ANNEXE

BIODIVERSITE MICROBIENNE, MICROBIOME, MICROBIOTE
ou
des microbes là où on ne les attendait pas

Rappel

.Chez l'homme, chaque population de microbes formant en quelque sorte une communauté s'appelle désormais le microbiote humain, autrefois dénommée « flore bactérienne », et l'ensemble des gènes que possèdent ces microbes est intitulé le microbiome

.Ces microbes formant le **«** microbiome humain **»** vivent à la surface et dans les profondeurs de nombreuses parties de notre corps. On estime que le nombre de cellules microbiennes dépasse celui des cellules hôtes par un facteur d'au moins 10 et qu'elles codent environ 100 fois plus d'information génétique que le génome humain

Microbiote et microbiome intestinal

- Le microbiote intestinal humain comporte jusqu'à 10^{14} bactéries ,soit 10 fois le nombre de cellules somatiques et germinales qui nous composent, un pool de gènes 150 fois supérieur au génome humain, environ 1000 espèces, une activité métabolique égale à celle du foie.
- Nous connaissons certainement mieux les effets pathogènes de bon nombre de bactéries que le rôle de millions d'autres commensales dans la physiologie de notre organisme, même si nous savons déjà que les microbes intestinaux contribuent à la digestion de la nourriture et à la synthèse de vitamines et qu' ils nous protègent, en éduquant le système immunitaire
- Il reste que la découverte de nouvelles bactéries, leur abondance insoupçonnée et leur biodiversité vont certainement bouleverser nos concepts sur le monde vivant en général.
- Deux familles, les Bacteroïdetes et les Firmicutes, représentent l'immense majorité des bactérie, soit plus de 90 % de notre flore intestinale.
- Les Firmicutes comportent plus de 250 genres dont les lactobacilles, les streptocoques, les staphylocoques,les entérocoques, les bacillus, les listeria et les clostridium.
- Les Bacteroïdetes, (genre **Bacteroides)** dont il existe une vingtaine de genres différents, sont largement diffusées dans l'environnement, notamment le sol, les sédiments, l'eau de mer et les intestins d'animaux. Elles abondent dans les selles des animaux à sang chaud dont les humains

Pathologies associées au microbiote intestinal

Obésité et microbiote intestinal

Des travaux récents ont suggéré que notre microbiote intestinal constituait un autre facteur contribuant aux différences pondérales entre les individus.

Expérimentation animale

En comparant les flores intestinales de **souris obèses** et de leurs congénères maigres et celles de sujets obèses et minces, les différences pondérales étaient associées à des modifications quantitatives des deux groupes bactériens qui dominent notre flore intestinale : les ***Bactéroïdes et les Firmicutes***.

Des études ont été effectués en comparant les séquences d'ARN ribosomal 16s de la flore intestinale distale (cæcale) de souris obèses homozygotes pour la mutation du **gène de la leptine** (Lep ob/ob), ***responsable de l'obésité***, à celles de souris congéniques non obèses (ob/+) ou (+/+).

- Chez tous les animaux, les deux groupes bactériens majoritaires de la flore cæcale étaient les ***Bactéroïdes et les Firmicutes***, composant ***plus de 90*** % de tous les types phylogénétiques.
- Cependant, chez les **souris ob/ob**, les auteurs notaient une ***diminution de 50 %*** de la concentration de ***Bactéroïde***s associée à une **augmentatio**n proportionnelle des ***Firmicutes,*** ces différences étant indépendantes du type d'alimentation.
- Des transferts passifs de flore intestinale recueillie du cæcum de souris donneuses obèses (ob/ob) ou minces (+/+) à des souris *germ-free* ont montré que la flore provenant des souris obèses contenait une forte abondance en Firmicutes contrairement à la flore des souris minces (confirmation par l'analyse des séquences d'ARN 16s ribosomal.

Chez l' homme

L'équipe de JL Gordon (Ley et coll, Nature 2006) a étudié sélectionné **12 hommes obèses** qui ont reçu soit un régime hypocalorique pauvre en graisses, soit pauvre en hydrates de carbone. La composition de leur *flore intestinale* était suivie pendant un an par le *séquençage de l'ARN 16s ribosomal* du contenu de leurs selles.

Les ***Bactéroïdes et les Firmicutes*** dominaient la flore intestinale de tous les malades en représentant plus *de 92 % de toutes* les séquences d'ARN 16s ribosomal.

Avant le régime, les malades **obèses** avaient ***moins de Bactéroïdes*** et ***plus de Firmicutes*** que des *sujets-contrôles minces.*

Chez les **sujets obèses**, quel que soit le *régime hypocalorique* suivi, la proportion des ***Bactéroïdes augmentait*** et celle des ***Firmicutes diminuait*** au cours du temps.

L'augmentation des ***Bactéroïd***es était *positivement corrélée* avec le pourcentage ***d'amaigrissement***

D'autres travaux expérimentaux ont été entrepris sur la diversité et l'évolution du microbiote dans la maladie de Crohn (notamment, dans les laboratoires de l'INRA) et dans les diarrhées.

Microbiote Pulmonaire

- On croyait les voies aériennes inférieures stériles (car les cultures bactériologiques classiques restaient négatives), or elles fourmillent en réalité de multiples microorganismes, en particulier de bactéries.
- L'utilisation des techniques d'identification de l'ARN 16s des bactéries dans les lavages alvéolaires a remis en cause un dogme bien établi.
- Arbre bronchique: 2000 génomes bactériens /cm² de surface prélevé par brossage, chiffre comparable aux estimations de 2/3 de l'intestin grêle.
- Chiffre des voies respiratoires en dessous des 50.000 bactéries / cm²
- Il a été montré que chez les sujets sains, le microbiome est différent dans le nez, l'oropharynx et les voies aériennes inférieures.

<u>Phyla et genres dans les voies aériennes différentes</u>

PHYLUM GENRE

Nez:

Actinobactéries : **en particulier** Corynebacterium,

Firmicutes : **en particulier** Staphylococcus, aussi streptocoque

Oropharynx

Bacteroïdetes **en particulier** Prevotella,

Firmicutes **en particulier** Veillonella

Protéobactéries **en particulier** Neisseria

Poumon

: **Protéobactériesen particulier** Haemophilus, Neisseria

Bacteroïdetes **en particulier** Prevotella,

200 Taxons identifiés

- plus grande diversité dans le nez et le poumon gauche
- plus grande abondance des genres

Comparaison des communautés bactériennes

De façon notable, le microbiote retrouvé dans les voies aériennes inférieures des patients **asthmatiques** et des patients **BPCO**(bronchopneumopathie chronique obstructive) est semblable, mais différent de celui retrouvé chez les sujets normaux avec une surreprésentation de certaines espèces bactériennes.

Dans les **BPCO et dans l'asthme**:

- ***Protéobactéries*** (*Haemophilus*) plus souvent que dans les sujets contrôles
- ***Bacteroïdetes*** (*Prevotella*,) plus fréquents dans les contrôles

Chez les **enfants asthmatiques**:

- ***Protéobactéries*** (*Haemophilus*) plus fréquents que dans les contrôles
- ***Bacteroïdetes*** (*Prevotella*) plus importants dans les contrôles que dans les asth

En résumé:

- les membres du phylum des protéobactéries ont été très fortement associés à la maladie respiratoire dans les deux groupes (**asthme et BPCO**).
- potentiel important des agents pathogènes Haemophilus, Neisseria, Moraxella
- On constate également la présence en excès de Staphylococcus ***(Firmicutes)*** présent dans les *voies respiratoires des enfants* souffrant ***d'asthme sévère***
- Enfin, il a été montré que les genres *Haemophilus, Neisseria, Moraxella* abondants dans les voies respiratoires des asthmatiques seraient des ***facteurs de risque accru d'asthme*** peu après la naissance lorsque qu'ils se trouvent dans les prélèvements de gorge néonatale

L'espèce **Bacteroïdetes** (*Prevotella* spp) est davantage présente chez les sujets témoins et surtout très réduite chez les patients souffrant d'asthme et de BPCO, ce qui suggère que *Prevotella* inhiberait la croissance d'autres bactéries Le microbiote pulmonaire existe bien, mais la densité bactérienne est plus faible dans les voies respiratoire inférieure chez le sujet sain et la metagénétique donnera certainement plus de renseignements sur la diversité et l'identité d'autres populations bactériennes éventuelles. Les recherches ultérieures devront démontrer si des bactéries commensales participent à la physiologie du poumon (enzymes, réponse immunitaire activée et/ou inhibée) et à une pathologie évoluant vers la chronicité.

Eclosion et envol des microbiotes

- Microbiome salivaire
- Microbiome vaginal
- Microbiome cutané

Microbiome et immunité

- Microbiote et pathologie inflammatoire
- Microbiote intestinal et maladies métaboliques

Microbiote et neurosciences

Certaines bifidobactéries et certains lactobacilles sont dotés d'un effet sur la motricité intestinale et la perception de la douleur au niveau des viscères après ingestion, et ce, de manière spécifique à la souche de bactéries et dépendante de la dose de bactéries.

- certains neurones du plexus mesentérique
- le nerf vague intact est indispensable à la communication entre l'intestin et le cerveau

« l'importance du microbiome intestinal dans le développement et le fonctionnement du système

nerveux dans son ensemble » (John Bienenstock)

Projets Internationaux

Objectif ciblé:

établissement et la caractérisation d'un vaste catalogue de référence
. gènes microbiens intestinaux humains

- Human Microbiome Project du National Institute of Health aux Etats-Unis - Human Microbiome Initiative canadienne - Projets franco-chinois Microobese/MetaGut - - Projet MetaHIT de la Communauté européenne
(Metagenomics of the Human Intestinal Tract)

Séquençage de la totalité de l'ADN fécal de 124 sujets européens, . ce qui agénéré plus de 30 millions de séquences par sujet.

- Futur: détection de plus de 3,4 millions de gènes microbiens

Partenaires de MetaHIT

• Institution	Référents	Pays
Institut National de la Recherche Agronomique	S. Dusko Ehrlich & Joël Doré	France
Institut de Recherche Danone	Raish Oozer	France
Laboratoire européen de biologie moléculaire	PeerBork	Allemagne
Hospital Universitari Vall d'Hebron	F. Goerner& N.Boruel	Espagne
Istituto Europeo di Oncologia	Maria Rescigno	Italie
Novo Nordisk Hagedom Research Institute	Oluf Pedersen	Danemark
UCB Pharma SA	Miguel Forte	Espagne
Wageningen Universiteit	W. de Vos & M.Kleerebezem	Pays-Bas
Wellcome Trust Sanger Institute	Julian Parkhill	Royaume-Uni
Commissariat à l'Energie Atomique (Génoscope)	Jean Weissenbach	France
Beijing Genomics Institute Shenzhen	Wang Jun	Chine
Mérieux Alliance	Christian Bréchot	France
Kopenhagen University	Karsten Kristiansen	Danemark