

Le microbiote intestinal

Denis Roy, Ph.D. INAF, Université Laval

Atelier de formation – Les probiotiques 101
30 octobre 2013

Plan de présentation

Sous la loupe : microbiote intestinal

- Implantation du microbiote intestinal
- Écologie du microbiote intestinal
- Fonctions du microbiote intestinal

Sous le microscope: le microbiome

- Métagénomique intestinale
- Entérotypes

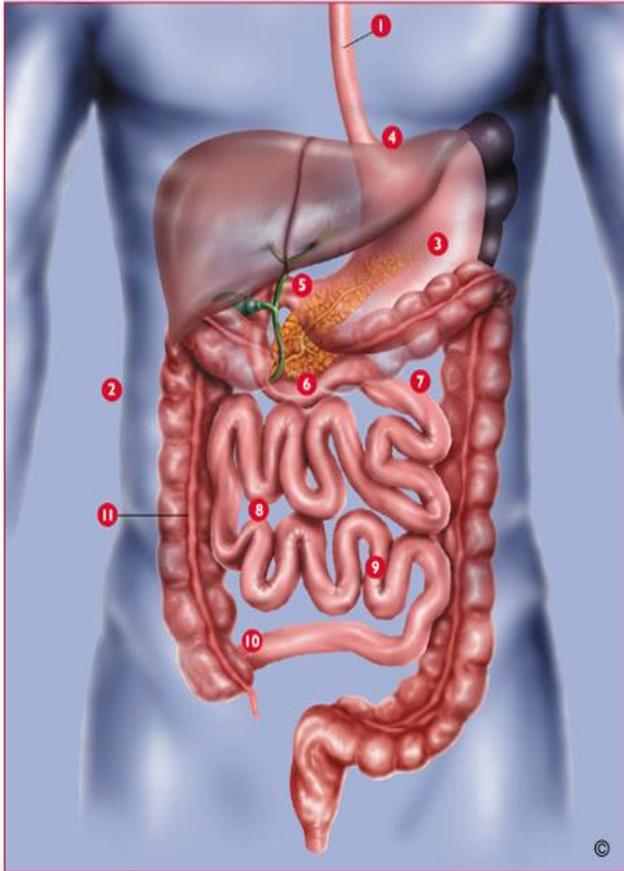
Sous la loupe: microbiote intestinal



Ensemble important de bactéries réparties le long du tractus intestinal et dont la composition globale est variable selon la localisation, les individus, l'âge, les périodes de la vie d'un même individu

Bourlioux, 2013

Le microbiote intestinal humain (microflore intestinale)



De 10,000 – 100,000 milliards de microorganismes; près de 10 fois plus nombreux que nos cellules

Bactéries, Archées, Eukaria (eucaryotes) et virus (phages)

Plus de 1000 espèces différentes (170 par individu)
3 millions de gènes (150 X plus)

Jusqu'à 2 kg

Implantation du microbiote intestinal

Le tube digestif stérile *in utero* est rapidement colonisé dès la naissance

C'est le début de la symbiose « hôte-microbiote »

Au cours du développement de l'hôte, il devient essentiel

Développement du microbiote intestinal

Phase 1

- Premières bactéries germes **anaérobies facultatifs** : streptocoques, entérobactéries et staphylocoques
- Après 48 heures: 10^4 – 10^6 UFC/ml de contenu intestinal

Phase 2

- La concentration des germes **anaérobies stricts** (bifidobactéries) augmente jusqu'à avoisiner 10^9 UFC/ml dans les 10 premiers jours
- Profil bactérien se diversifie avec augmentation en nombre de *Bacteroides spp.* et de Clostridia

Développement du microbiote intestinal

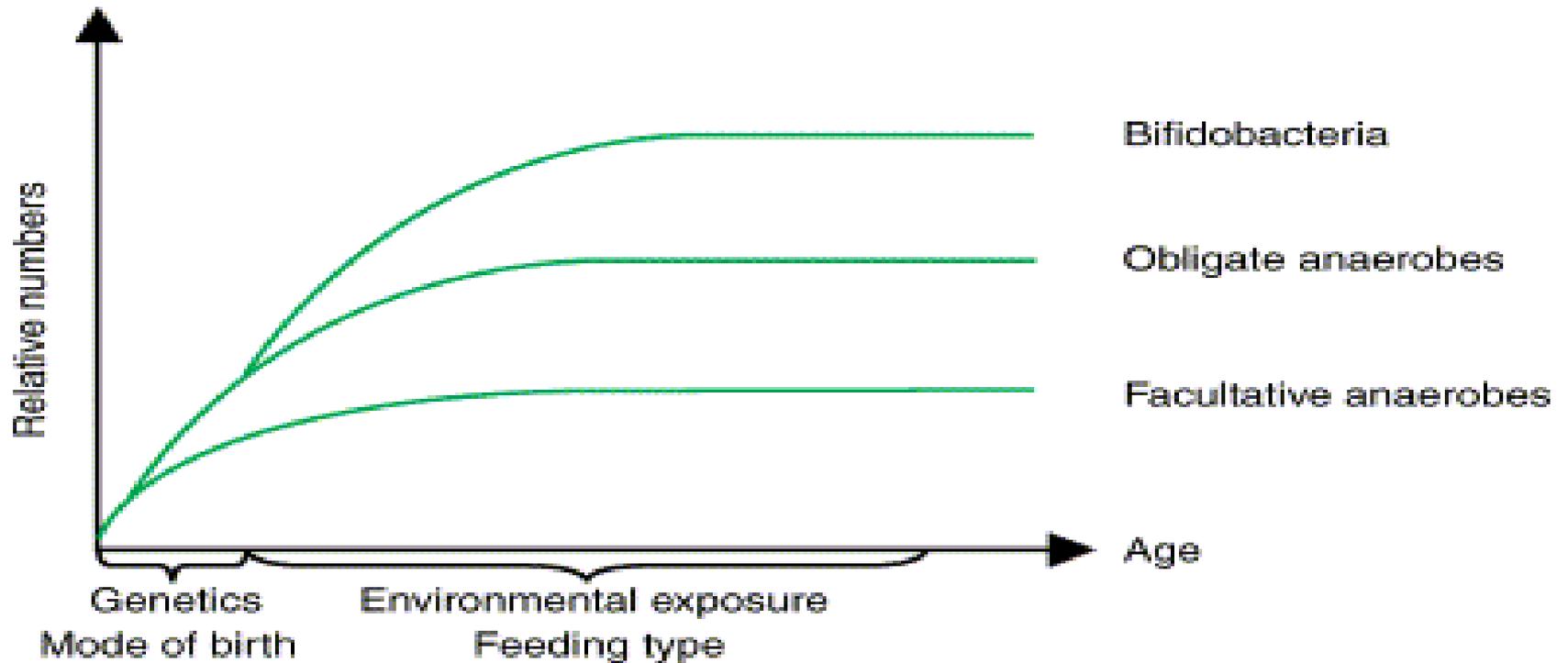
Phase 3

- Début de la diversification alimentaire
- La flore anaérobie stricte plus diversifiée augmente

Phase 4

- À la fin de la première année, la composition du microbiote intestinal se rapproche de celle de l'adulte

La colonisation microbienne

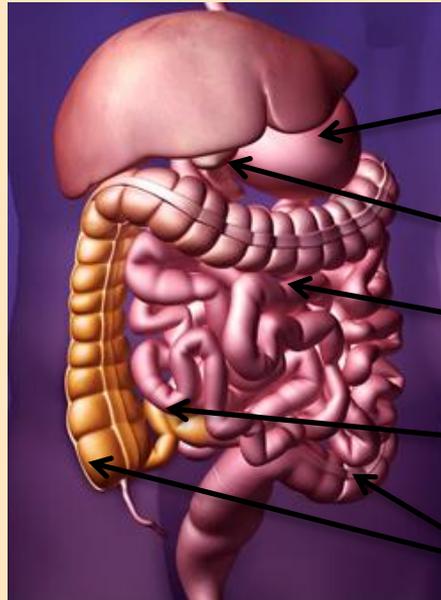


Topographie de la population bactérienne

Aerobes



Anaerobes



Estomac
 $< 10^4 \text{ g}^{-1}$,
pH 1-2

Duodenum
 $10^1 - 10^3 \text{ g}^{-1}$,
pH 6-7

Jejunum
 $10^2 - 10^4 \text{ g}^{-1}$

Ileum
 $10^7 - 10^9 \text{ g}^{-1}$

Colon
 $10^{11} - 10^{12} \text{ g}^{-1}$
pH 5-7

Digestion
et
sécrétion
acide

Petit
intestin

Gros
intestin

Challenge
acide

site de
contact:
enzymes et
sels biliaires

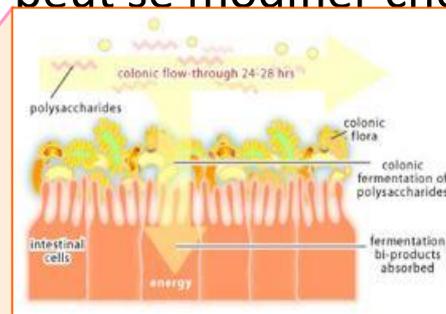
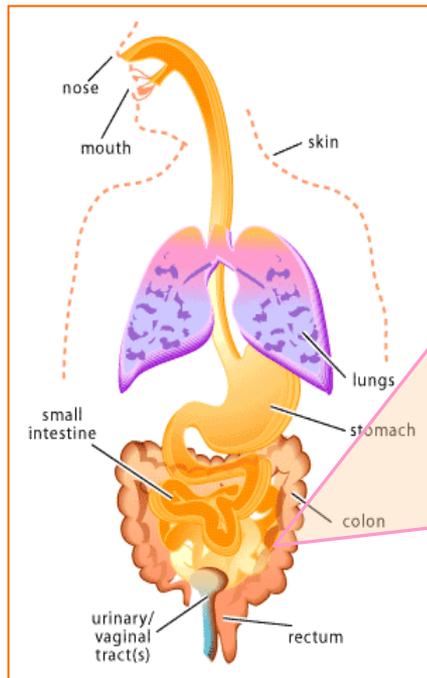
Plaques de
Peyer:
immunité

Bioréacteur
Activités
métaboliques,
AGCC

Points clés

Le microbiote intestinal

- se compose d'un consortium bactérien qui s'adapte à l'hôte
- varie d'une personne à une autre
- reste stable au cours du temps et donc résiste aux changements.
- peut se modifier chez les personnes très âgées



Écologie du microbiote intestinal

bactéries symbiotiques

- exercent des fonctions bénéfiques pour la santé de l'hôte

bactéries commensales

- bactéries résidentes n'ayant aucun effet sur l'évolution de l'hôte

bactéries opportunistes

- résident de façon permanente dans l'écosystème bactérien mais qui, en fonction de l'environnement peuvent s'avérer pathogènes pour l'hôte

Les bactéries endogènes

Endogène ou «autochtone» composé de populations bactériennes qui sont toujours présentes dans le tractus intestinal de chaque individu



L'ensemble des espèces présentes de façon constante dans l'écosystème intestinal et capables de s'y multiplier sans entraîner de manifestations pathologiques chez l'hôte



Elles se développent et se maintiennent comme des membres d'une population bactérienne particulière à un individu

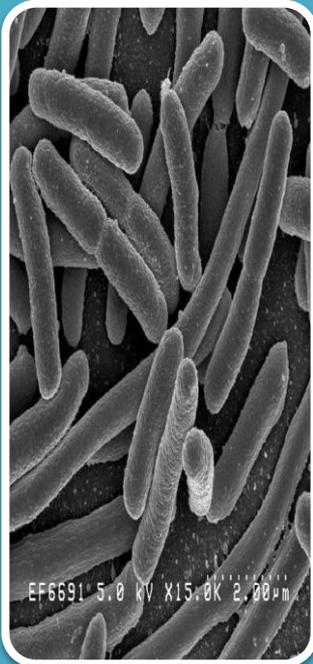
Les bactéries exogènes

Exogène ou «allochtone» peu susceptibles de devenir des populations normales de l'écosystème intestinal et affecteront l'environnement intestinal de manière différente des souches autochtones.

La majorité des pathogènes qui sont acquis accidentellement et qui donnent des maladies

Les souches probiotiques qui transitent sont désignées sous le nom d'allochtone au tractus intestinal

Le microbiote endogène



Fonctions principales

- Développement du système immunitaire intestinal
- Résistance à la colonisation
- Digestion des nutriments

Systeme immunitaire intestinal (SII)

Développer une tolérance induite par voie orale

empêcher le développement de réponses immunitaires contre les protéines alimentaires et le microbiote intestinal présents en permanence dans le tube digestif.

Développer des réponses immunitaires protectrices contre les agents pathogènes envahissants par la synthèse d'anticorps IgA

Ces anticorps peuvent bloquer la translocation bactérienne, neutraliser les toxines et inhiber la multiplication virale.

Homéostasie intestinale

Balance entre les différents groupes bactériens, le tissu épithélial et le système immunitaire

Un facteur clé pour la santé de l'hôte

Chez une personne en santé

- La diversité et la composition du microbiote agit en stimulant les systèmes immunitaires innés et acquis pour maintenir l'homéostasie intestinale

Résistance à la colonisation

Défense contre la colonisation par les micro-organismes ingérés par voie orale

« effet de barrière » exercé par la flore résidente vis-à-vis des bactéries exogènes

- par élimination totale de la souche exogène (effet drastique)
- par maintien de la souche exogène en sous-dominance (effet permissif)

Fonctions métaboliques

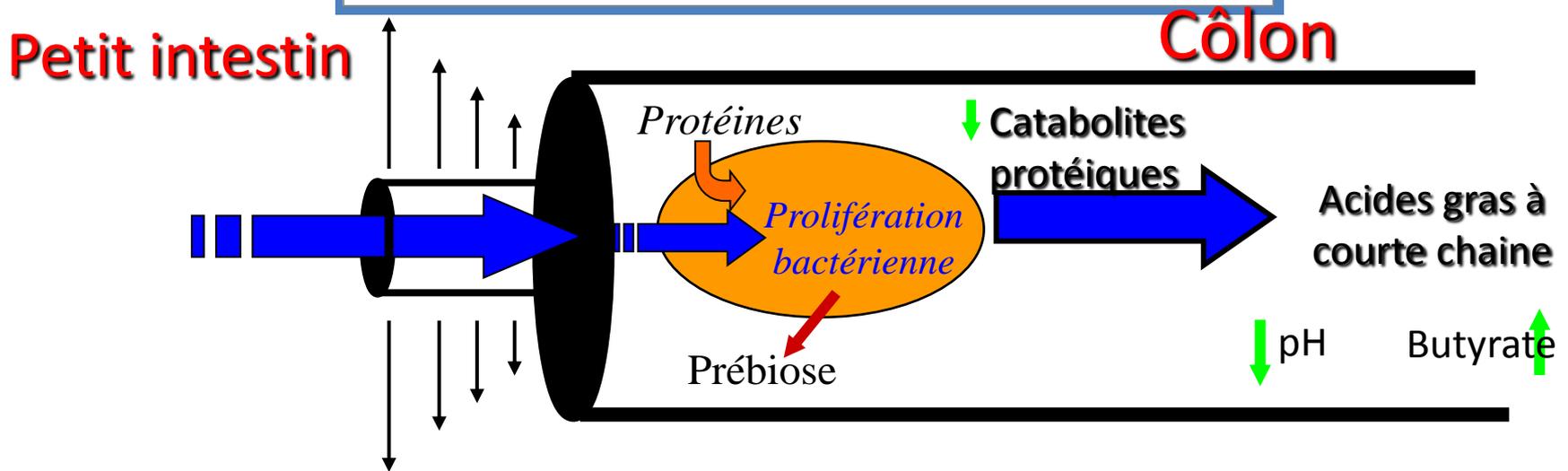
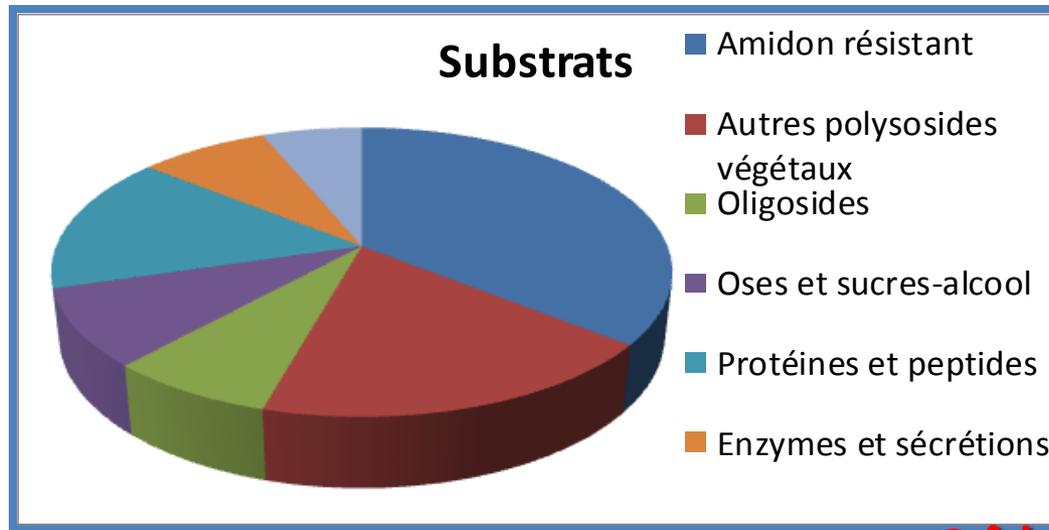
Nombreuses et diversifiées

- Répercussions sur la santé de l'hôte
- Métabolites produits sont majoritairement absorbés et métabolisés dans l'organisme

Fermentation des fibres

- Acides gras à courte chaîne (acétate, propionate et butyrate) et gaz (H_2 , CO_2 , CH_4)

Aliments – Cocktail complexe de substrats



Production d'acides gras à courte chaîne

Acétate

- Important pour le coeur, les muscles et le cerveau
- *Bacteroides, Bifidobacterium, Eubacterium, Lactobacillus, Clostridium, Ruminococcus, Propionibacterium, Veillonella...*

Propionate

- Utilisé principalement par le foie
- *Bacteroides, Propionibacterium, Veillonella*

Butyrate

- Source principale d'énergie pour les colonocytes
- *Clostridium, Eubacterium, Butyrivibrio, Peptostreptococcus, Faecalibacterium, Roseburia, Anaerostipes*

Sous le microscope: microbiome



Étude de la
composition du
pool génique total
du microbiote
intestinal

Métagénomique intestinale

- Embranchement (Phylum)

- Classe (Classis)

- Ordre (Ordo)

- Famille (Familia)

- » Genre (Genus)

- espèce (species)



Un grand nombre des séquences microbiennes correspond à des espèces non-cultivées ou à de nouveaux micro-organismes.

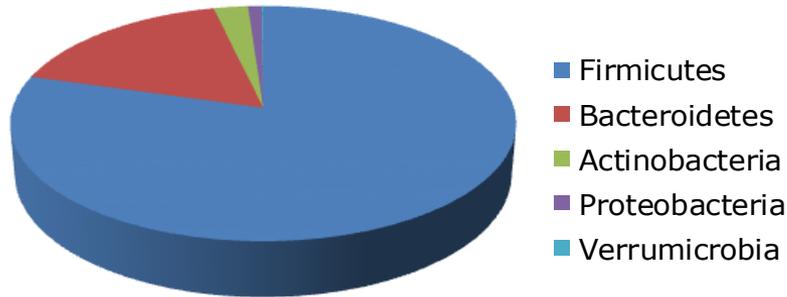
Très grande variabilité inter-sujet.

La caractérisation de l'immense diversité de cet écosystème est la première étape afin d'élucider son rôle sur la santé et la maladie.



40 X

Phylum



Distribution phylogénétique du microbiote intestinal humain

Trois grands phyla: Firmicutes, Bacteroidetes et Actinobacteria

Verrucomicrobia: *Akkermansia muciniphila*

Un total de 10 456 séquences bactériennes non-chimériques d'ARNr 16S

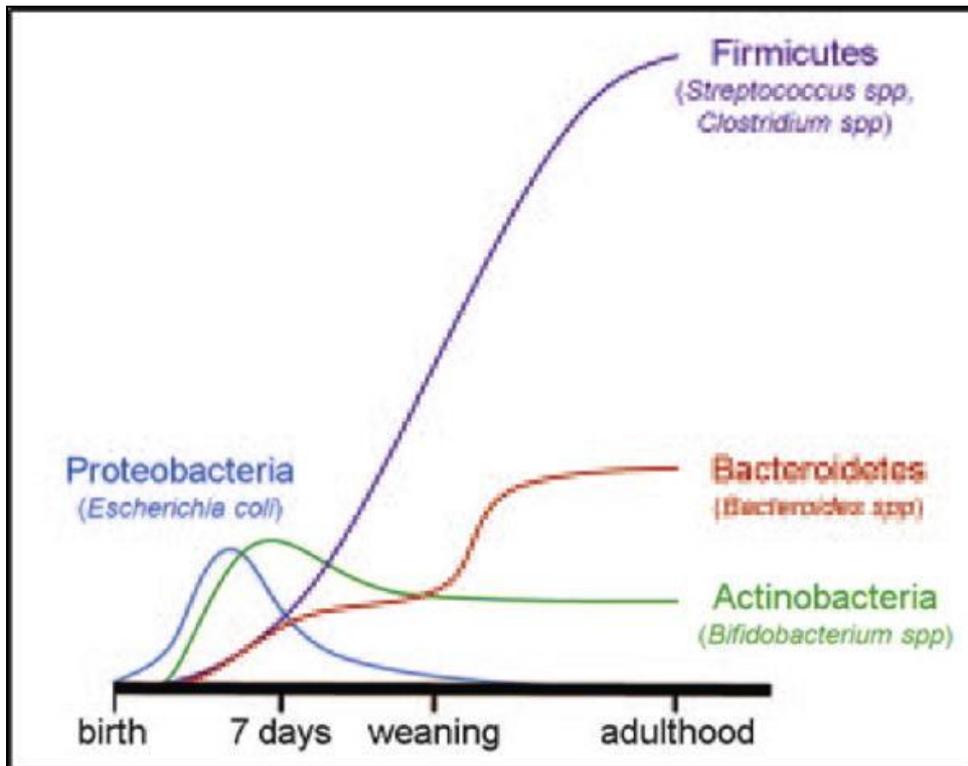
17 échantillons d'ADN humain fécal.

- 3180 unités taxonomiques opérationnelles (OTU)
- 2,1% des OTUs étaient présents dans plus de 50% des échantillons et ont représenté 35,8% des séquences totales

Références:

- Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, et al. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104:13780-13785.
- Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 2005; 308:1635-1638.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. Nature 2006; 444:1022-1023.
- Tap et al., 2009. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. Environ Microbiol 11, 2574-2584

Modèle de colonisation du tractus intestinal



Des anaérobies facultatifs dominent le microbiote initial après la naissance

Après le sevrage, le microbiote se développe en une communauté stable dominée par des bactéries appartenant aux divisions Firmicutes, Bacteroidetes et Actinobacteria

Reinhardt et al. 2009. Intestinal Microbiota During Infancy and Its Implications for Obesity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 48(3):249-256.



100 X

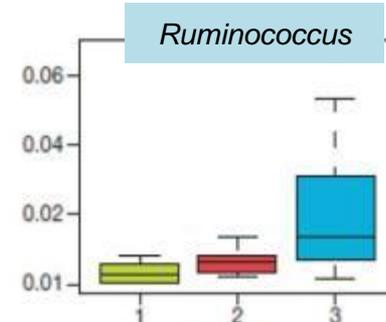
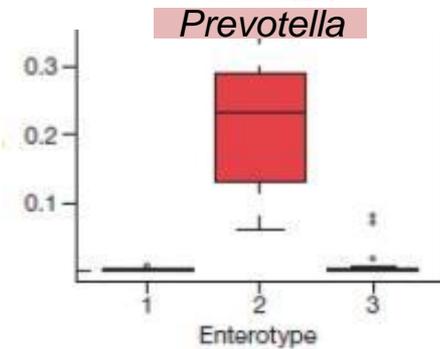
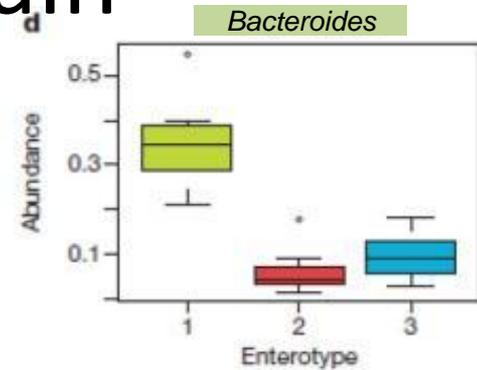
Entérotype du microbiome humain

Aucun des facteurs comme l'âge, le genre, la nationalité ou l'état de santé n'a joué un rôle essentiel dans la définition de ces entérotypes.

Entérotype 1 : *Bacteroides*,
production de vitamines: B7 (biotine), B2 (riboflavine) et C (acide ascorbique)

Entérotype 2: *Prevotella*,
production de la vitamine B1 (thiamine) et de l'acide folique.

Entérotype 3 : *Ruminococcus*, le plus fréquent, décomposition des mucines

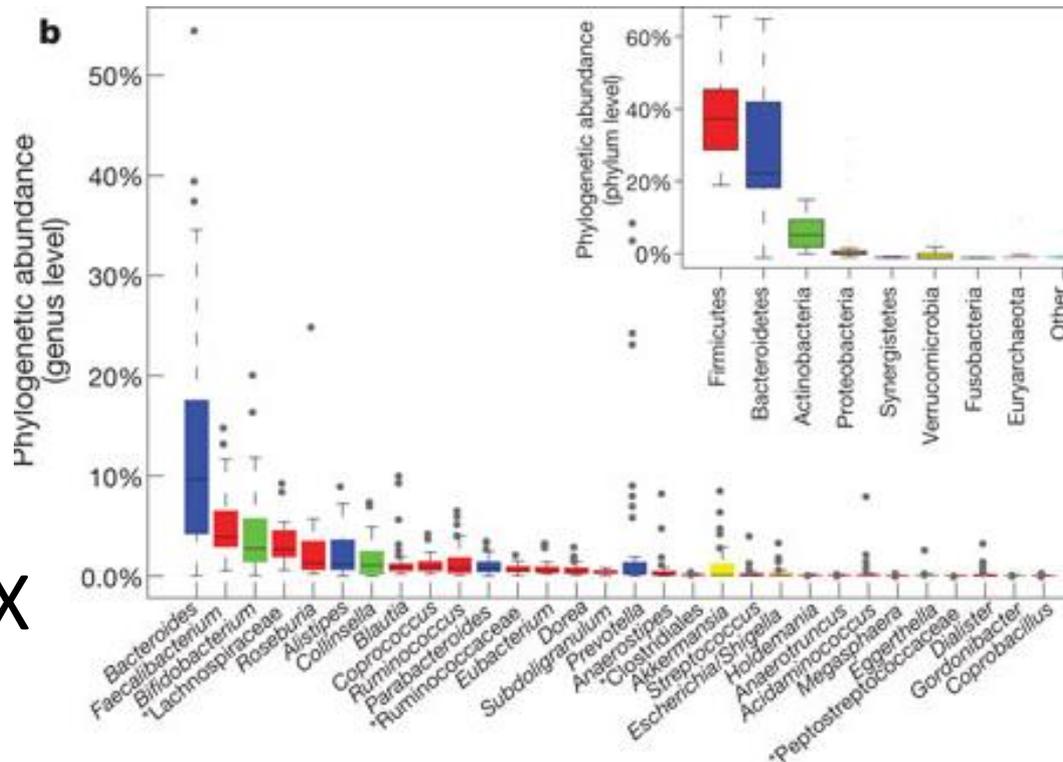


Firmicutes : **Faecalibacterium**, Lachnospiraceae et *Roseburia*

Bacteroidetes : **Bacteroides**, *Prevotella* et *Alistipes*

Actinobacteria : **Bifidobacterium** et *Collinsella*

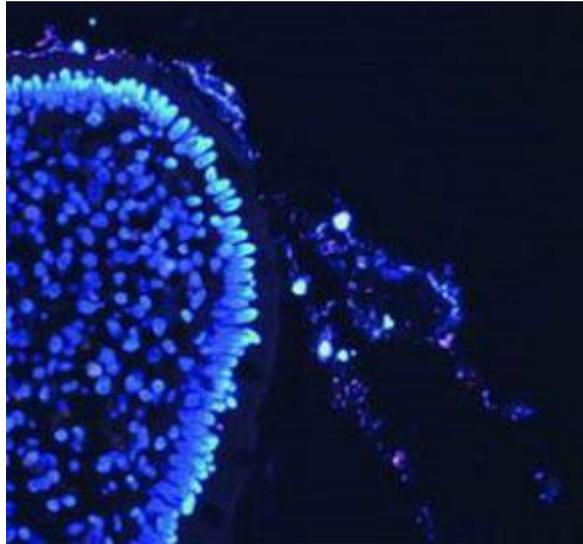
Genres les plus abondants : *Bacteroides*, *Faecalibacterium* et *Bifidobacterium*



400 X



Faecalibacterium prausnitzii



Bacille Gram positif, anaérobie strict à bas GC faisant partie du groupe *Clostridium leptum*, bactérie commensale productrice de butyrate isolée du microbiote humain. (5%)

Association entre une diminution de *Faecalibacterium prausnitzii*, bactérie majeure du phylum Firmicutes, et un haut risque de récurrence postopératoire de Maladie de Crohn iléale.

Effets anti inflammatoires à la fois *in vitro* et *in vivo*

Perspectives:

administration de *F. prausnitzii* sous forme de probiotiques

isolement et l'administration du composé actif anti-inflammatoire produit par *F. prausnitzii*.

Akkermansia muciniphila



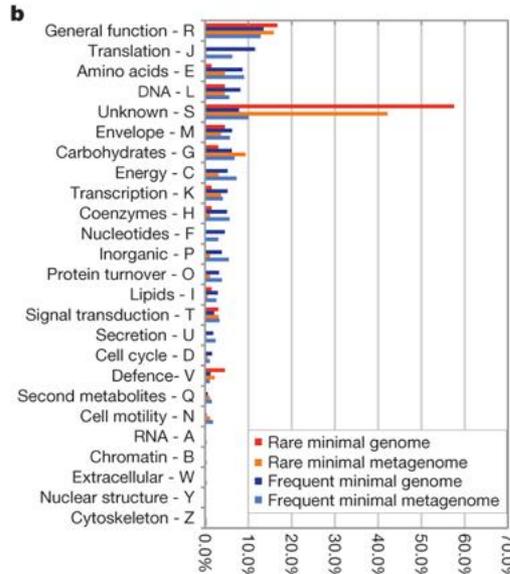
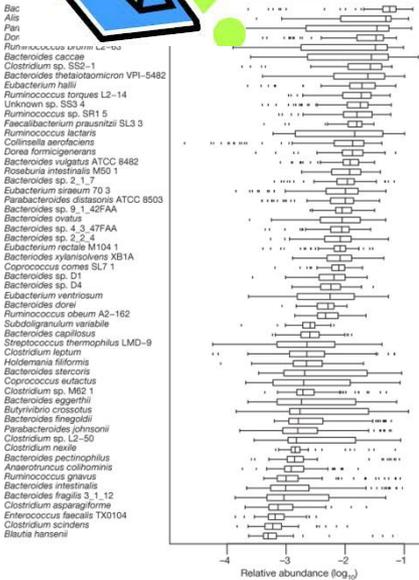
Gram-négatif, espèce du phylum Verrucomicrobia, résident anaérobie

isolé du tube digestif humain basé sur sa capacité pour utiliser efficacement la mucine comme une source d'azote et de carbone

Colonise une partie substantielle de la population humaine, commençant à la petite enfance et atteint 3% ($\sim 1 \times 10^9$) à l'âge adulte

Inversement lié à la sévérité des appendicites et présent en proportions inférieures chez les patients avec des maladies inflammatoire chroniques de l'intestin

1000 X

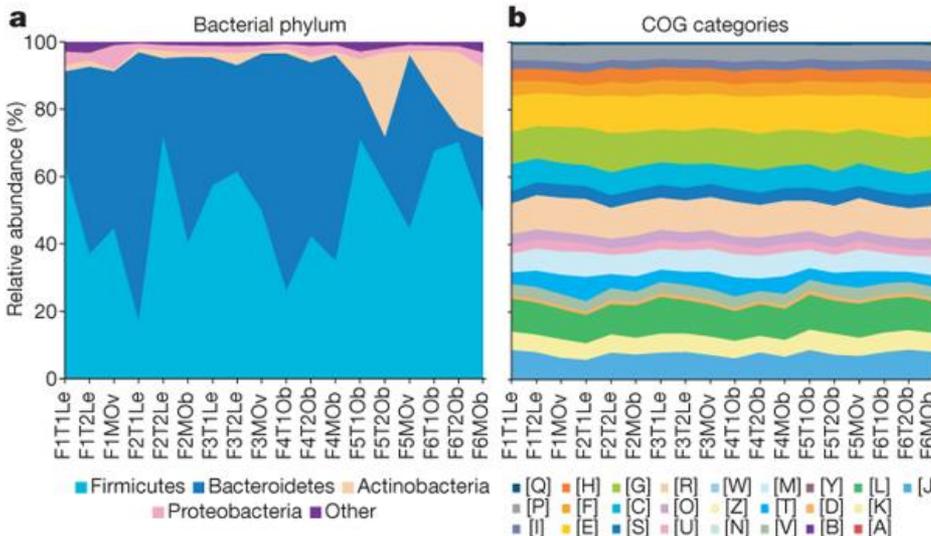


75 espèces communes à >50% individus ;
57 espèces communes à >90%. =
microbiome humain est de taille finie et non excessive

Fonctions, conservées dans chaque individu, codées par de nombreuses espèces nécessaires pour **interaction hôte-bactérie** :

- dégradation des polysaccharides complexes,
- synthèse des acides gras à chaîne courte, des acides aminés et des vitamines essentiels.

Turnbaugh *et al*: A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature 2009, 457(7228):480-U487.

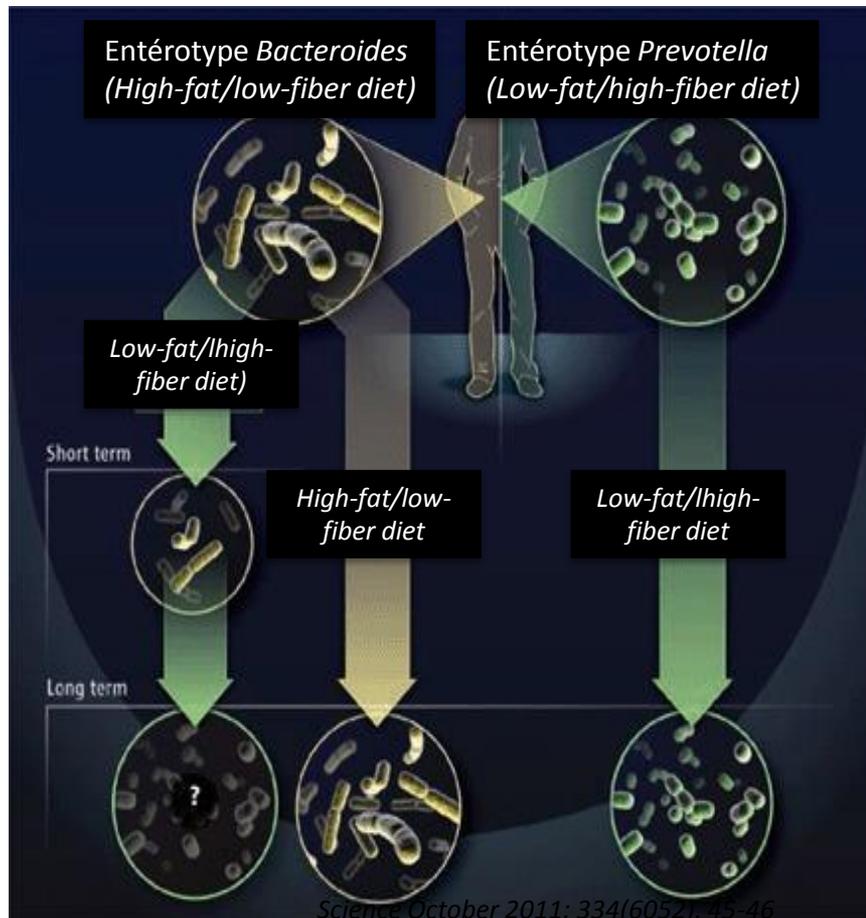


Chaque individu est comme une « île » habitée par des **ensembles uniques** de phylotypes microbiens et comme pour une île, l'assemblage de différentes espèces convergent vers des **fonctions essentielles communes** fournies par des éléments distinctifs

Vous êtes ce que vous mangez

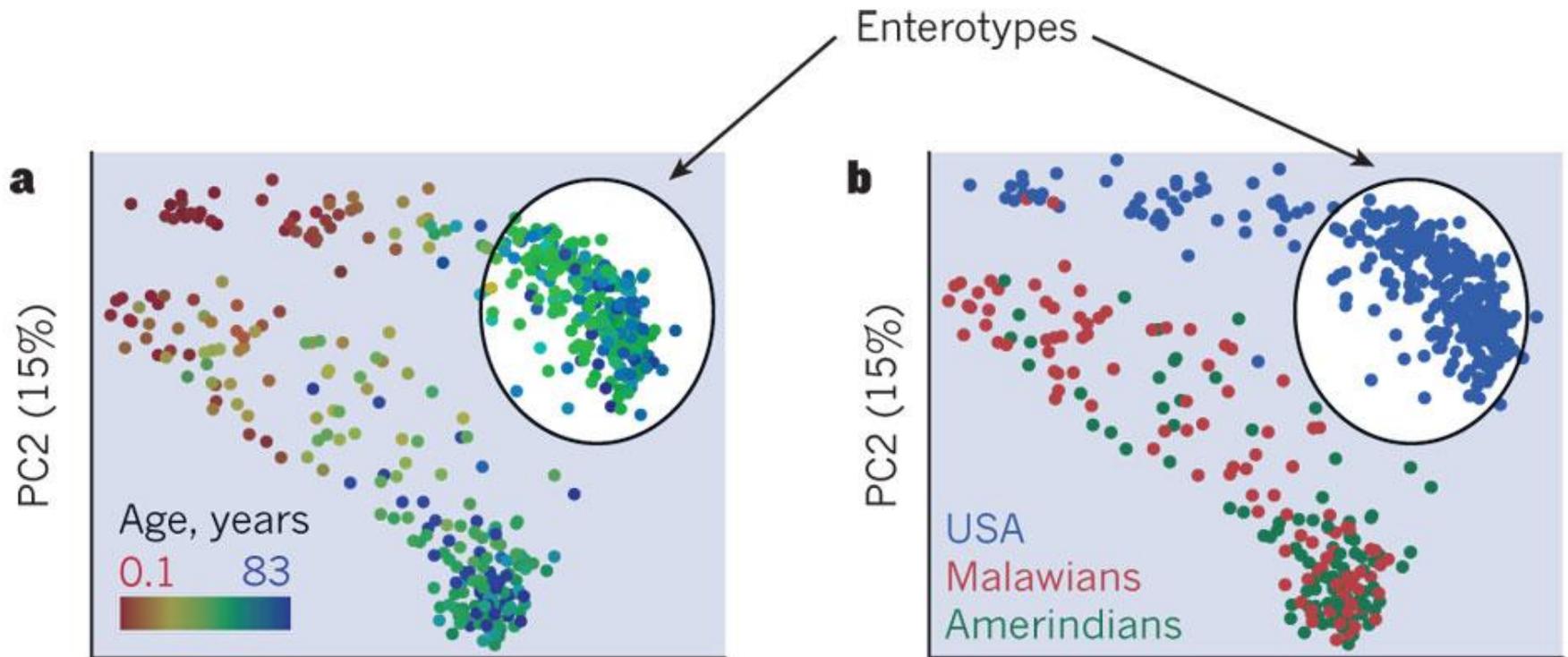


Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes
Gary D. Wu *et al.*
Science 334, 105 (2011);
DOI: 10.1126/science.1208344



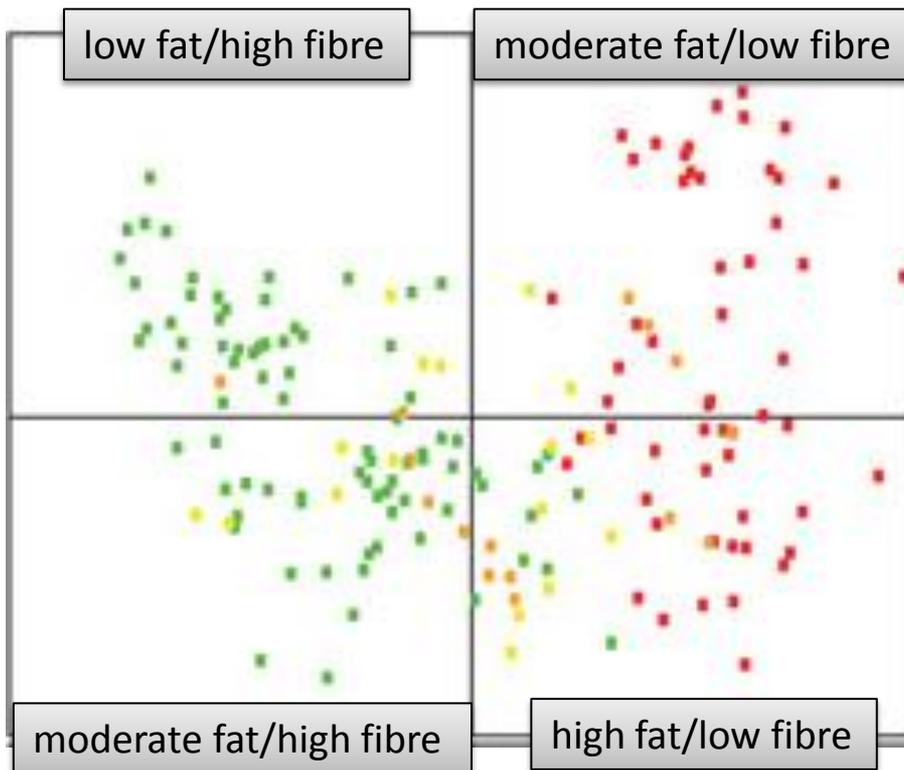
- Communauté dominée par: *Bacteroides* – protéines animales et gras saturés
- *Ruminococcus* – consommation d'alcool et gras polyinsaturé
- *Prevotella* – régime à base de glucides

Diversité microbienne humaine et entérotypes



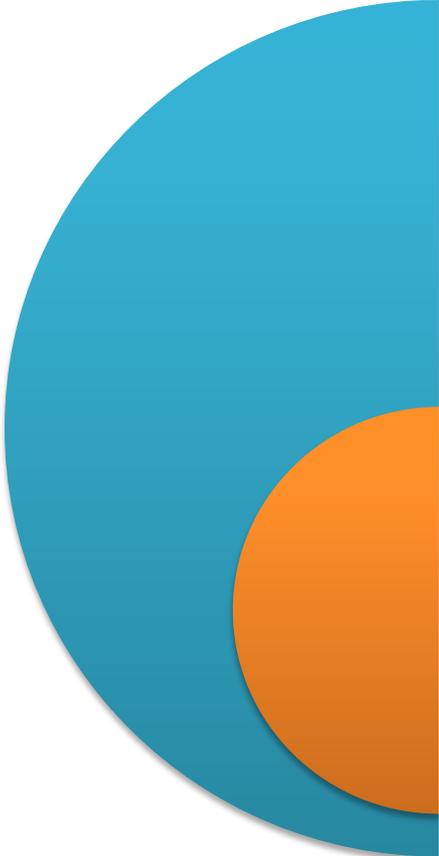
Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly

178 subjects, (1) **community** $n = 83$; (2) **day hospital**, $n = 20$; (3) in short-term (<6 weeks) **rehabilitation hospital care**, $n = 15$; (4) in **long-term residential care** (long-stay), $n = 60$.



Collectively, the data support a relationship between diet, microbiota and health status, and indicate a role for diet-driven microbiota alterations in varying rates of health decline upon ageing

Adaptation du microbiote



L'alimentation a un rôle dominant sur l'origine ethnique, la salubrité, l'hygiène, la géographie et le climat, dans l'élaboration du microbiote intestinal.

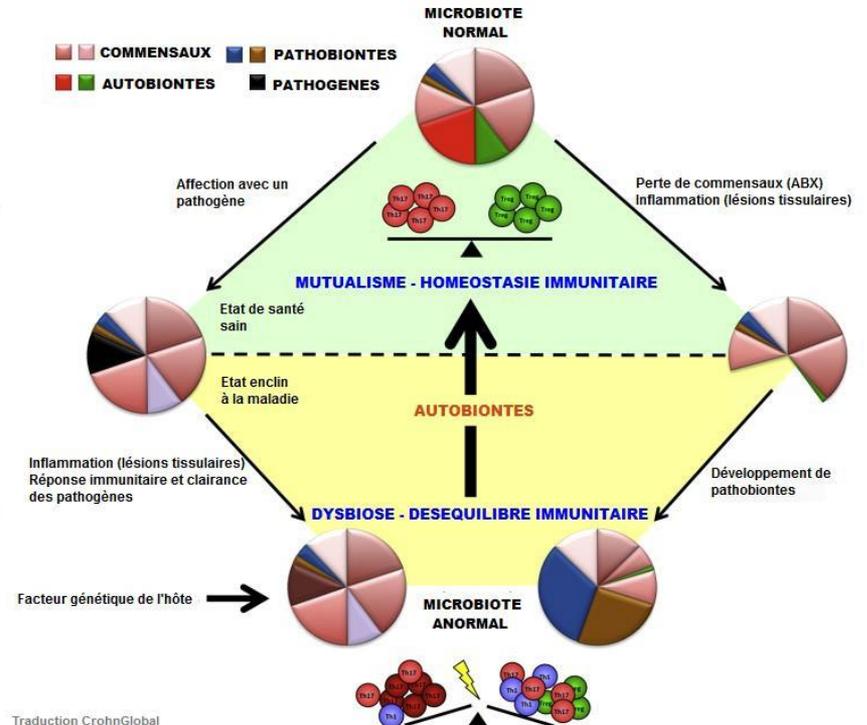
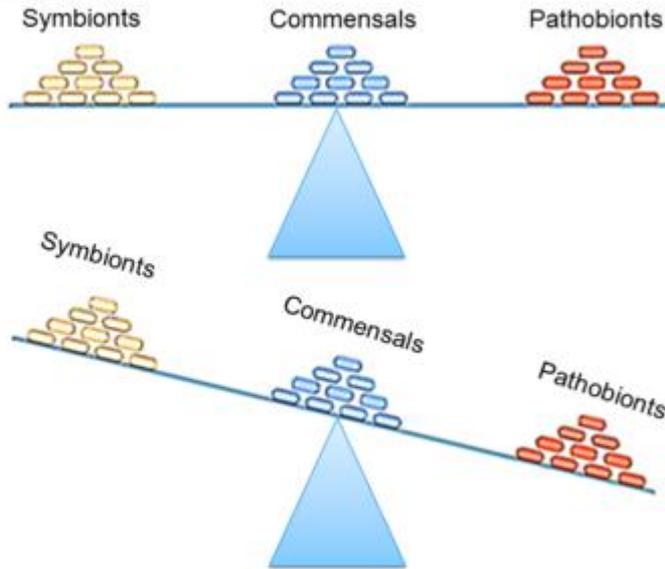
La consommation de sucres, de graisses animales et d'aliments riches en calories dans les pays industrialisés limite le potentiel d'adaptation du microbiote.

Dysbiose

Déséquilibre qualitatif et/ou quantitatif du microbiote intestinal – en opposition à eubiose

Dysbiosis Defined

An alteration in the microbiome caused by a change in the composition of the microbiota, a change in microbial metabolic activity, and/or a shift in local distribution of communities of microbes.



Round JL, Mazmanian SK. [The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease](#). Nat Rev Immunol. 2009 May;9(5):313-23.

Traduction CrohnGlobal

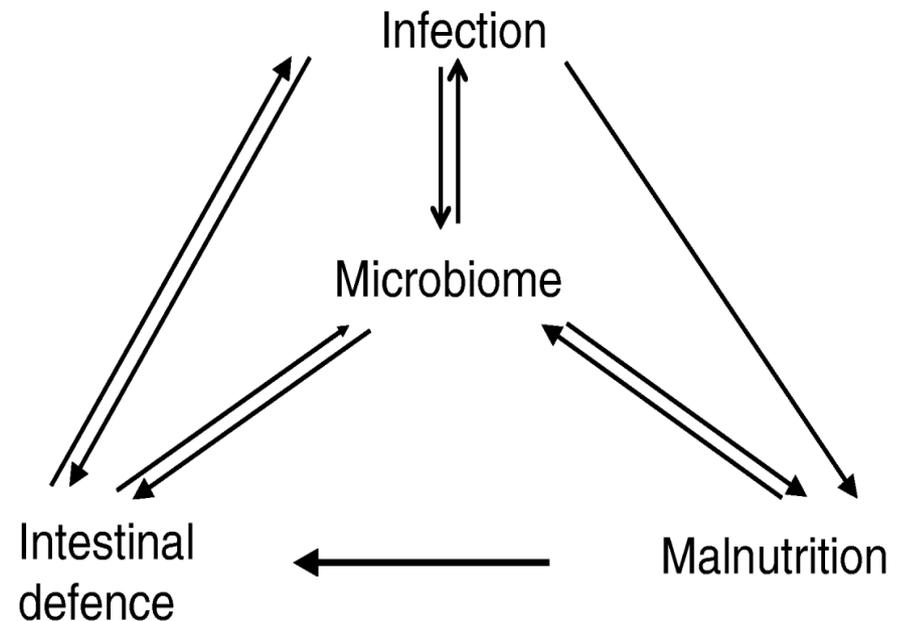
Ivanov, I., Honda, K. 2012. Intestinal commensal microbes as immune modulators. Cell host & microbe 12, 496-508.

Microbiome humain – points clés

Ensemble des microorganismes et de leur génomes colonisant l'organisme et de leurs interactions

Pool des gènes du microbiote intestinal : Nombre de gènes est + de 150 X celui du génome humain.

- Organe métabolique
- Modulateur de la réponse immunitaire
- Interactions



Kelly, P. Symposium 4: Gut function: effects on over- and undernutrition Nutrition, intestinal defence and the microbiome. Proc Nutr Soc, 1-8.

Le microbiome humain



Role et influence sur la santé humaine est en cours d'investigation

Lien entre les variations du microbiome intestinal, l'inflammation et les désordres métaboliques?(résistance à l'insuline, diabète de type 2, dislipidémie, hypertension)?

Les désordres métaboliques : associées à une inflammation de faible intensité : caractérisée par une augmentation de la production de cytokines et une infiltration des macrophages?



denis.roy@inaf.ulaval.ca