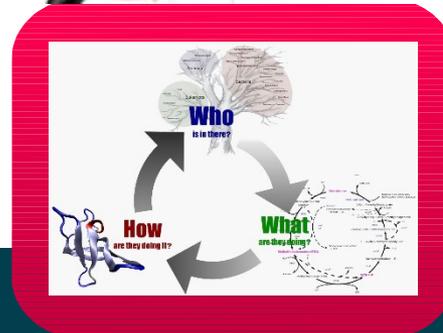
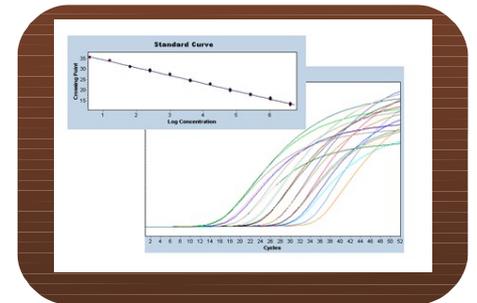
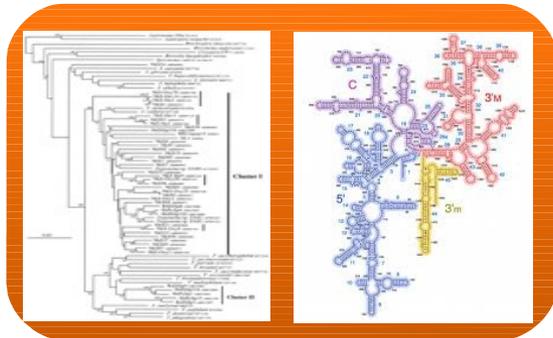
Méta-bolomique



Méta-transcriptomic

4 questions....

|



Digestive ecosystem

Host

Culture and microfluidic



Fermentative profile
CH₄, pH, DM, Ammoniac
FVA

Zootechanical performance and digestibility
feed composition



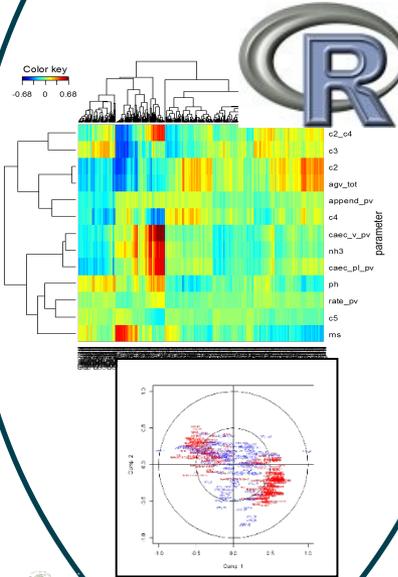
Inoculation



Biohydrogenation C18:2

trans10-C18 :1
trans11-C18 :1

Long fatty acid profile
CPG Spectro de masse

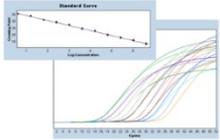


Spectro absorption atomique ZN, CU
RNA extraction



Physiological and histological measurements

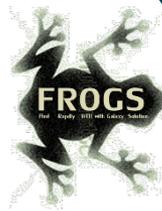
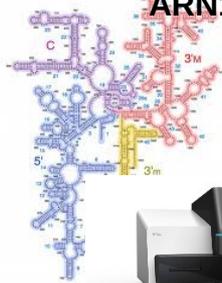
DNA and RNA extraction



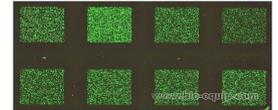
qPCR ARG, bacteria and archae
Fluidigm

High throughput sequencing

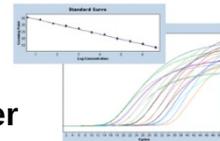
ARN16S metagenomic



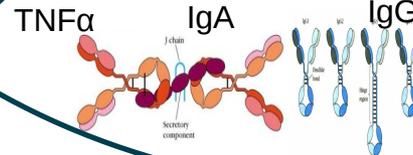
Microarray 8x40K – V2 Agilent
RNAseq
Illumina Hiseq



RTqPCR, Fluidigm cytokins, nutrient transporter



ELISA



LPS stimulation
OVA vaccination



Ce qu'il faut retenir....



Méthodologie d'exploration des écosystèmes digestifs

Culture

Amplicon

Métagénomique

Transcriptomique

Protéomique

Métabolomique

Place de la bioinformatique et de la biostatistique



Applications statistiques : un peu d'R dans l'écosystème digestif

1. **A quoi ressemble une tables d'abondance :**
 - Les variables
 - Les informations
2. **Les indices de diversité**
 - Formules
 - ANOVA
3. **Analyse taxonomique**
4. **Analyses multivariées**



$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

H' : indice de biodiversité de Shannon

i : une espèce du milieu d'étude

Proportion d'une espèce i par rapport au nombre total d'espèces (S) dans le milieu d'étude

$$p(i) = n_i / N$$

- n_i est le nombre d'individus pour l'espèce i
- N est l'effectif total (les individus de toutes les espèces).

$$\lambda = \sum_{i=1}^R p_i^2$$

Merci de votre attention

