

# Le microbiote intestinal

**Dr Céline DUPIEUX-CHABERT**

Laboratoire de Bactériologie – Institut des Agents Infectieux - Hôpital de la Croix Rousse

Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Complexes Rhône-Alpes

# 10% humain...

## MICROBIOTE DIGESTIF

=

Communauté de micro-organismes qui résident ou transitent dans le tube digestif (bactéries, archées, levures...)

=

Ecosystème en **équilibre**



$10^{13}$ - $10^{14}$  bactéries :  $\approx$  10 fois le nombre de cellules de l'organisme  
environ 100 fois plus de gènes que le génome humain  
0,2-2 kg masse bactérienne

Sender *et al.* Plos Biol. 2016

Homme = « **hybride** eucaryote-bactéries »

> 500 espèces différentes, multiples fonctions = « **organe** »

# Composition du microbiote digestif

## Diversité +++

1200 espèces/individu

15 000 à 36 000 espèces au total

## 3 phyla majoritaires :

Firmicutes 60-75%

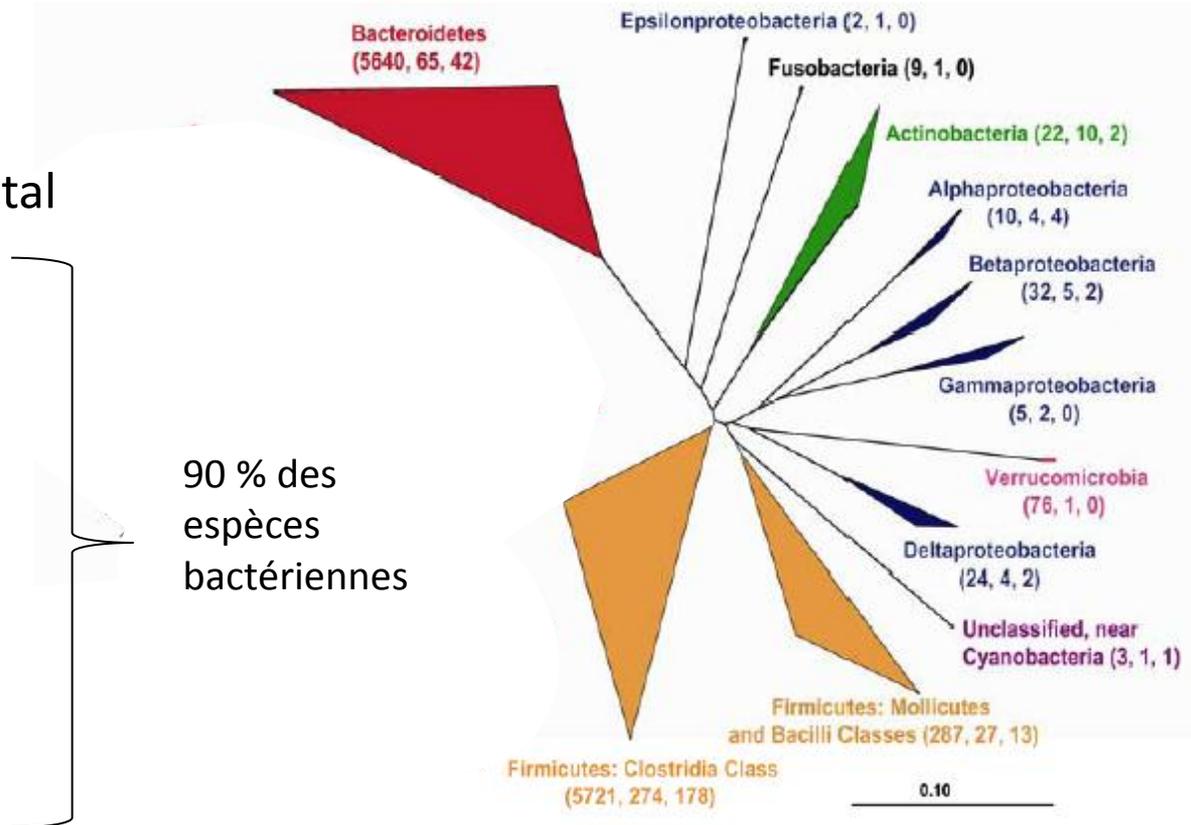
Bacteroidetes 30-40%

Actinobacteria 1-5%

## 6 espèces bactériennes :

*Bacteroides*, *Eubacterium*,  
*Clostridium*, *Enterococcus*,  
*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*

90 % des  
espèces  
bactériennes



1 Archae détectée : *Methanobrevibacter smithii*  
+ virus, fungi, protozoaires (peu d'études)

Eckburg *et al.* Science. 2005  
Frank *et al.* PNAS. 2007

# Microbiote digestif

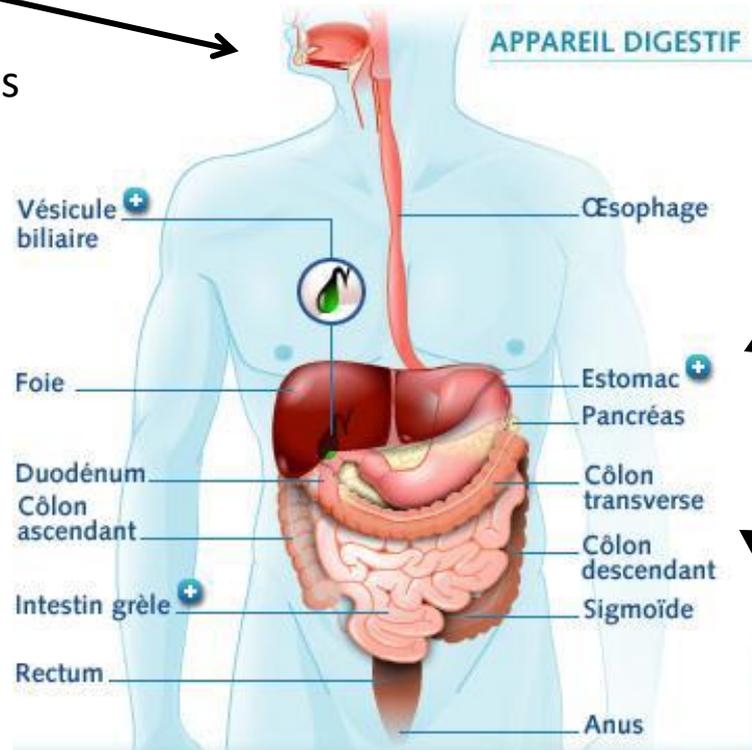
**TD = biotope hétérogène**

## Bouche :

Mastication  
Sécrétion amylase  
Hydrolyse polysaccharides  
O<sub>2</sub> +++

## Intestin grêle :

Digestion (pepsine,  
protéases pancréatiques)  
Absorption nutriments  
Faible O<sub>2</sub>, pH = 6 à 7



## Estomac :

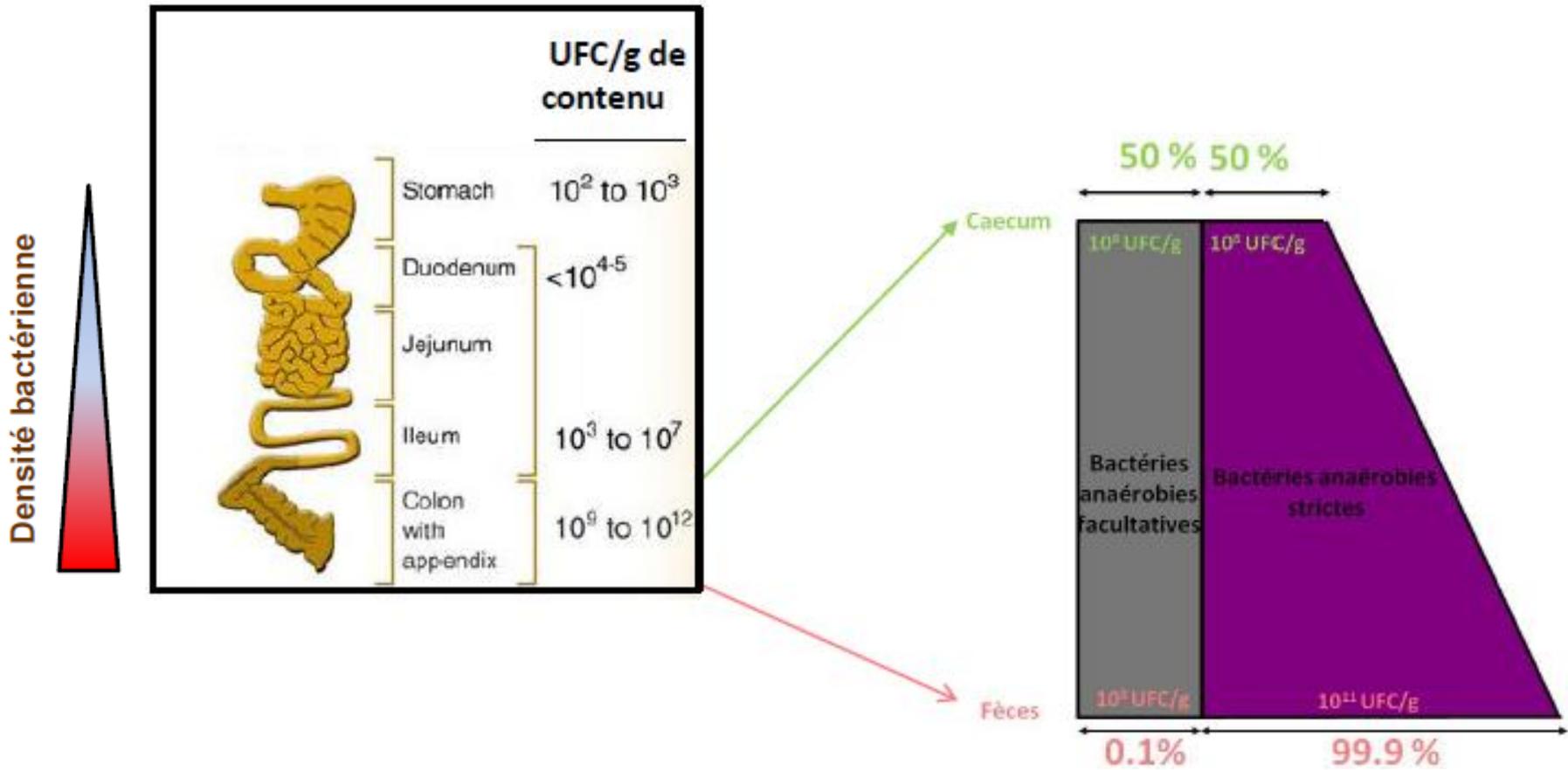
Brassage et mélange des  
aliments avec suc gastrique  
Sécrétion pepsis (protéase)  
et HCl  
Présence d'O<sub>2</sub>, pH = 1 à 2

## Côlon :

Absorption eau, ions, ac-  
gras à courte chaîne  
Absence d'O<sub>2</sub>, pH = 5 à 7

**➔ Microbiote hétérogène**

# Microbiote digestif



Marteau *et al.* Appl Environ Microbiol. 2001

# Composition du microbiote digestif

La flore bactérienne varie le long du tube digestif  
La diversité bactérienne est maximale dans le gros intestin

## Duodénum :

*Streptococcus*  
*Lactobacillus*

## Estomac :

*Streptococcus*  
*Lactobacillus*

## Colon :

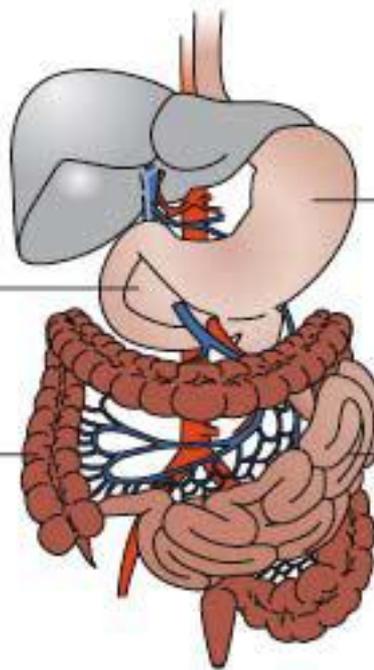
*Bacteroides*  
*Eubacterium*  
*Clostridium*  
*Ruminococcus*  
*Bifidobacterium*  
*Enterobacteriaceae*  
*Streptococcus*

**Anaérobies stricts ++**

## Jejunum/Ileum :

*Streptococcus*  
*Lactobacillus*  
*Enterobacteriaceae*  
*Clostridium*  
*Bacteroides*

**Anaérobies  
facultatifs +++**



# Composition du microbiote digestif

Il existe aussi un gradient axial

Bactéries associées à la lumière du TD :

*Bacteroides, Bifidobacterium, Streptococcus, Enterobacteriaceae, Enterococcus, Clostridium, Lactobacillus, Ruminococcus* (retrouvés dans les selles)

Bactéries associées au mucus et à la muqueuse digestive :

*Clostridium, Lactobacillus, Enterococcus, Akkermansia*

# Microbiote intestinal

## FLORE DOMINANTE – SOUS DOMINANTE

### Flore DOMINANTE

10-20 espèces  
avec niveau de  
population  
élevé

$10^9$ - $10^{11}$  UFC/g

Bactéries anaérobies

Surtout BGN non sporulés  
(*Bacteroides* +++)

BGP = *Eubacterium*,  
*Clostridium*, *Bifidobacterium*  
CGP = *Peptostreptococcus*

### Flore SOUS-DOMINANTE

$10^6$ - $10^8$  UFC/g

Bactéries aéro/anaérobies  
facultatives

Entérobactéries, streptocoques,  
*Lactobacillus*, entérocoques,  
staphylocoques

### Flore de passage, transitoire

$< 10^5$ - $10^6$  UFC/g

Entérobactéries  
(*Citrobacter*, *Klebsiella*,  
*Proteus*)

*Pseudomonas*

Levures (*Candida  
albicans*)

# Dynamisme du microbiote

**Etablissement du microbiote = Etape cruciale**

**Naissance = Tube Digestif stérile**

Origine  
Maternelle  
Environnement  
Alimentation



Implantation successive  
1- Aérobies  
2- Anaérobies et microaérophiles

Différence de composition entre enfants, mais convergence vers un profil d'adulte fin de la 1<sup>ère</sup> année

Acquisition du microbiote d'adulte vers 2-3 ans ( $10^{14}$  bactéries)

# Déterminants du microbiote du nouveau-né

**Maturité du TD** : retard d'implantation du microbiote

**Mode d'accouchement** :

par voie basse : bactéries de la flore vaginale +++

si césarienne : bactéries de la flore cutanée ++

pas de contact avec tractus génital

diversité plus faible

retard d'implantation du microbiote anaérobie

**Type d'alimentation** :

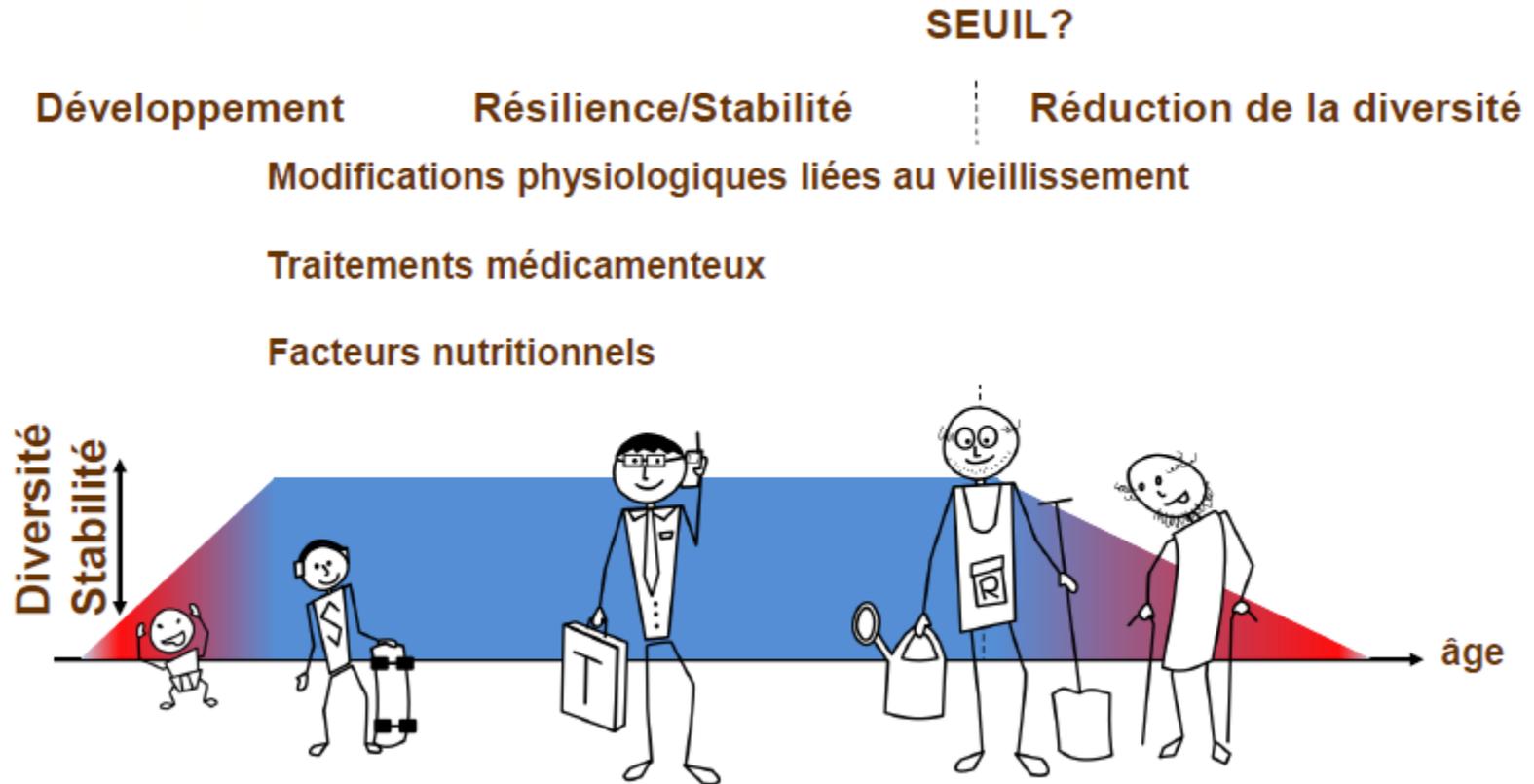
Dominance des Bifidobactéries chez NN allaités

**Antibiothérapie** :

Implantation de bactéries résistantes

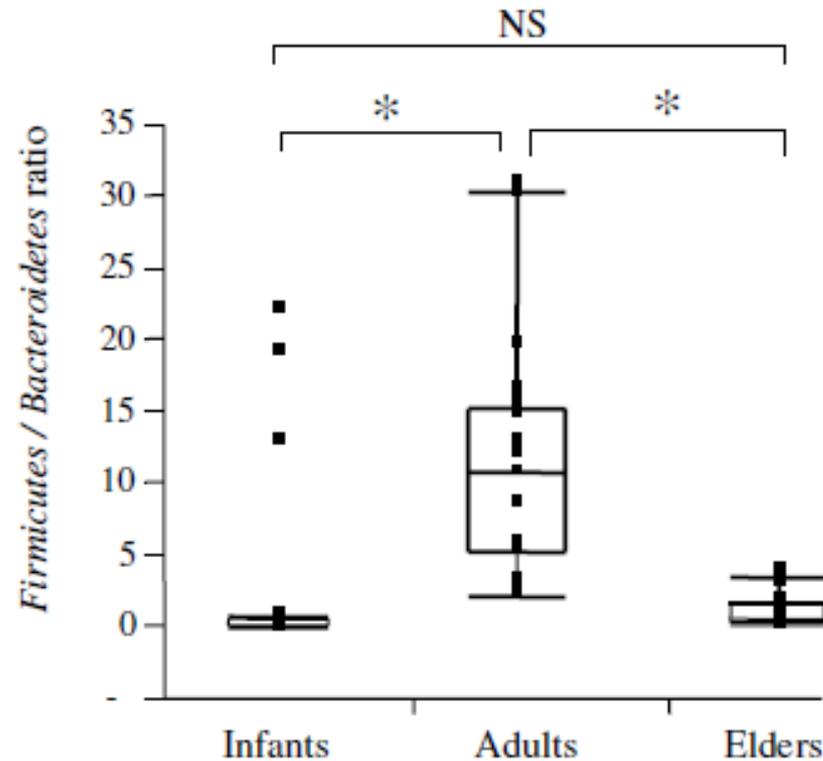
Lieu privilégié d'échange de gènes de résistance

# Dynamisme du microbiote digestif



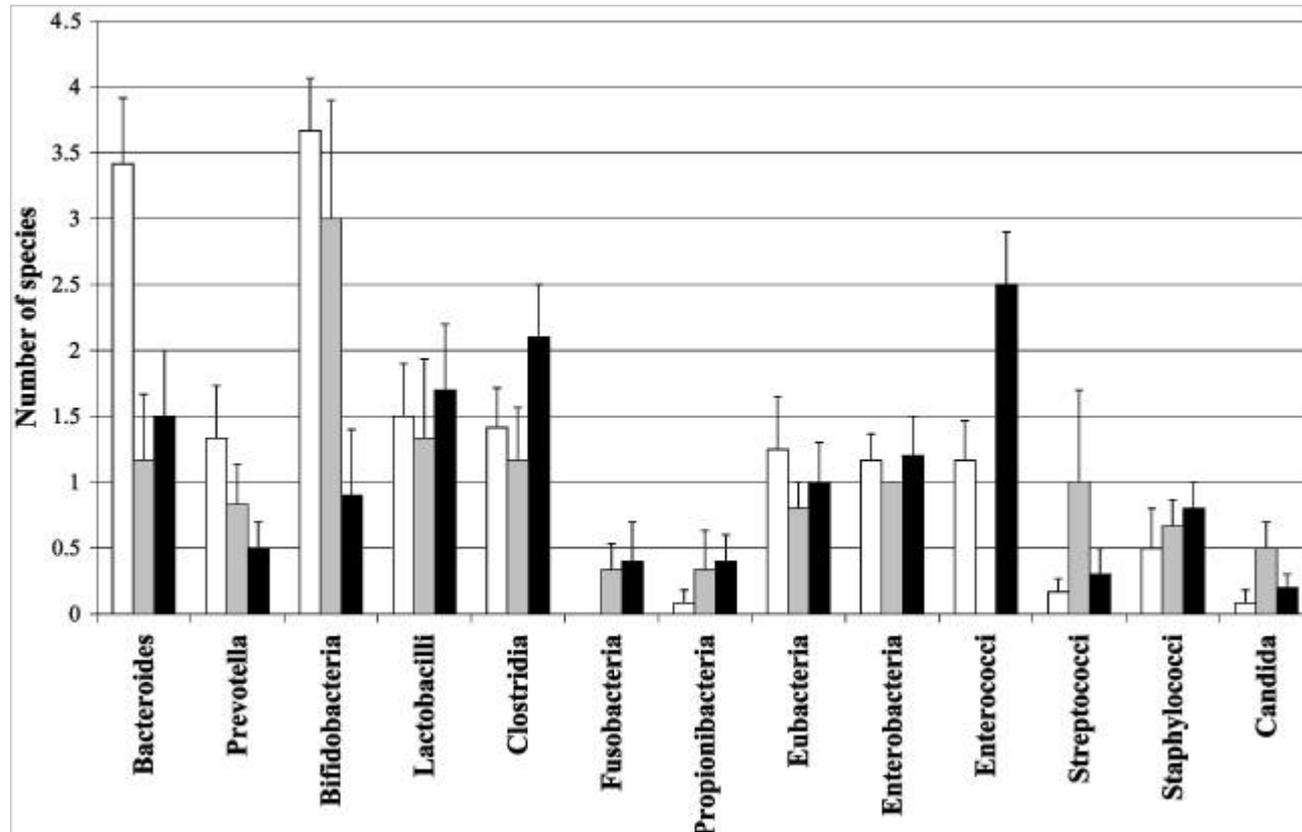
*D'après C. Cherbuy*

# Variabilité INTRA-individuelle du microbiote : âge



Mariat *et al.* BMC Microbiol. 2009

# Variabilité INTRA-individuelle du microbiote : âge

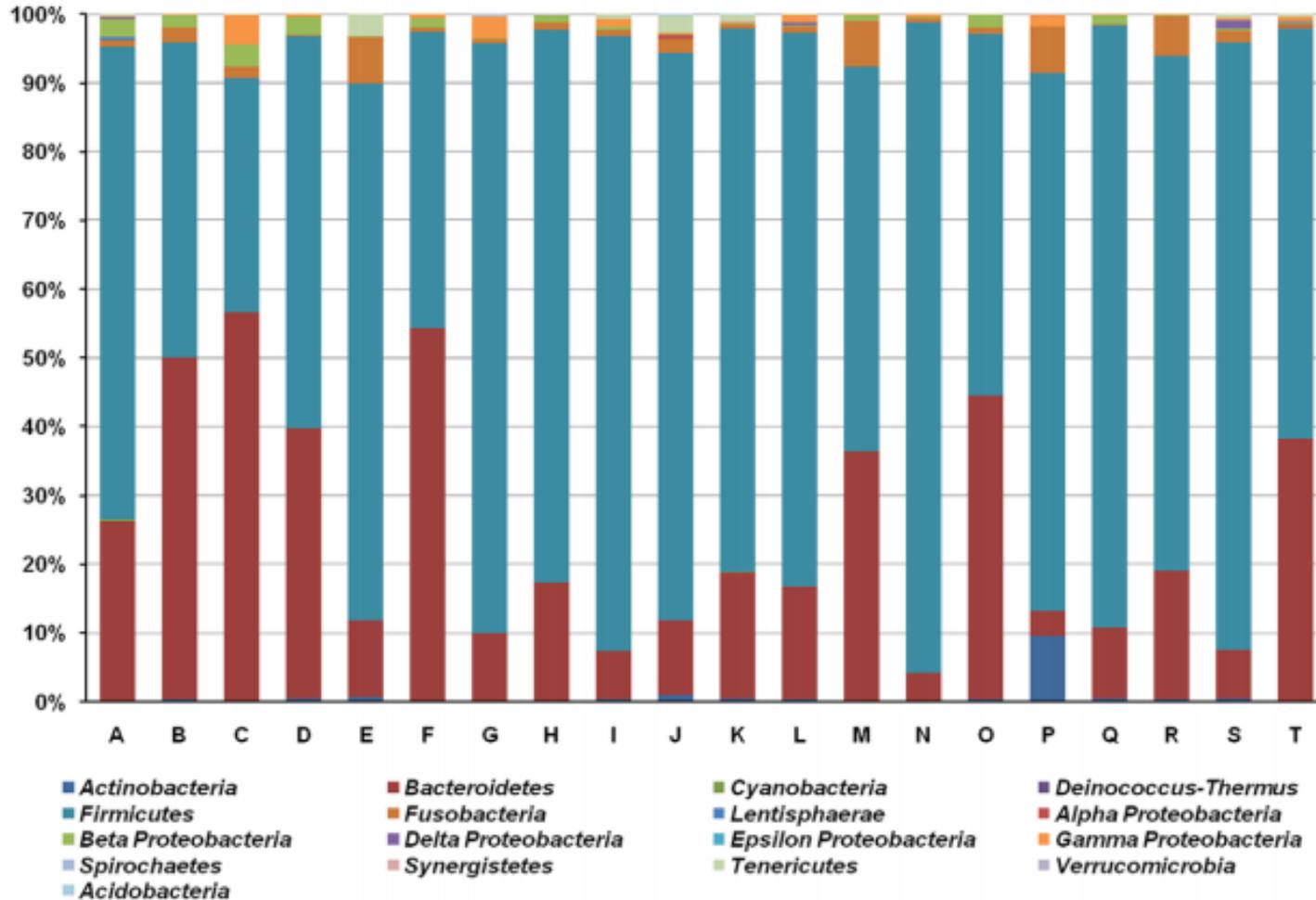


**Summary of bacterial species diversity in feces from individuals in different age groups.** Healthy young (white), healthy elderly (grey), and antibiotic-treated elderly (black).

Woodmansey et al. Appl Environ Microbiol. 2004

# Variabilité INTER-individuelle du microbiote

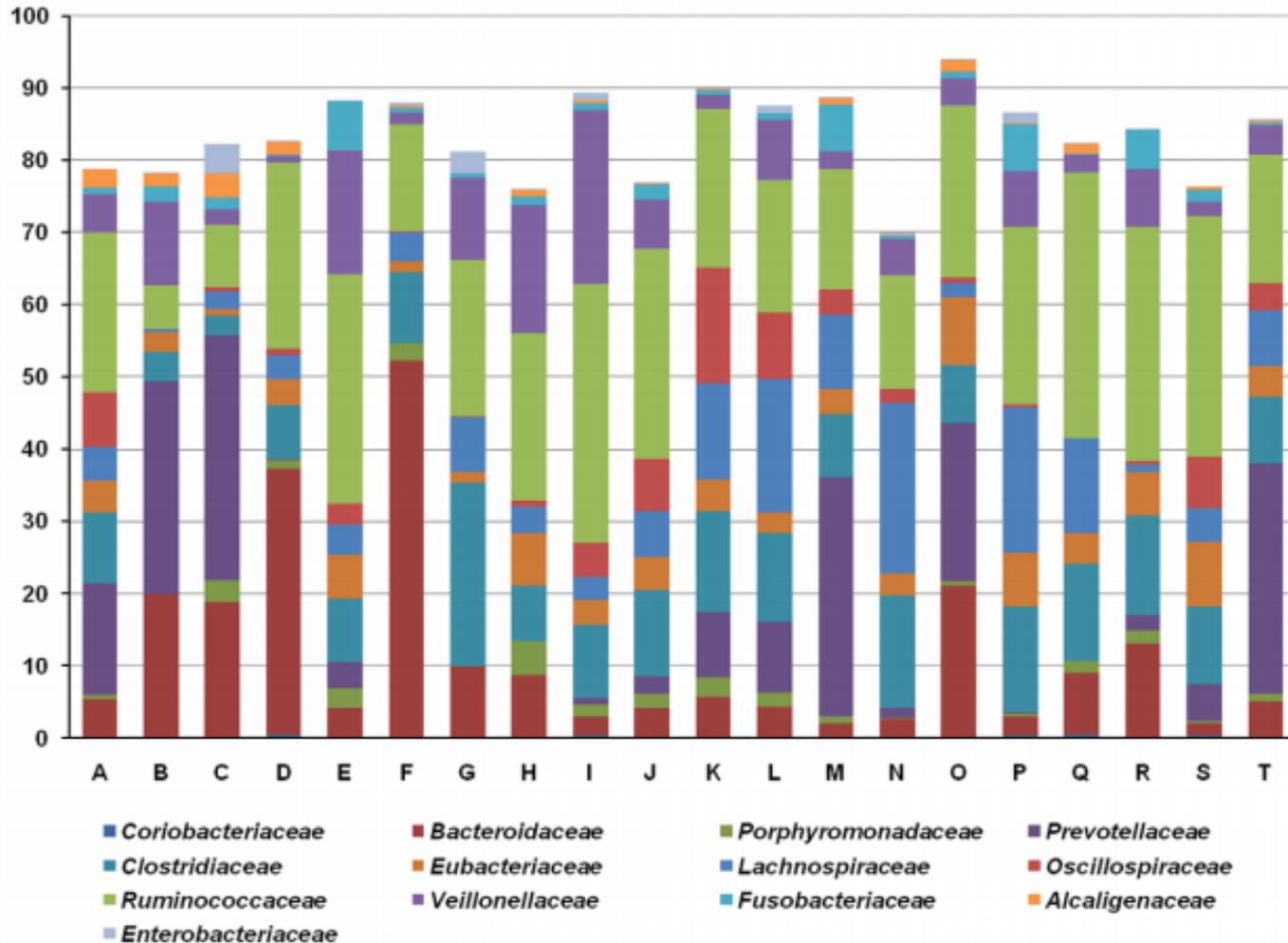
Nam *et al.* PLoS One. 2011  
20 coréens



La proportion des phyla est conservée entre les individus

# Variabilité INTER-individuelle du microbiote

Nam *et al.* PLoS One. 2011  
20 coréens

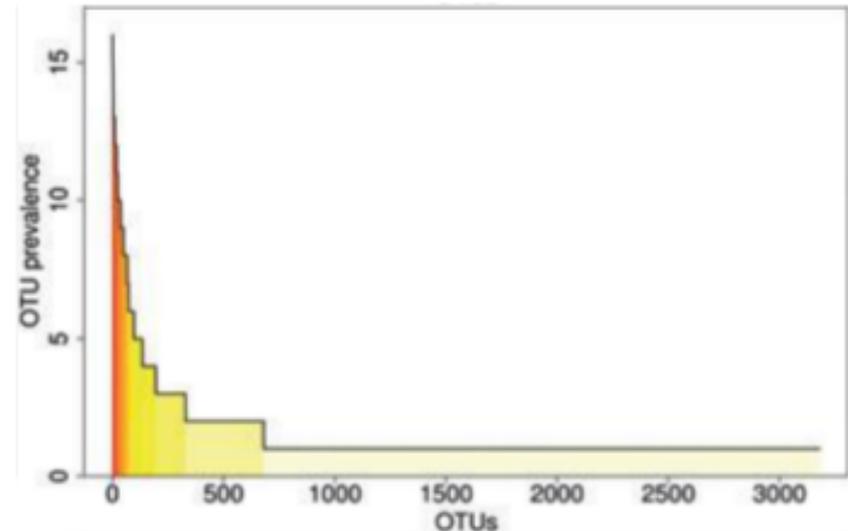


La proportion des familles bactériennes est très variable entre les individus  
→ Microbiote spécifique de chaque individu

# Variabilité INTER-individuelle du microbiote digestif

En termes de gènes :

Seulement 2% des gènes du microbiote sont présents chez au moins 50% des individus



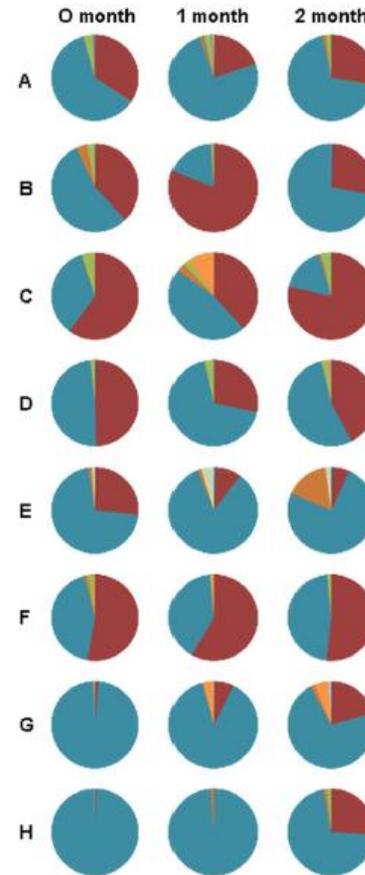
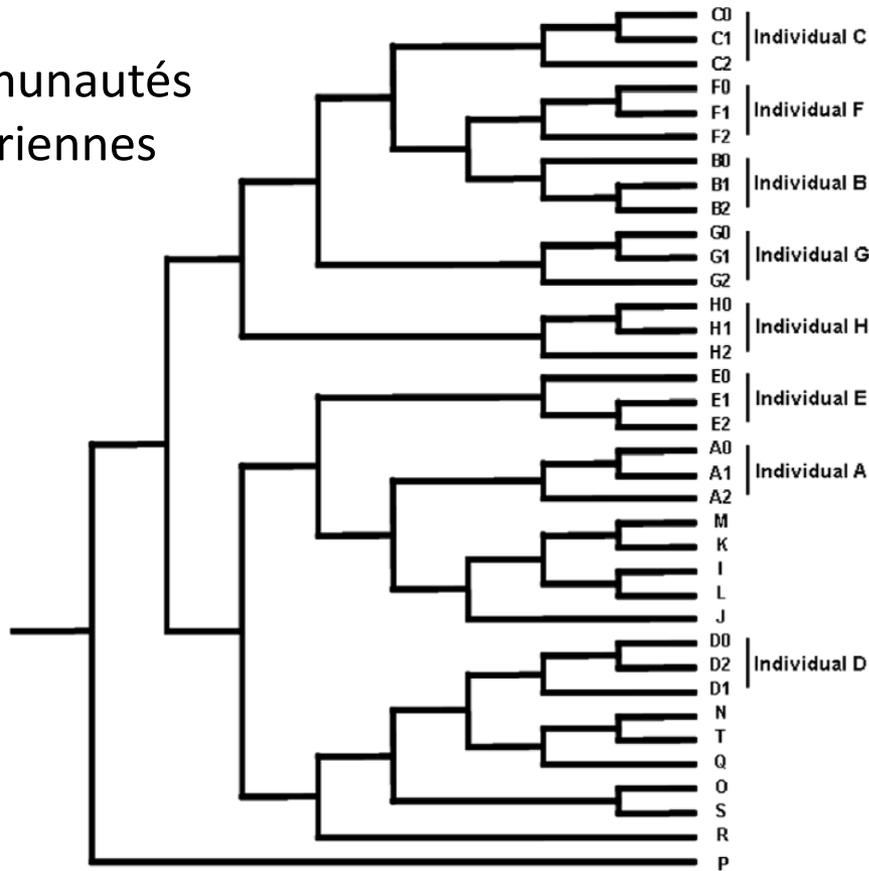
**Fig. 2.** Distribution of OTUs as a function of their prevalence in the 17 individuals. Operational taxonomic units were ranked from the most prevalent (present in 16/17 individuals) to the least prevalent ones (individual specific). Most prevalent OTUs, present in 8 out of 17 individuals or more, corresponded to 2.1% of all OTUs ( $n = 66$ ) but represented 35.8% of all sequences ( $n = 3740$ ).

# Variabilité INTER-individuelle du microbiote

Nam *et al.* PLoS One. 2011

8 coréens, 3 échantillons espacés d'1 mois

Communautés bactériennes

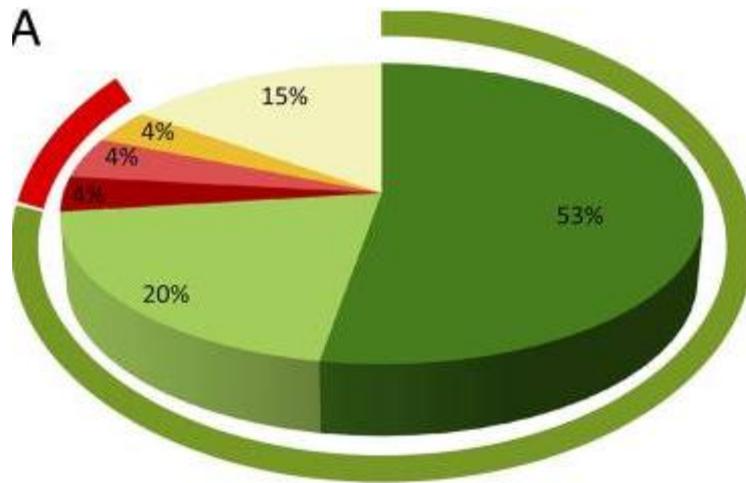


Abondance relative

La **composition** du microbiote (espèces bactériennes) est spécifique de chaque individu et **stable** alors que l'**abondance relative** de chaque espèce **fluctue**

# Variabilité INTER-individuelle du microbiote

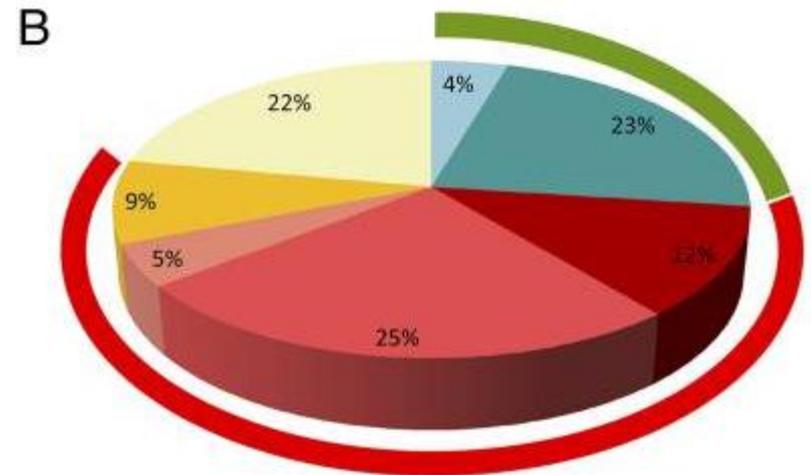
De Filippo *et al.* PNAS. 2010



**BF**

■ Prevotella	} Bacteroidetes
■ Xylanibacter	
■ Acetitomaculum	} Firmicutes
■ Faecalibacterium	
■ Subdoligranulum	
■ Others	

**Burkina Faso**



**EU**

■ Alistipes	} Bacteroidetes
■ Bacteroides	
■ Acetitomaculum	} Firmicutes
■ Faecalibacterium	
■ Roseburia	
■ Subdoligranulum	
■ Others	

**Italie**

Influence des facteurs **environnementaux** (origine géographique, alimentation, hygiène ...)

# Variabilité INTER-individuelle du microbiote

Microbiote = écosystème hiérarchisé,  
espèces dominantes (en nombre) et dominées

Chaque individu possède un **microbiote qui lui est propre** :

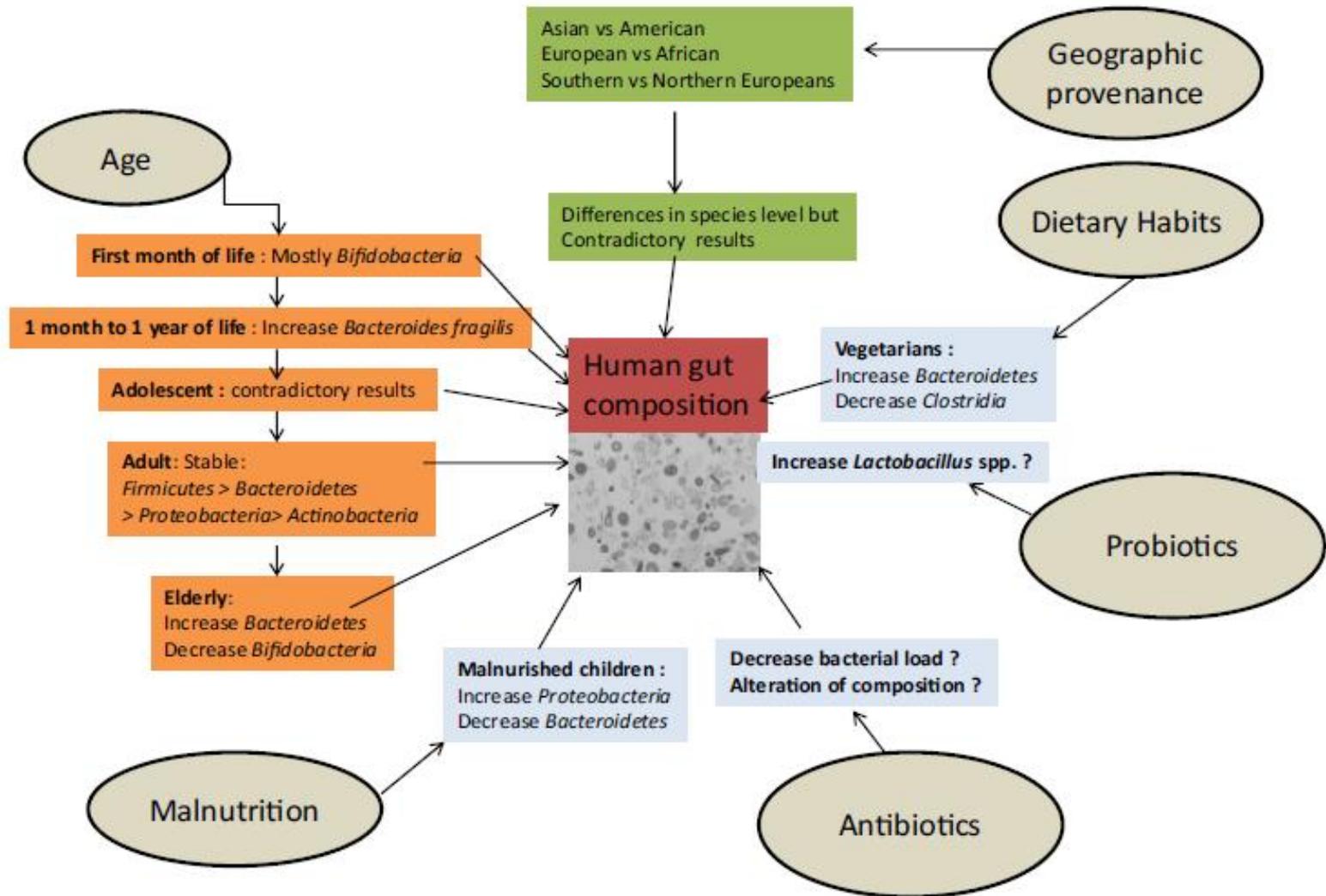
Les phyla sont conservés

Les 2/3 des espèces bactériennes intestinales sont  
totalement **spécifiques de l'hôte = « entérotypes »**

Le 1/3 restant est plus ou moins partagé

Composition dynamique, variant selon la saison, l'emplacement géographique, la nutrition, le statut immunologique, l'âge

# Variabilité du microbiote digestif



# Etude du microbiote digestif

A partir de quel échantillon biologique ?

Microbiote intestinal assimilé au microbiote fécal



Mais reflet imparfait :

- prédominance moins importante des anaérobies

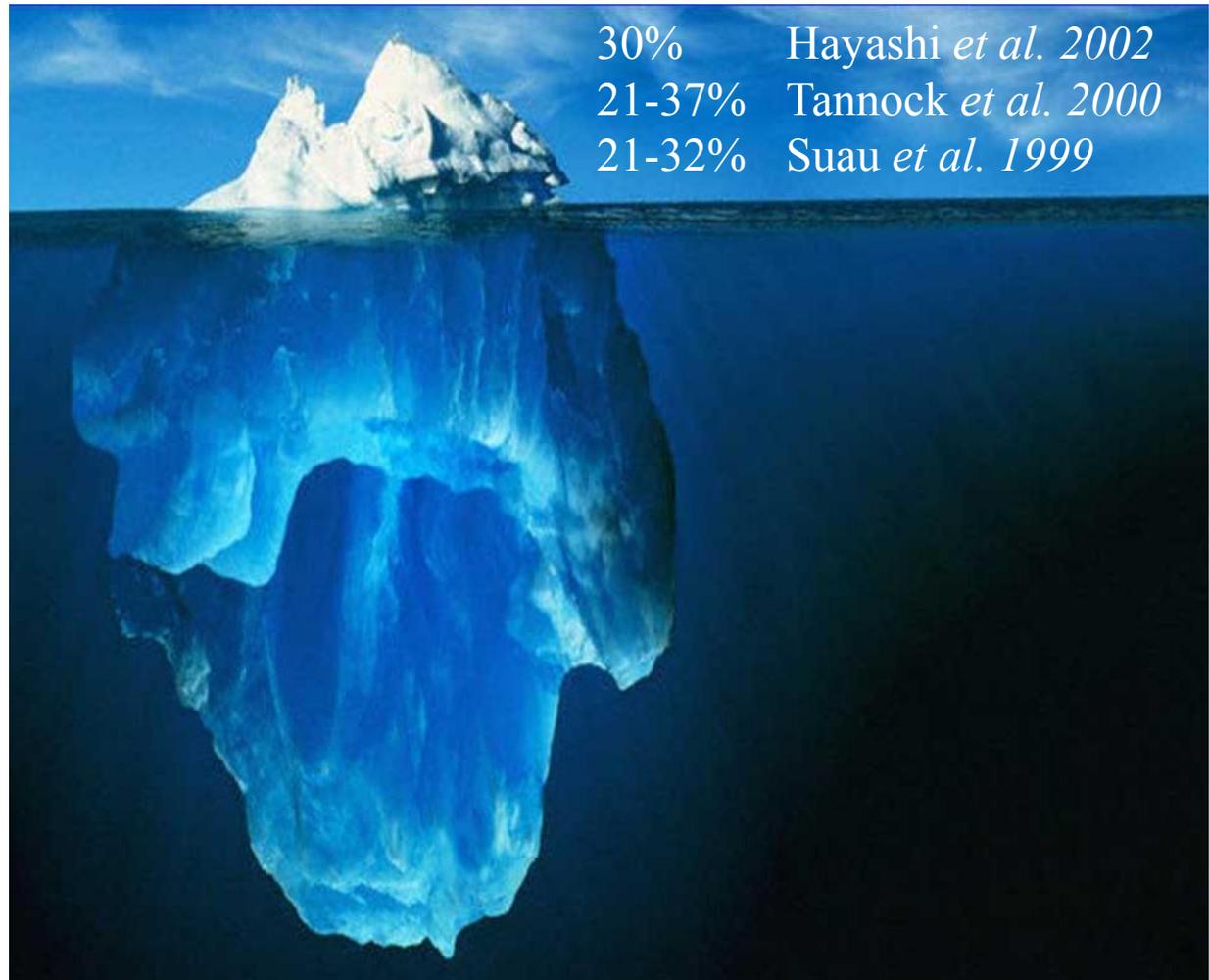
- différence entre microbiote luminal et microbiote associé aux muqueuses

# Etude du microbiote digestif

Fraction cultivable :  
30%

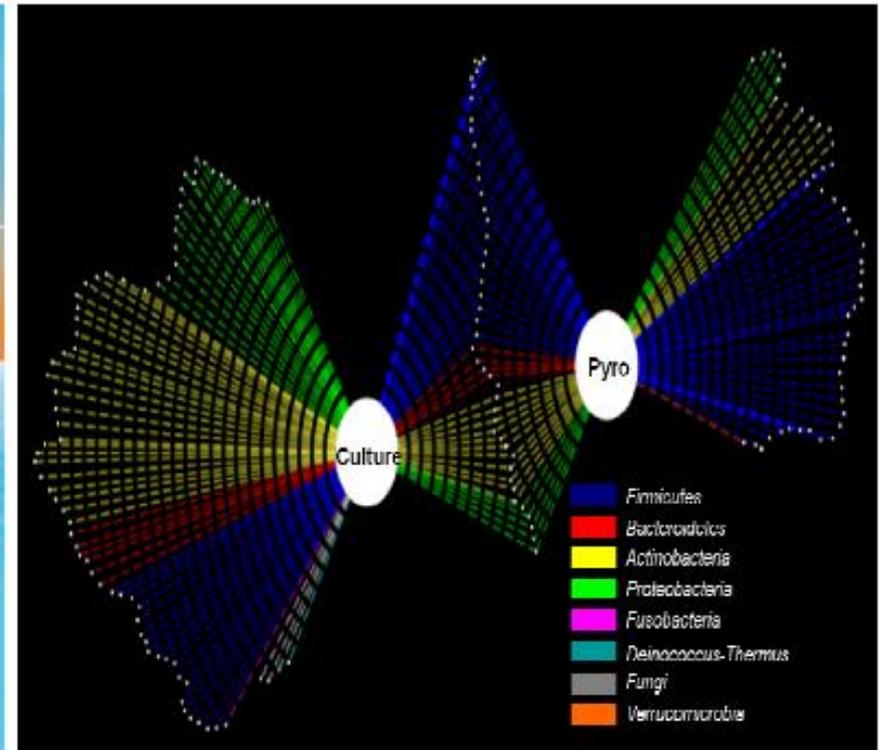
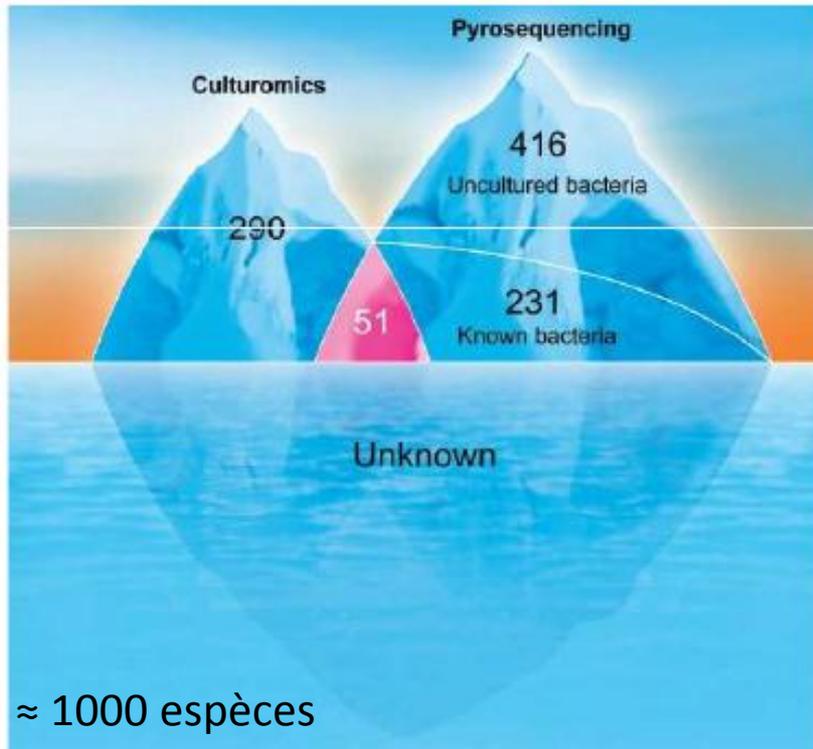
**Influence de la  
méthode d'étude  
sur les résultats!**

Fraction non cultivable :  
70%



# Culturomique vs. Métagénomique ?

Lagier *et al.* Clin Microbiol Infect. 2012



Pyroséquençage 16S rRNA

Complémentarité des 2 techniques, faible recouvrement

# Méthodes d'étude

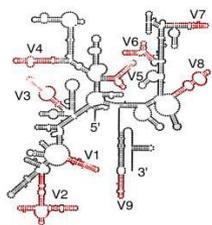
## Microbiote intestinal

Quels sont les organismes présents

Quel est le potentiel génétique?

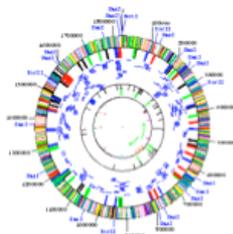
Que font les micro-organismes présents?

Ac. nucléiques



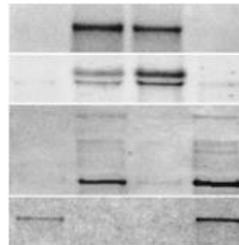
Approche  
ARNr16S  
Culturomique

ADN total



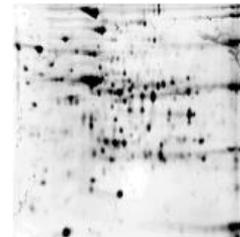
Méta-  
génomique

ARNm



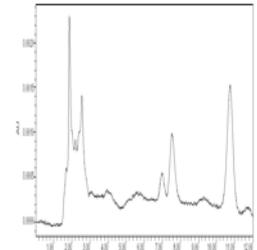
Métatrans-  
criptomique

Protéines



Méta-  
protéomique

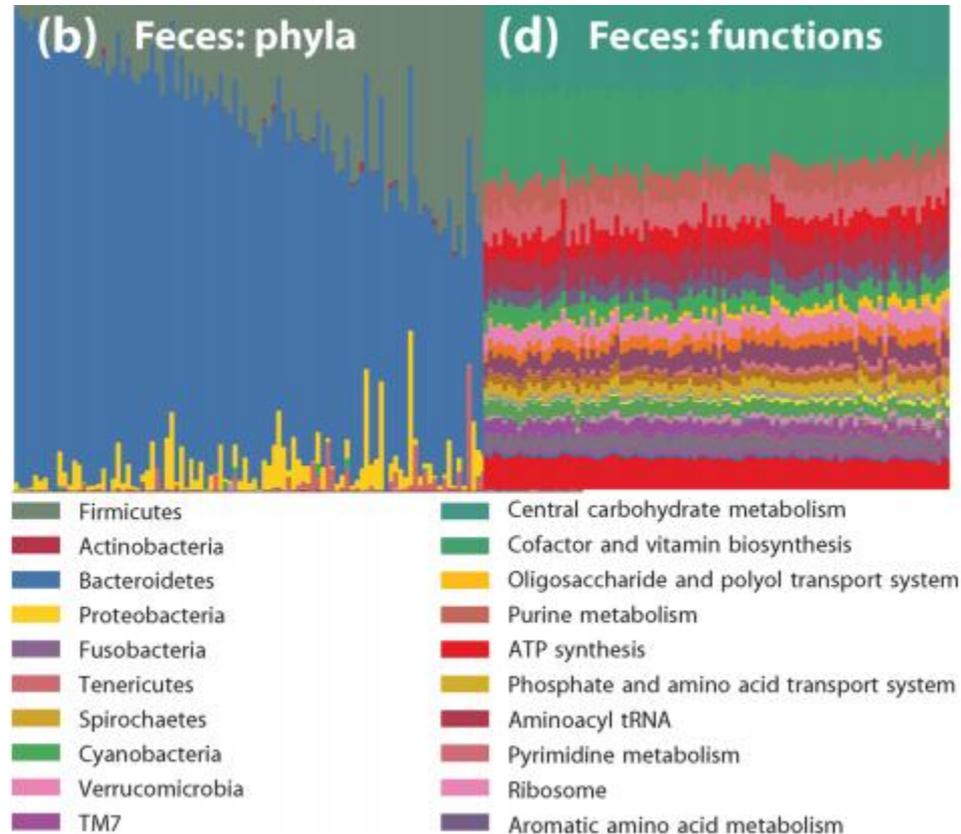
Métabolites



Méta-  
bolomique

# Fonctions du microbiote digestif

Composition variable → fonctions variables ?



Redondance fonctionnelle +++

Lozupone *et al.* Nature. 2012

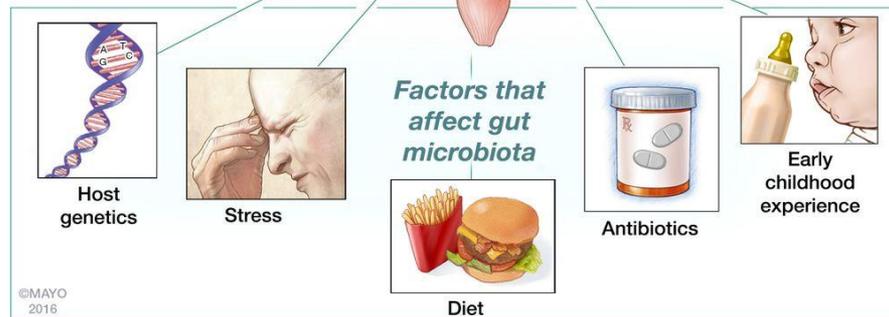
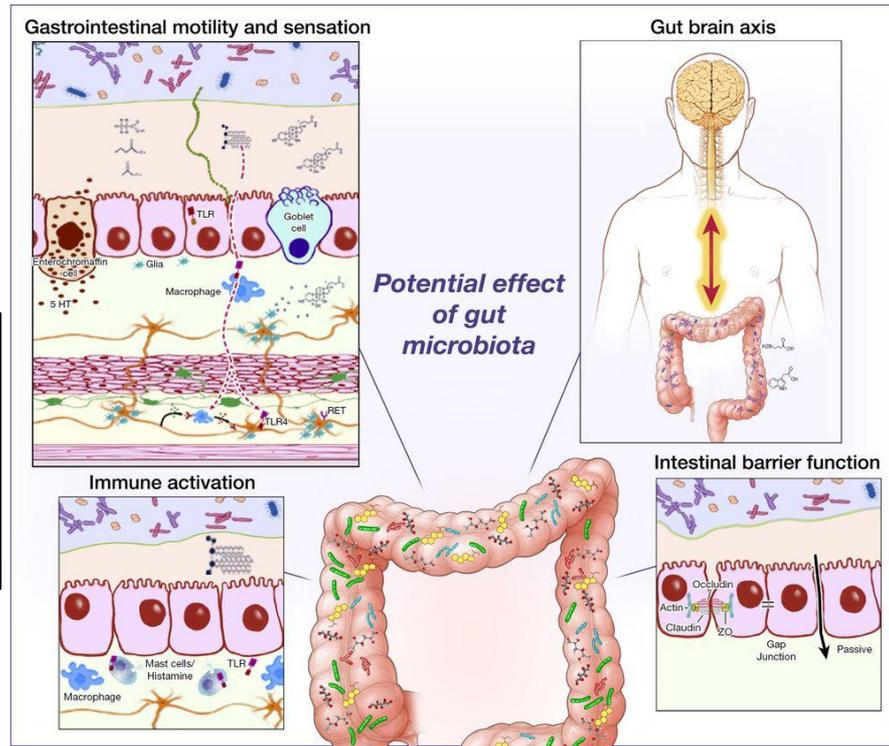
# Le tube digestif n'est pas qu'un tube...

Digestion  
Assimilation  
des aliments

1<sup>er</sup> organe  
immunitaire  
60 à 70 % de nos  
cellules immunitaires

2<sup>ème</sup> cerveau  
100 millions de  
neurones

Frontière



Surface de 400 m<sup>2</sup> !!

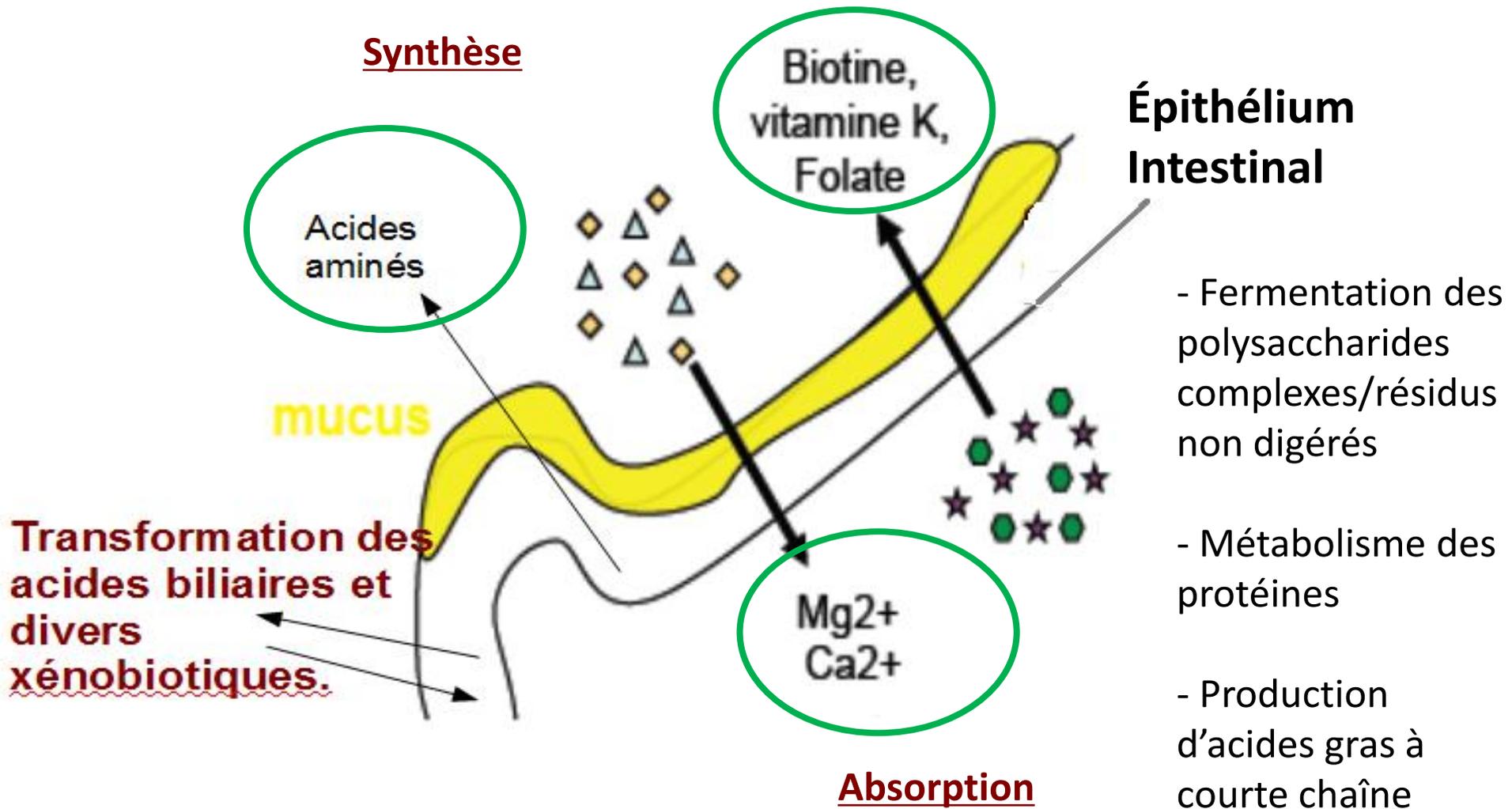
# Fonctions du microbiote digestif

- Fonction métabolique
- Effet de barrière
- Maturation du système immunitaire
- Physiologie intestinale
- Neuromodulation ....

Certaines fonctions ne sont établies qu'après l'âge de 2 ans  
→ maturation nécessaire du microbiote digestif

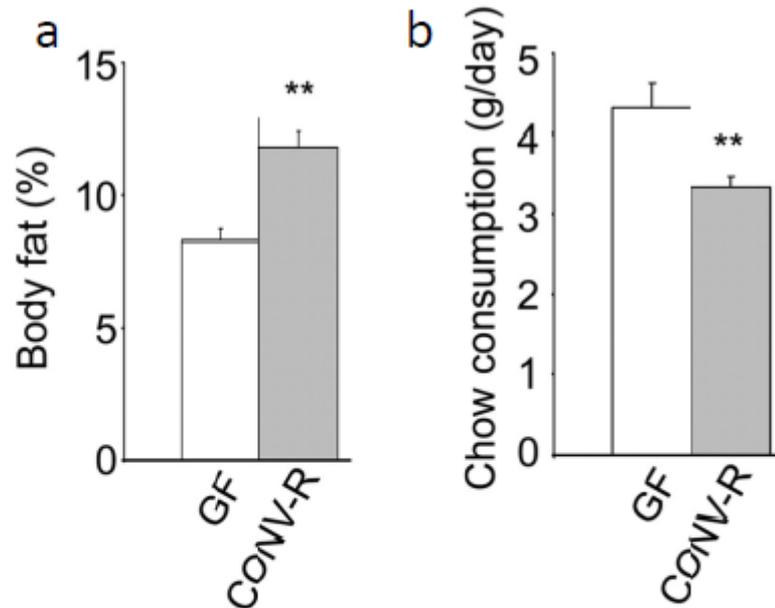
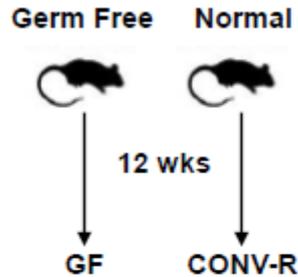
 **Ecosystème complexe, véritable partenaire, symbiose**

# Fonction métabolique



# Fonction métabolique

Bäckhed *et al.*, 2004, PNAS



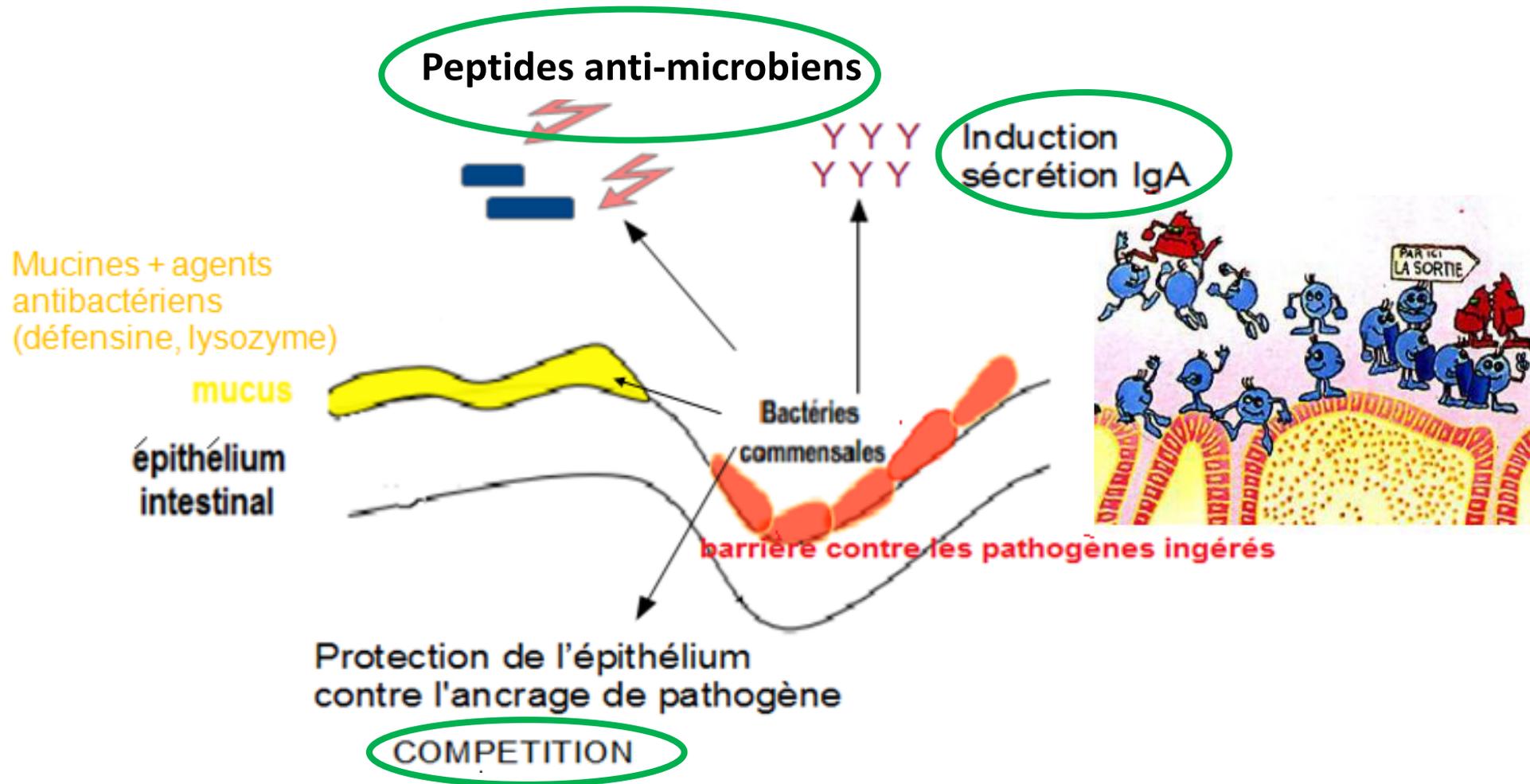
La présence d'un microbiote intestinal induit :

a - augmentation de la masse de graisse corporelle

b - diminution de la quantité de nourriture absorbée

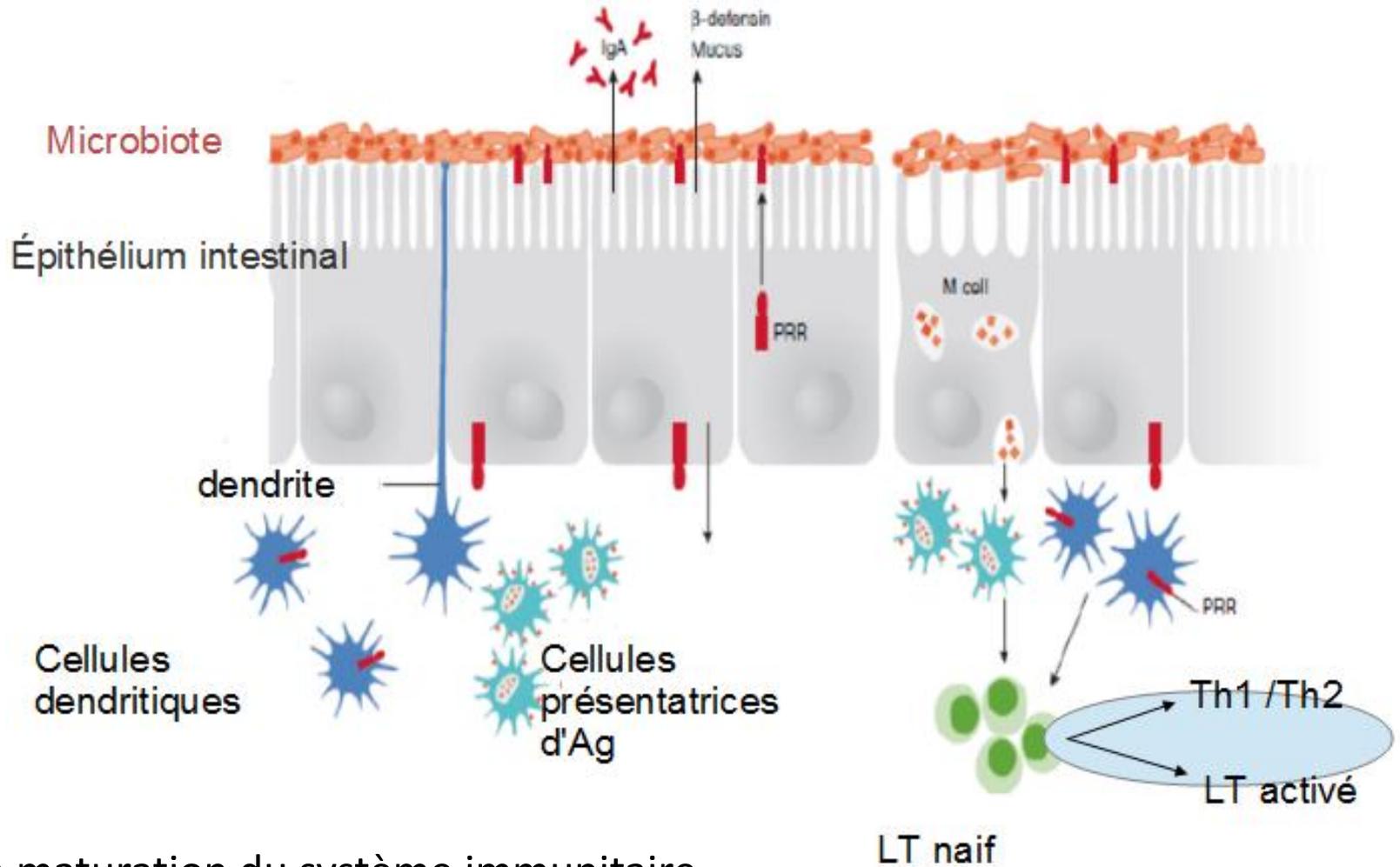
→ Rôle dans la régulation du stockage des graisses

# Fonction de barrière-défense protectrice



Protection contre colonisation du TD par des micro-organismes pathogènes

# Fonction immunologique

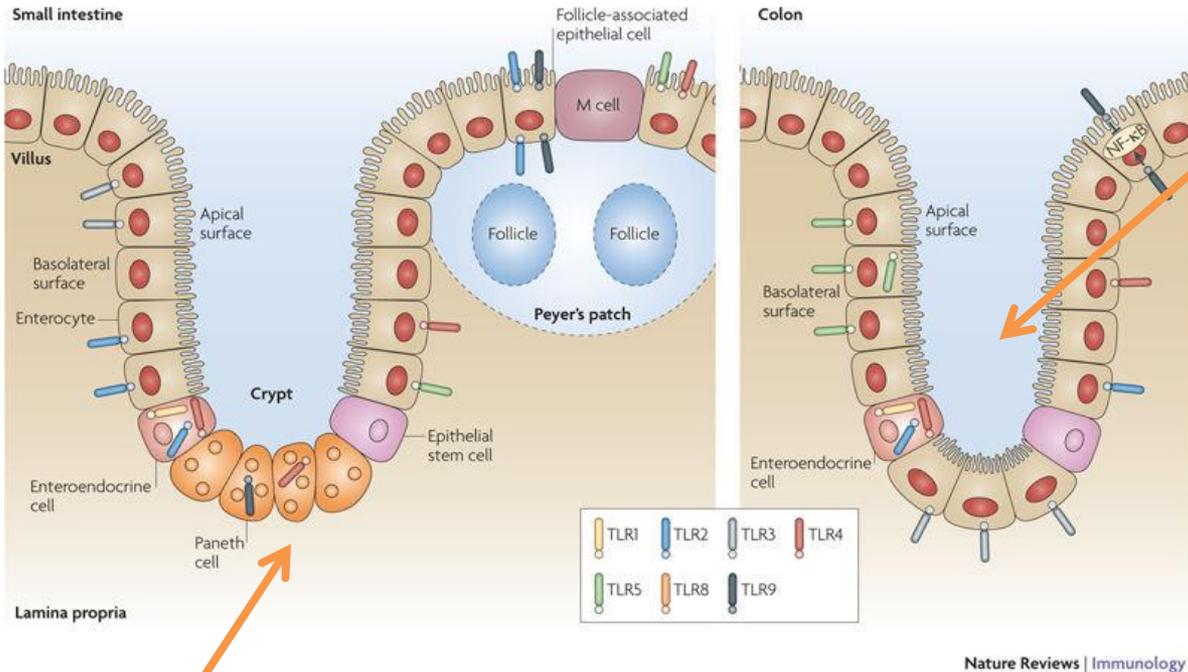


Aide à la maturation du système immunitaire

recrutement  $\phi$  immunitaires, balance Th1/Th2, sécrétion d'IgA

Induction de la réponse immunitaire, tolérance

# Fonction de structure et trophicité



## Structuration

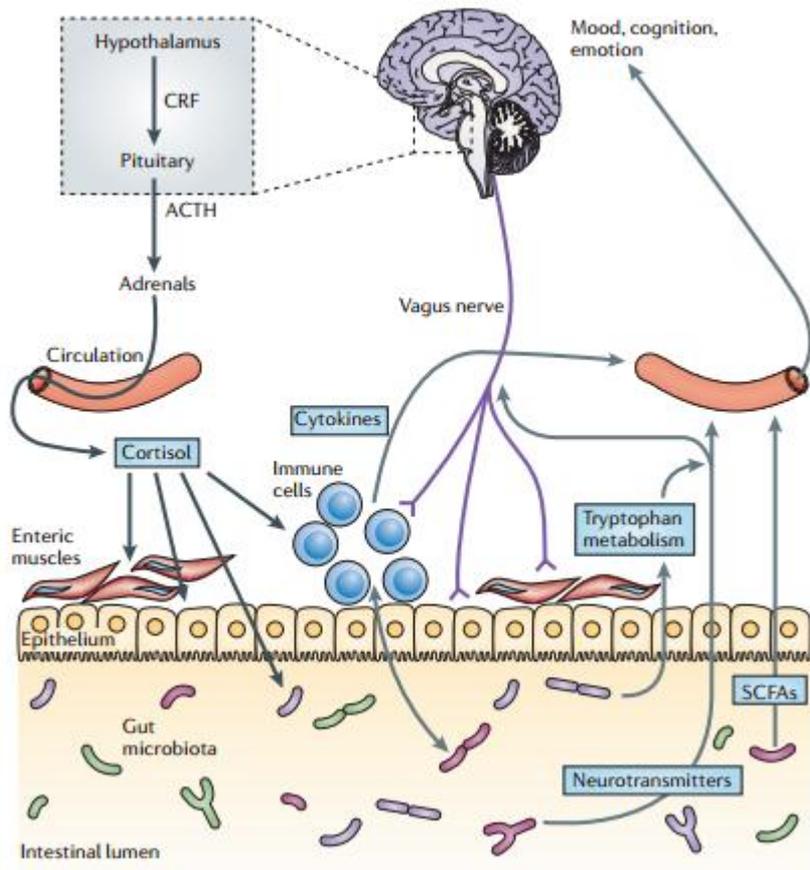
- Augmentation des cryptes
- Taille des villosités et de la bordure en brosse
- Renforcement jonctions cellulaires

## Maturation épithélium intestinal

- Différenciation/prolifération des cellules  
Paneth, M, cellules endocrines, entérocytes
- Développement de l'angiogenèse

# Fonction de neuromodulation

## Relation Microbiote - Intestin - Cerveau

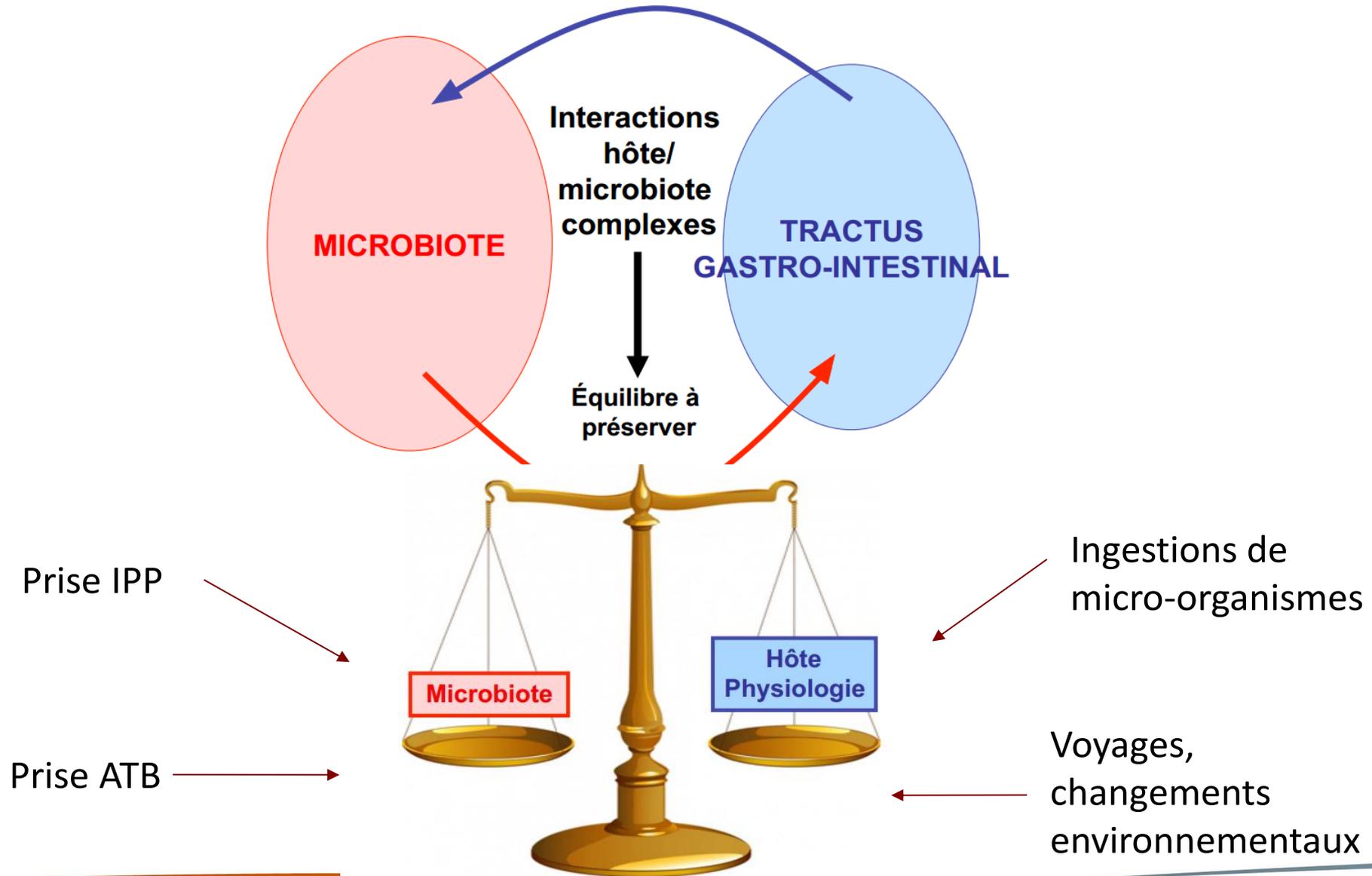


Communication bidirectionnelle

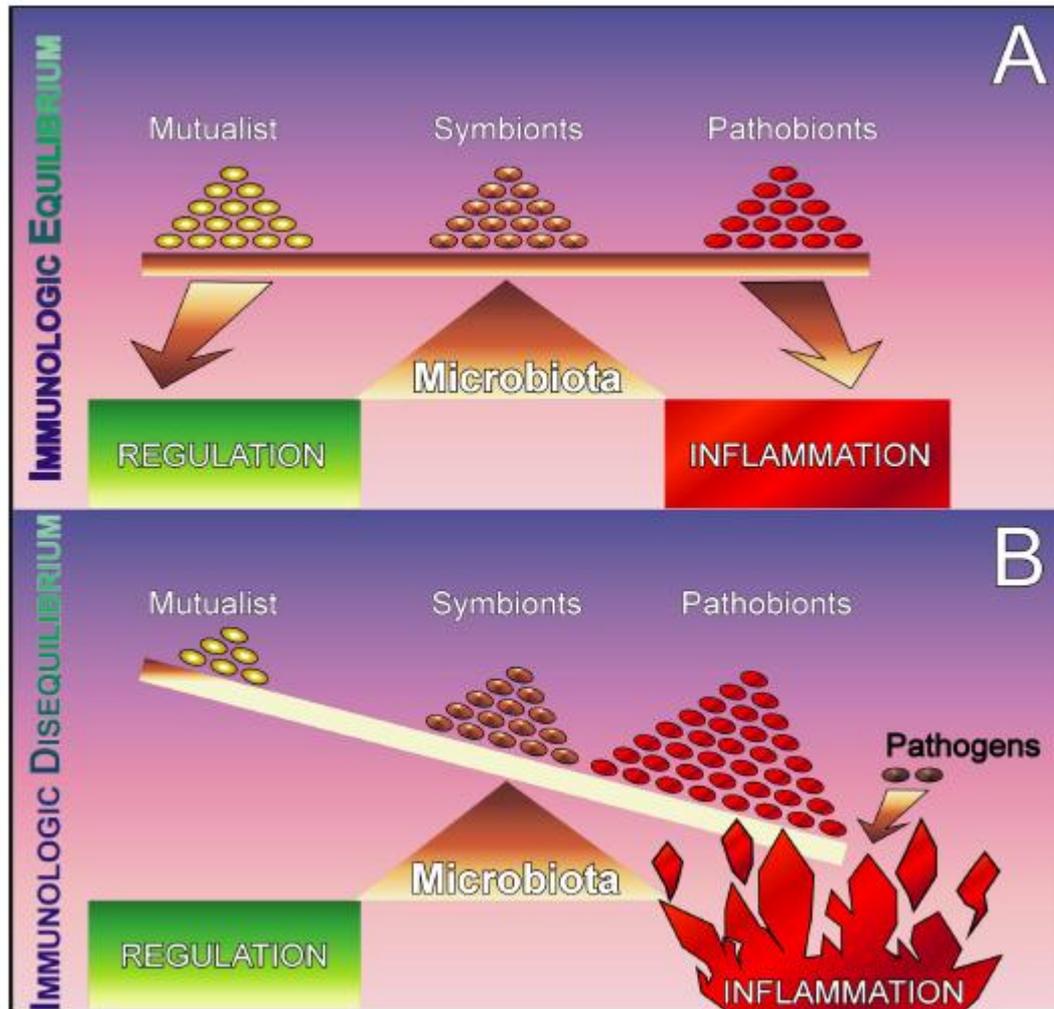
Modulation de l'axe intestin-cerveau par le microbiote digestif

- Neuronale (nerf vague)
- Endocrine (cortisol)
- Immunologique (cytokines)

# Dysbiose = déséquilibre



# Dysbiose = déséquilibre



# Dysbiose et pathologies

**Dysbiose** : Déséquilibre du microbiote dû à des changements qui altèrent l'implantation ou la stabilité du microbiote

**Absence de germes (souris axéniques) :**

↘ vascularisation, activité enzymatique digestive, épaisseur des muscles, production de cytokines, niveau Ig sériques, plaques de Peyer, nbre de lymphocytes intra-épithéliaux

↗ susceptibilité aux infections, couche de mucus, besoin calorique

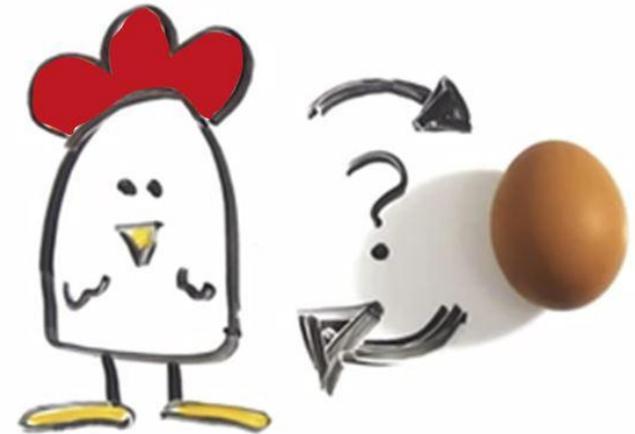
# Dysbiose et pathologies

## Implications de la Dysbiose dans :

- Infections intestinales, entérocolite nécrosante
- Diarrhées aux ATB
- Pullulation du grêle
- Colites de diversion
- MICI (Crohn)
- Syndrome de l'intestin irritable
- Cancérogénèse dans le tractus digestif (polypose, Kc colorectal)
- Maladies extra-digestives :

Syndrome métabolique, diabète, obésité

Allergies/atopie, asthme, autisme



# Conclusions

- Microbiote intestinal = véritable **organe** complexe et riche
  - **Unique** = carte d'identité d'un individu
  - **Interactions** majeures avec l'hôte
  - Composition fortement influencée par facteurs environnementaux et variable au cours de la vie
  - Rôles : protection + structure + métabolisme
  
  - Implication dans de nombreuses **pathologies** en cas de déséquilibre
  - De nombreuses implications restent à explorer... enjeu majeur de recherche au 21<sup>ème</sup> siècle
- 