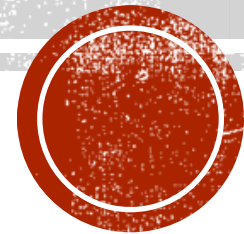


# MICROBIOME 101

Marco Andres Bergevin, MD, FRCPC  
Microbiologiste Médical et Infectiologue  
CISSSL  
[marco.bergevin@gmail.com](mailto:marco.bergevin@gmail.com)



# ACHTUNG! ON OUVRE UNE BOÎTE DE PANDORE



# **DIVULGATION (CONFLITS D'INTÉRÊT)**

- **Subventions/Soutien à la recherche :**
  - Investigator initiated research grant Merck 2011
- **Conférencier:**
  - Avir, Merck, Sunovion, BMS, Abbott, Janssen, BioK +
- **Consultation:**
  - Avir, Verity, Merck, Pendopharm, Paladin, Cubist, Sunovion, Astellas, Roche, Iroko, Merus, BMS, Abbott



# OBJECTIFS

- Connaître et comprendre les différents concepts en lien avec le microbiote.
- Reconnaître les principales fonctions physiologiques du microbiote et l'interaction avec diverses pathologies
- Discuter des possibilités d'intervention clinique de la manipulation du microbiote





# QUE VOYEZ VOUS?

- Deux êtres humains
- Caractéristiques physiques
  - Âge
  - Santé
  - Attrait sexuel
- Personalités / émotions
- Réseau social
  - Travail
  - Famille
  - Amitiés





**À TRAVERS L'OEIL  
D'UN  
MICROBIOLOGISTE:**

**Deux  
ensembles  
de niches  
écologiques  
diverses**



# INTÉRACTIONS INÉVITABLES: HUMAINS ET MICRO-ORGANISMES

- Humain = Être vivant multi-cellulaire complexe
- Cellules = génotype identique mais phénotype variable
- Cellules organisées en organes
- Échanges constants avec l'environnement
  - gazeux, nutrition, excrétion de déchets, voir même l'échange de gamètes
- Relations écologiques
  - Symbiose
  - Mutualisme
  - Commensalisme
  - Parasitisme



# DÉFINITIONS:

- **Microbiote:**
  - L'ensemble des micro-organismes habitant une niche écologique
- **Microbiome:**
  - La capacité de codage génétique de ces micro-organismes
- **Métagénome:**
  - Résultats obtenus par analyse séquençage "shotgun"
- **Métatranscriptome:**
  - Gènes exprimés
- **Métaprotéome:**
  - Protéines produites
- **Métabolome:**
  - Métabolites produits



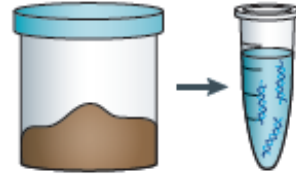


# UNE SCIENCE ENCORE À SON ENFANCE...

- Rendu possible par le séquençage génétique
  - Diverses méthodologies → non comparables
- Études biaisées (sur-représentation pays industrialisés)
- Études analysent principalement les bactéries
  - Ignore les eukaryotes et les virus
- Échantillonnage variable
  - Biopsie muqueuse, vs brosse, vs analyse de la selle



# MÉTHODES D'ANALYSE



Study design, sample collection, storage and DNA/cDNA/RNA extraction

ADN r16S

Shotgun

Marker gene/transcript amplification and sequencing



Metagenomic or metatranscriptomic shotgun sequencing



- Identifie seulement les bactéries
- Moins couteux et plus rapide
- Aucune résolution a/n souches spécifiques

- Identifie les séquences de tous les micro-organismes
- Peut informer sur la présence de cascades métaboliques
- Résolution a/n de la souche



# NOTIONS DE BASE

- Colonisés, grosso modo, par 1000 espèces bactériennes
  - 1.3 cellules bactériennes pour chaque cellule humaine
- Avec 2000 gènes par espèce, 100 fois plus de gènes qu'un être humain
- Seulement 5-7 Phylums bactériens présents
- Chaque individu à un microbiome unique
  - Facteurs environnementaux >> Génétiques
  - Ce microbiome connaît des variations dynamiques
- Différentes niches écologiques = microbiomes différents
- Le microbiome intestinal se stabilise en jeune âge (3 ans)
- Il y a une interaction bilatérale entre immunité et le microbiote
- Nombreuses corrélations établies entre le microbiome, son métabolome et des pathologies des systèmes immuns, endocriniens et nerveux.



# FACTEURS AFFECTANT LE MICROBIOTE

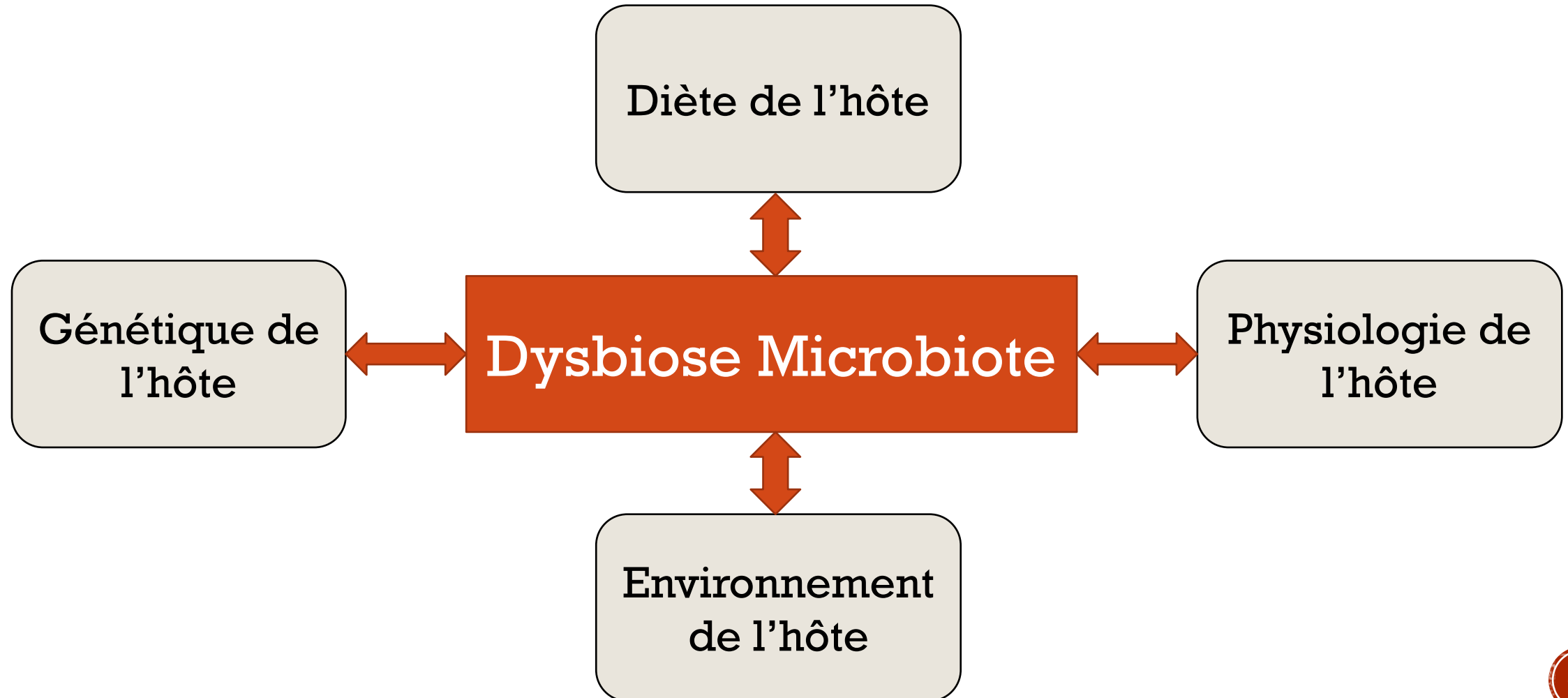


## **Maternal Factors**

- Gut microbiota
- Vaginal infection

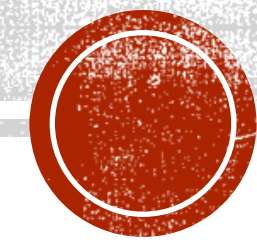


# FACTEURS AFFECTANT LE MICROBIOTE

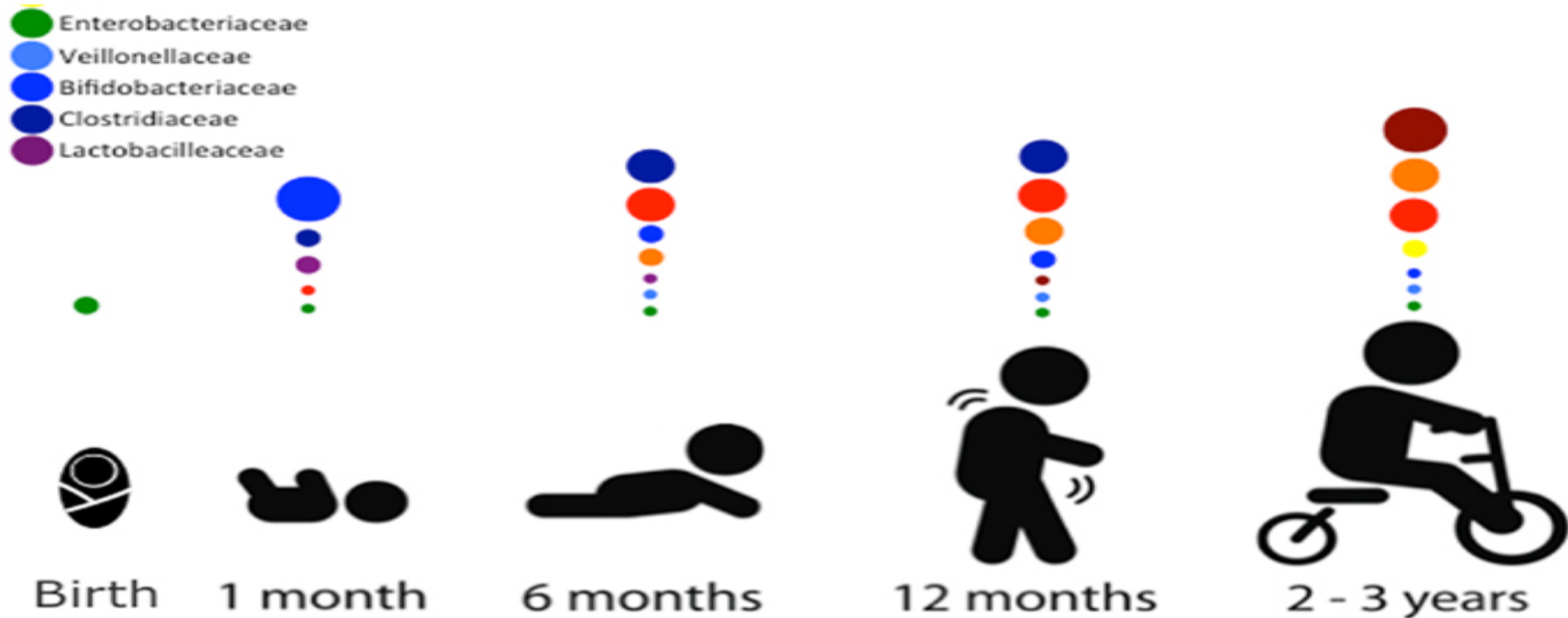


Arthrite Rhumatoïde  
Cholangite Sclérosante  
Stéato Hépatite  
Vaginose Colite Reliée Immunothérapie  
Rhinococonjunctivite  
Arthrite Juvénile  
Autisme  
Colon Irritable  
C. difficile  
Vaginite  
MCAS  
Sclérose en Plaques  
Dbl  
Colite Ulcéreuse  
Lupus Asthme Uvéite  
Atopie  
Spondylite Ankylosante  
Allergies  
Cancer ColoRectal  
Obésité Anxiété  
Crohn's  
Cirrhose Biliaire Primitive

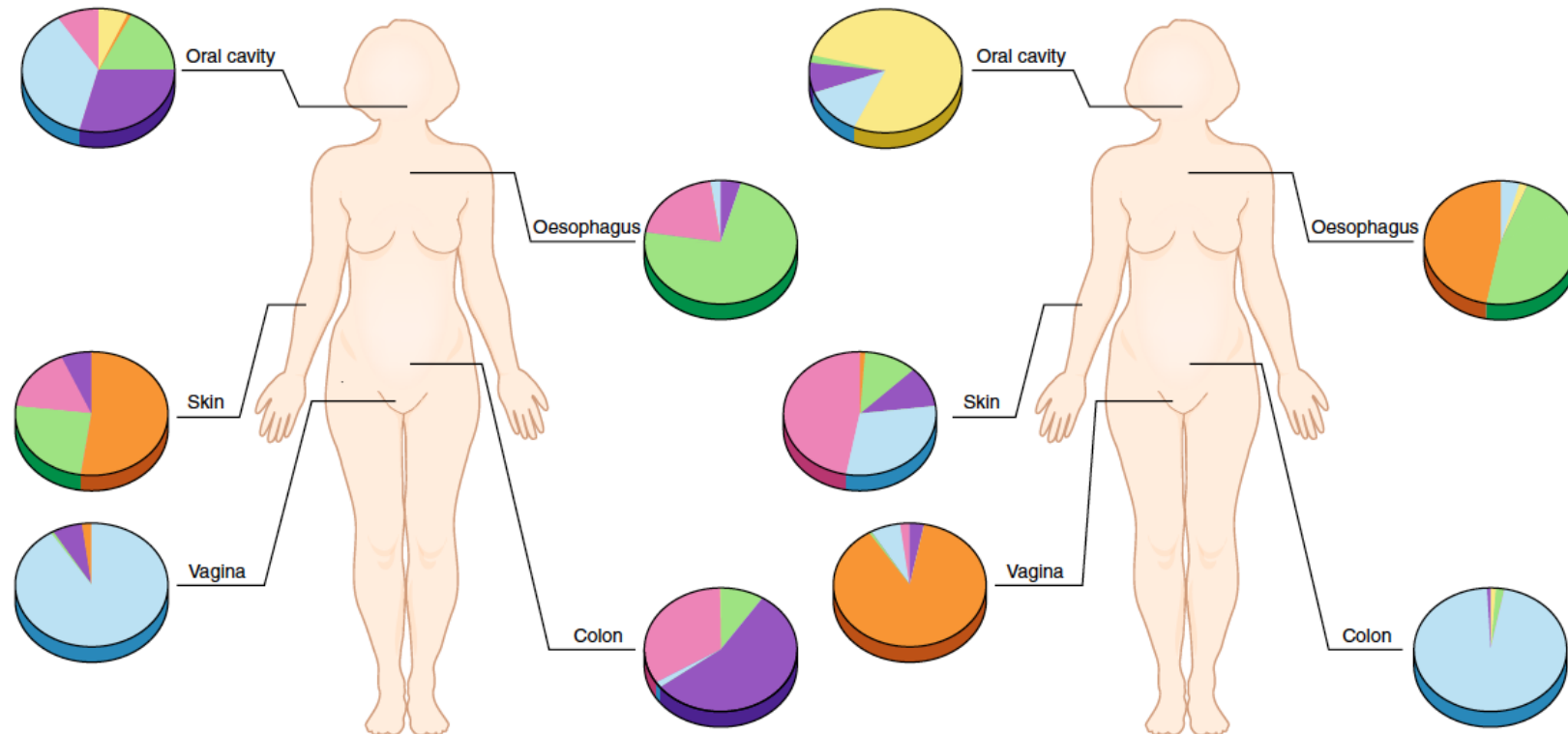
**MALADIES  
ASSOCIÉES  
AU  
MICROBIOTE**



# LE MICROBIOME SE STABILISE EN JEUNE ÂGE



# VARIABILITÉ INTER-INDIVIDUELLE



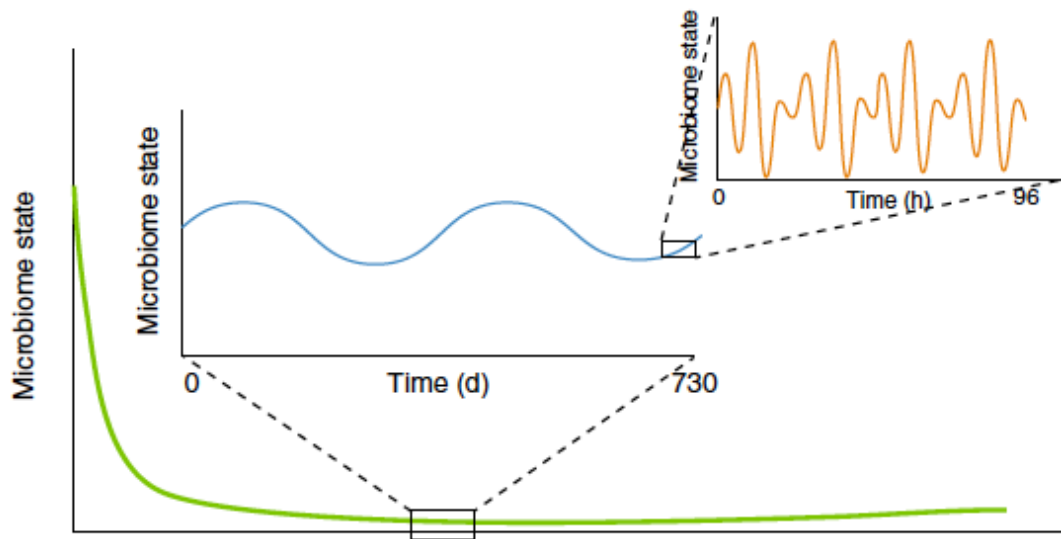
**Figure 1** The human microbiome is highly personalized. Understanding the relevance of the differing microbiota between individuals is confounded by the uniqueness of an individual's microbiome. The different colors in the pie charts represent different kinds of bacteria.



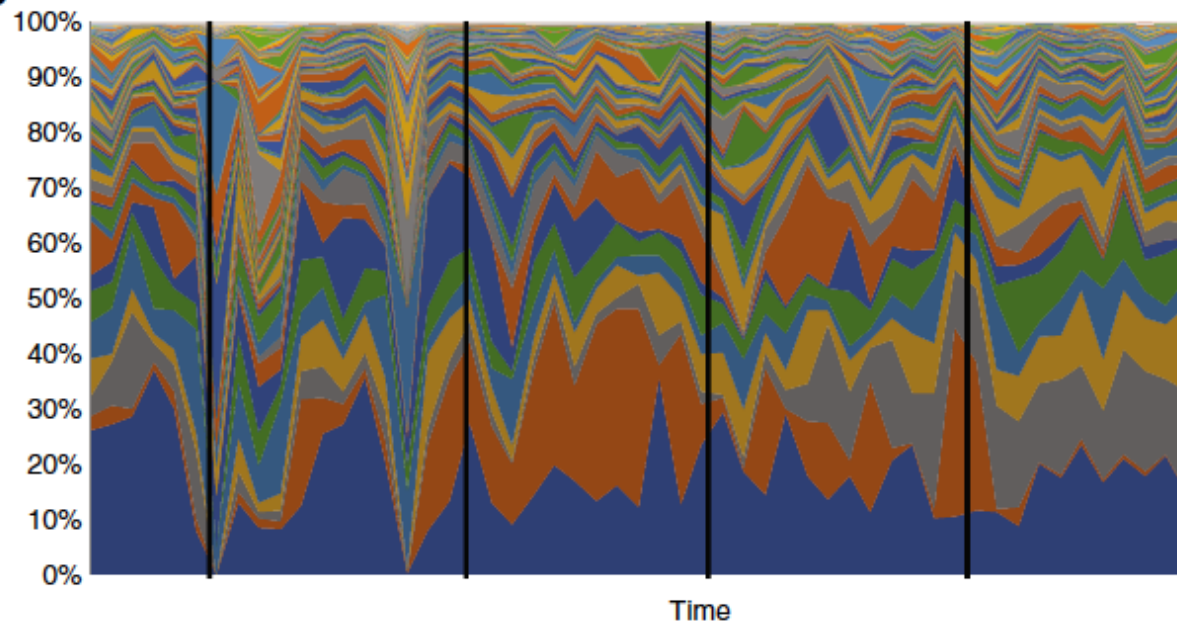


# VARIABILITÉ INTRA-INDIVIDUELLE

**a**

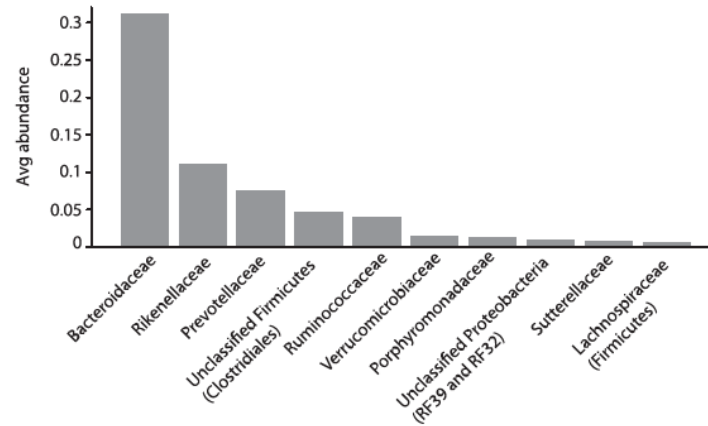


**b**



# MICROBIOME INTESTINAL HUMAN

**A** (454 Pyrosequencing)



**B** (IS-pro)

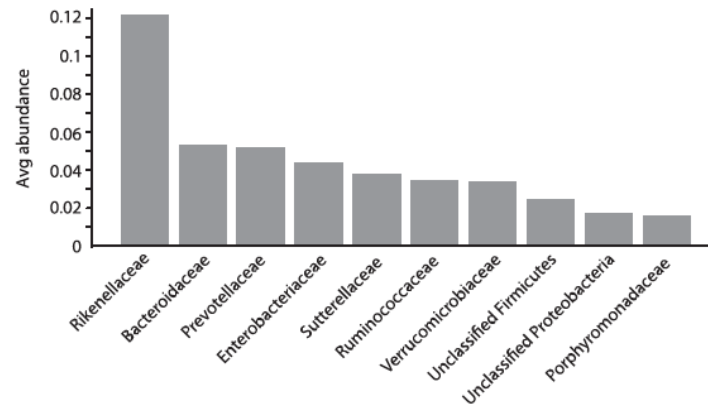


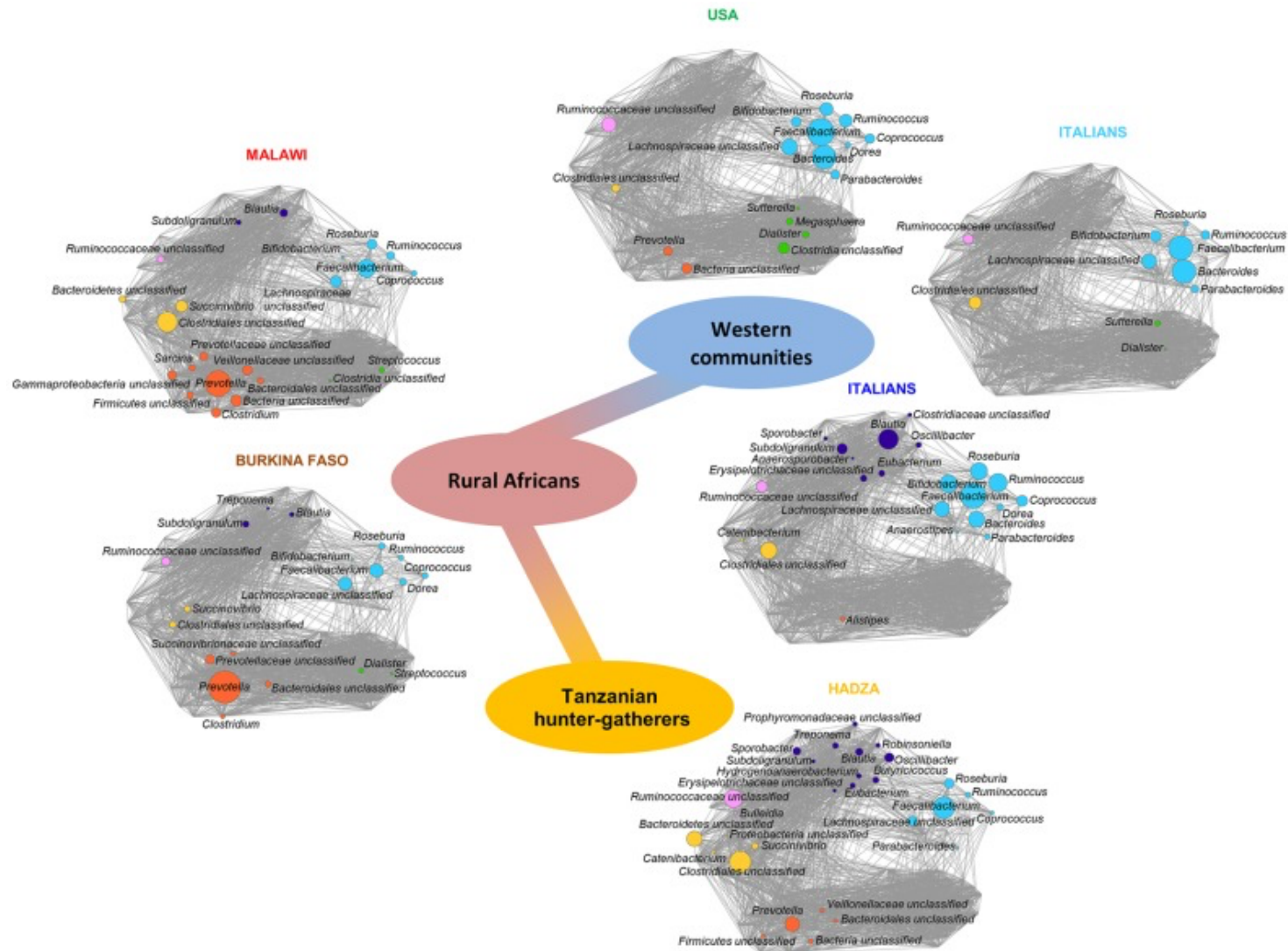
TABLE 2. Matching of 454-sequencing and IS-pro data for identification of core species

Core species	454-Sequencing [prevalence (%)]	IS-pro peaks
<i>Alistipes finegoldii</i>	60/61 (98)	231/396/400/406
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	60/61 (98)	313/318/320
<i>Bacteroides vulgatus</i>	59/61 (97)	479
<i>Alistipes putredinis</i>	58/61 (95)	235
<i>Bacteroides fragilis</i>	58/61 (95)	537
<i>Prevotella</i> spp.	58/61 (95)	437
<i>Odoribacter splanchnicus</i>	56/61 (92)	308
<i>Parabacteroides distasonis</i>	54/61 (89)	464
<i>Sutterella wadsworthensis</i>	53/61 (87)	660–663/871
Unclassified Ruminococcaceae	53/61 (87)	888
Unclassified Firmicute	51/61 (84)	257
<i>Sutterella</i> spp.	50/61 (82)	651
Unclassified Proteobacteria	48/61 (79)	941
Unclassified Firmicute	48/61 (79)	361
<i>Escherichia coli</i>	47/61 (77)	735/828
<i>Bacteroides</i> spp.	46/61 (75)	474
<i>Bacteroides</i> spp.	45/61 (74)	548
Unclassified Firmicute	45/61 (74)	541
<i>Akkermansia muciniphila</i>	43/61 (70)	598/602
Unclassified Firmicute	43/61 (70)	558
Unclassified Proteobacteria	43/61 (70)	747

The most abundant OTUs as detected by 454-pyrosequencing data and their matching to the most common species as found with IS-pro are displayed, including a column displaying prevalence of each taxon.



# LA DIÈTE, LE STYLE DE VIE ET L'ENVIRONNEMENT ONT DES IMPACTS MARQUÉS SUR LE MICROBIOME



# RÔLES “PHYSIOLOGIQUES” DU MICROBIOTE INTESTINAL

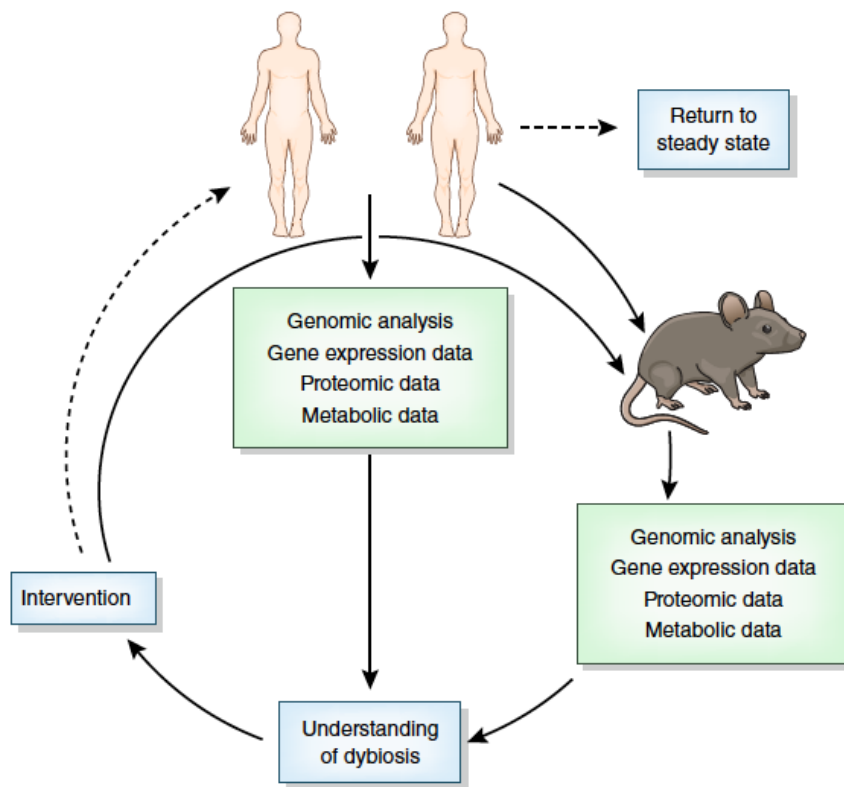
- Synthèse de vitamines (biotine, folate, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, riboflavine, thiamine)
- Métabolisme des fibres indigestibles
- Maturation du système immunitaire et sa maintenance locale et systémique
- Inhibition pathogènes (occupant la niche écologique +/- antimicrobiens sécrétés)
- Communication avec le système nerveux entérique et même central (Gut-brain axis)



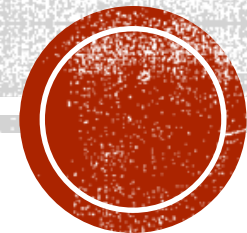
# QU'EST-CE QUI FAIT UN MICROBIOME SAIN???

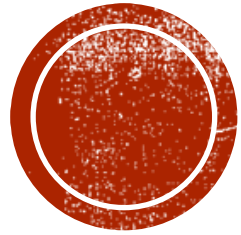
- Diversité?
- Richesse?
- Résistance?
- Résilience?
  
- Est-ce que certaines espèces ont des rôles particuliers?
  - Keystone species
  - Foundation species
  
- Quelle(s) espèce(s) agissent comme biomarqueurs de maladies?





# SCHEMA DE LA RECHERCHE





# MANIPULATION DU MICROBIOME

Approche Écologique

# MODALITÉS D'INTERVENTION

## Prébiotiques

- Fructo-oligosaccharides
- Inuline

## Probiotique souche allochtone

- BioK+

## Probiotique souche autochtone

- B. longus supsp longus

## Synbiotiques

- B. adolescentis + galacto-oligosachharide

## Consortium souches autochtones

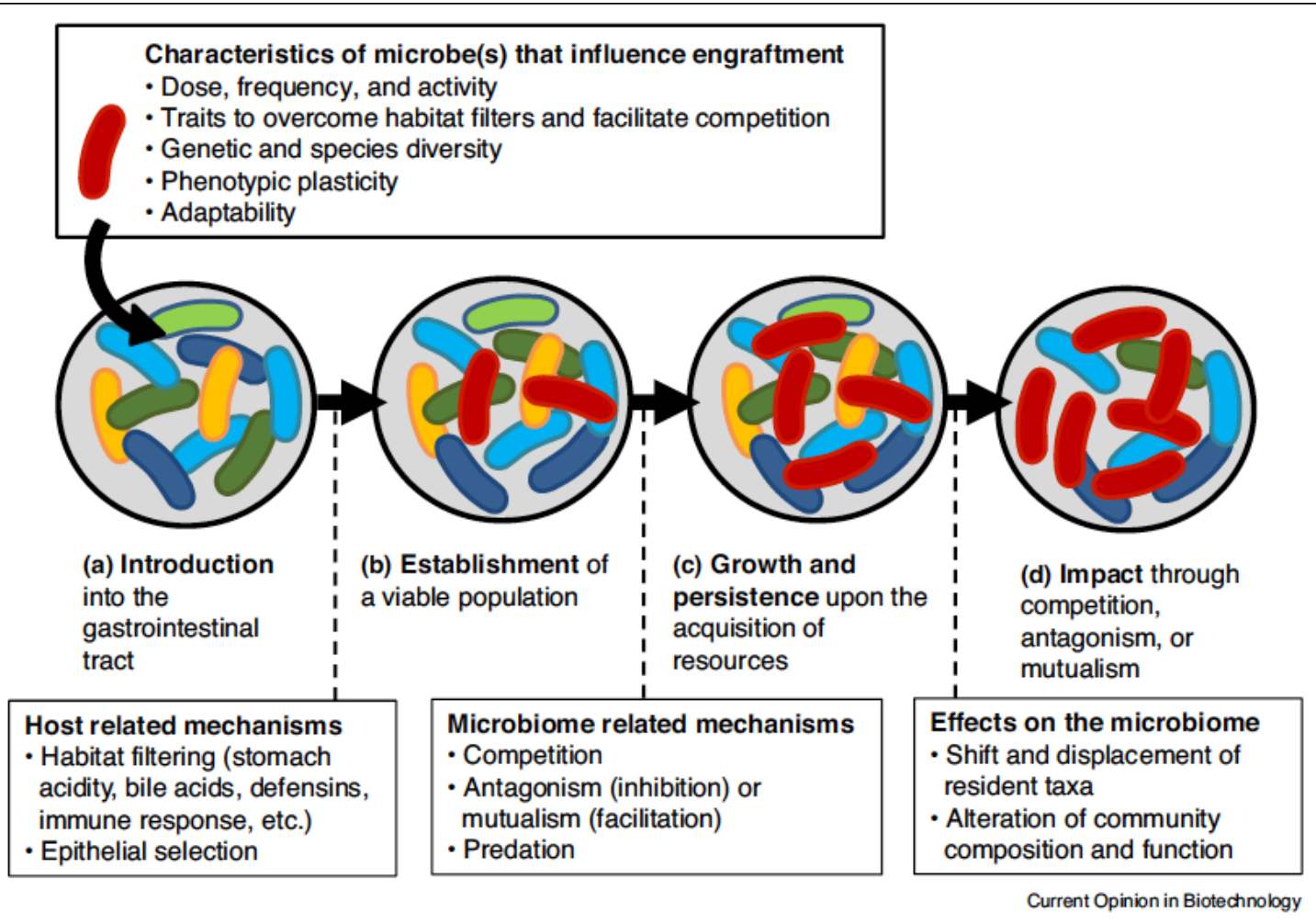
- SER-109

## Transplantation de flore intestinale

- Greffe de Selles (FMT)
- RBX-2660

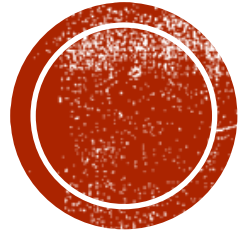






# MODÈLE ÉCOLOGIQUE

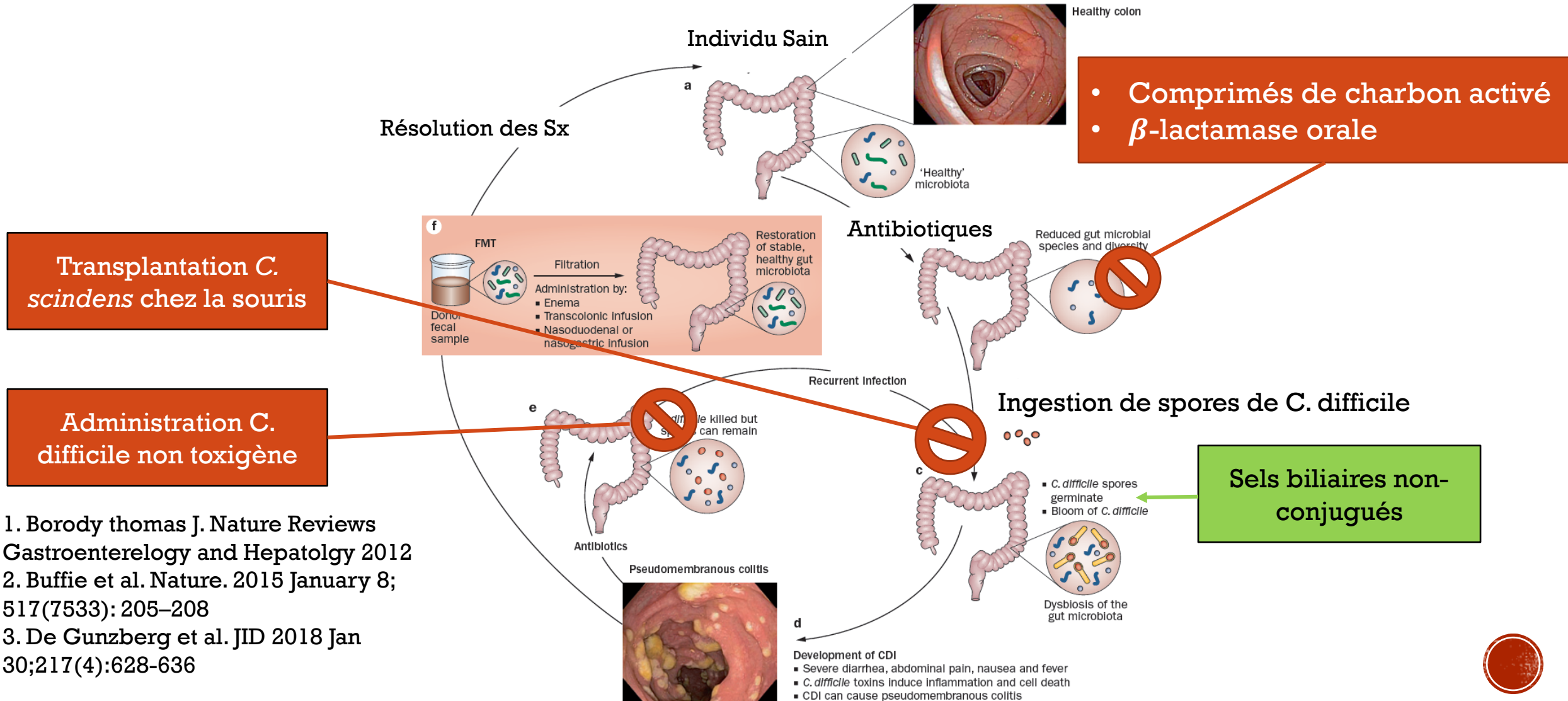




# QUELQUES EXEMPLES D'APPLICATION CLINIQUE

*C. difficile* et MII

# PATHOGÉNÈSE DU *C. DIFFICILE*



1. Borody thomas J. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology 2012
2. Buffie et al. Nature. 2015 January 8; 517(7533): 205–208
3. De Gunzberg et al. JID 2018 Jan 30;217(4):628-636



# ESSAIS CLINIQUES "FMT" EN C. DIFFICILE

Auteur-Journal	Année	N	Intervention	Voie	% Rémission	Stat
Van Nood, Els NEJM	2013	41	FMT vs Vanco (+/- lavage)	TND	81% → 93.8% vs 30.8% et 23.1%	P=0.008
Hota et al. CID	2017	30	FMT vs Vanco taper	Enema	43.8% vs 58.3%	NS
Cammarota et al. Aliment Pharmacol Ther	2015	39	FMT vs Vanco + Pulse	Colono	90% Vs 26%	P < 0.0001
Youngster et al. JAMA	2014	20	FMT	Capsules orales	70% 1 <sup>ere</sup> doses 90% 2 <sup>eme</sup> doses	N/A



# ET LES PROBIOTIQUES ?

- Lignes directrices...
  - SHEA et IDSA : “not recommended”
  - ESCMID : “insufficient evidence to support”
  - ACG : “limited evidence for use”
- Problématiques
  - Peu essais randomisés contrôlés
  - Études unicentriques
  - Reproductibilité non démontrée
  - Différents agents utilisés
  - Indication thérapeutique ?



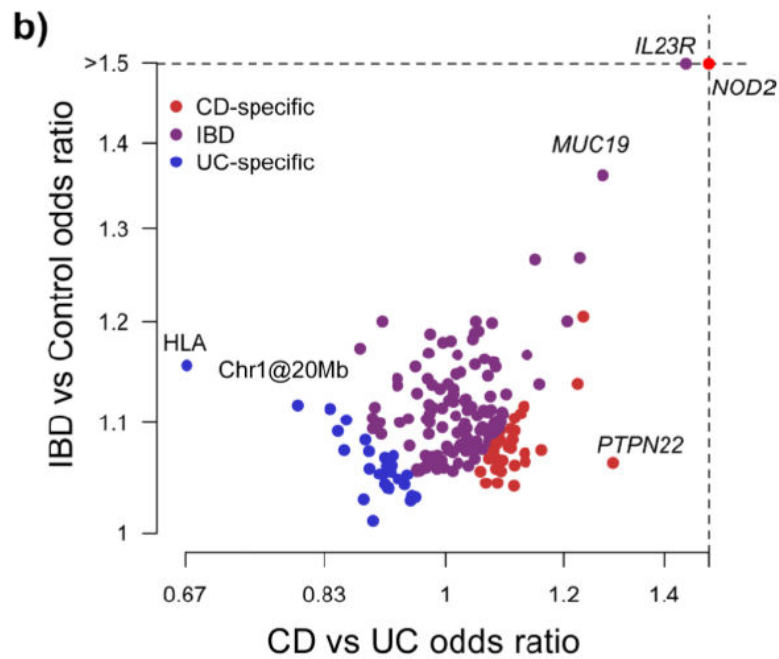
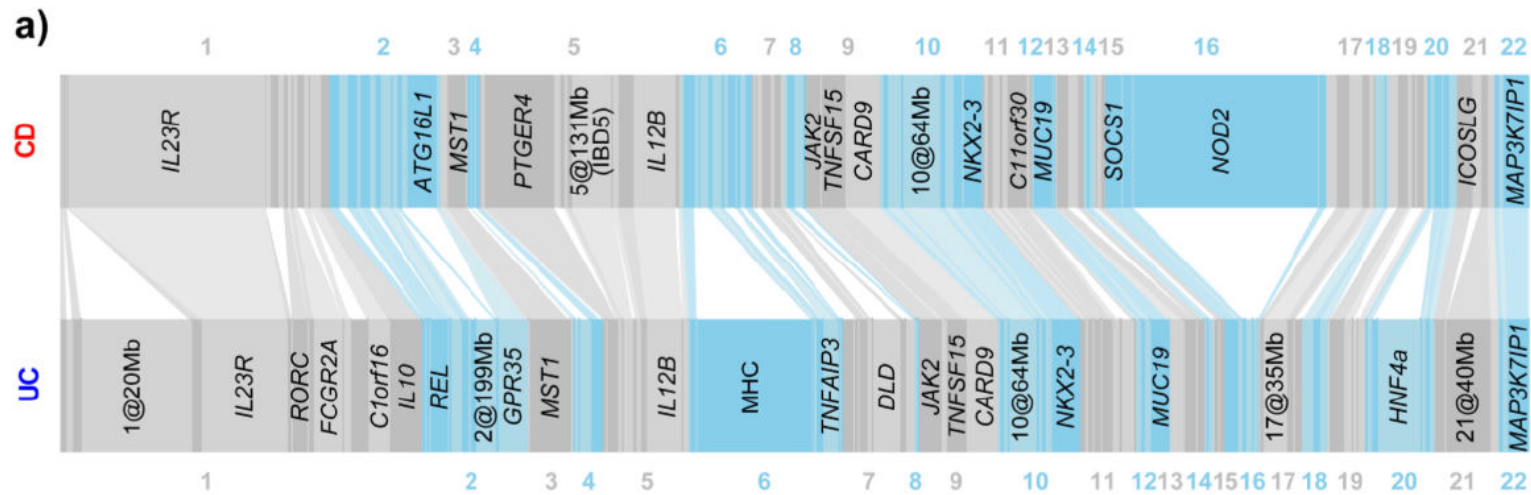
# WHY PAY INTEREST TO THE MICROBIOME IN IBD?

- In animal models of IBD, gut microbiota is essential in inducing inflammation
- Diversion of the fecal stream has been shown to improve symptoms for Crohn's disease
- Antibiotics have been shown to be helpful in certain situations ( anal fistula, post-operative recurrence, pouchitis)
- IBD susceptibility genes mainly involve microbe processing, T cell function and mucosal barrier function
- The recent increased prevalence in IBD cannot be explained by genetics alone (diet? ; hygiene?)
- Microbiome studies have shown dysbiosis associated to IBD

1. Matsuoka et al. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Semin Immunopathol* 2015; 37: 47-55

2. Jostins et al. *Nature*. 2012. November 1; 491 (7422): 119-124

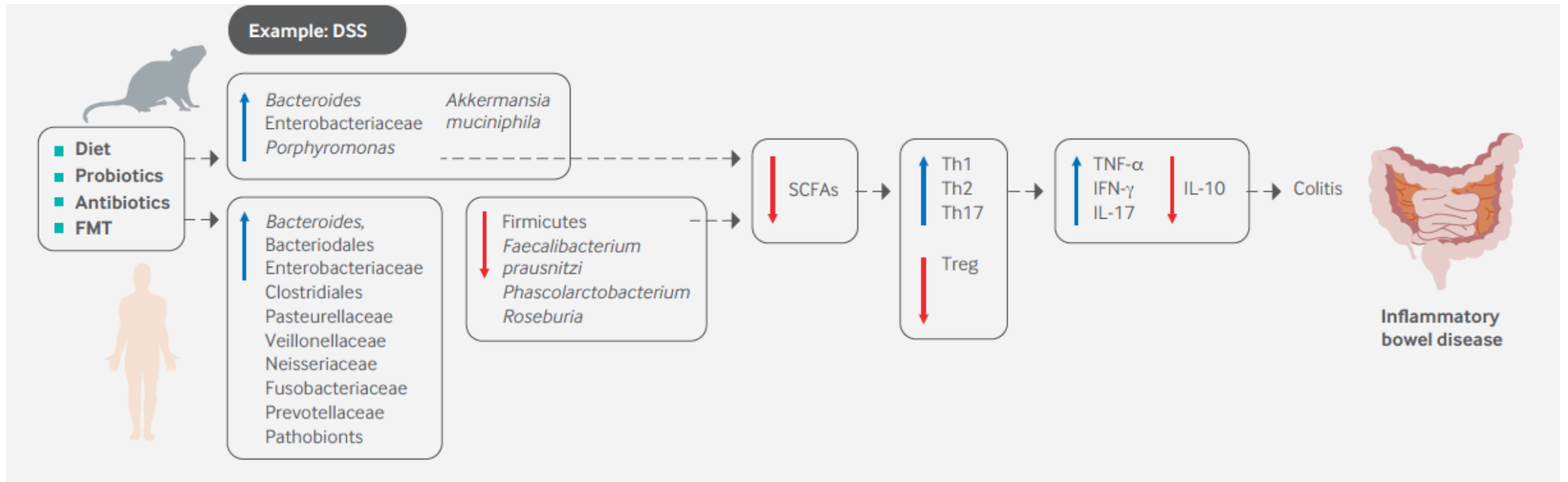




- Genome wide analysis has revealed around 200 different genetic loci associated with IBD
- They only account for 13.1% and 8.2% of the variance in disease liability for Crohn's disease and ulcerative colitis respectively



# RÔLE MICROBIOTE DANS MII



Clemente et al. BMJ 2018;360:j5145

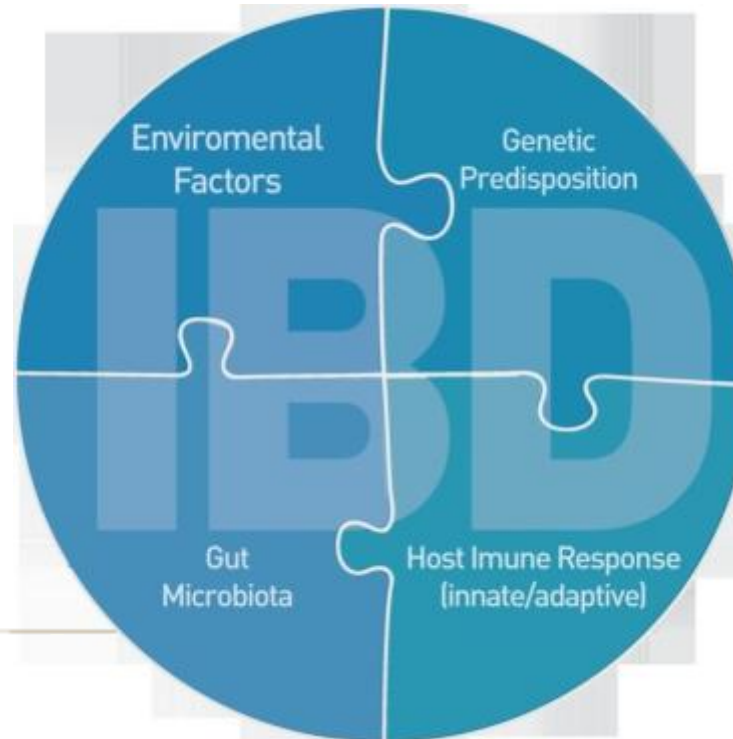




# IBD PATHOGENESIS AND TREATMENT

- An aberrant immune response against the gut microbiota triggered by environmental factors in a genetically susceptible host

- Diet / Prebiotics
- Probiotics ?
- FMT ?
- Antibiotics



5-ASA,  
prednisone,  
azathioprine,  
anti TNF-  
alpha



# FMT POUR LA MII

- Meta-analyse (18 études, un ERC)
- Total de 122 pts ( 79 avec CU, 39 Crohn's, 4 ?)
- Au total: 45% rémission clinique (54 / 119)
  - Études de cohorte: 36.2% rémission
  - Colite ulscéreuse: 22% rémission
  - Crohn's: 60.5% rémission
- Conclusions
  - Haut risque de biais
  - Aucun effet adverse sévère
  - ERC requis avec données sur le microbiote



# FMT POUR CU: ÉTUDE MOAYEDDI

- Randomised controlled trial
- Weekly 50ml FMT for 6 weeks vs placebo water enema
- N=70 (36 FMT, 34 placebo)
- Clinical remission 24% vs 5% favoring FMT (p=0.03)
- Treatment success with donor B 39% vs 10% with other donors (p=0.06)
- Increased response of FMT with immunosuppression 5/11 (46%) vs 4/27 without (15%)
- Recent diagnosis (<1 year) 3/4 responded (75%) vs 6/34 (18%) for chronic disease (p=0.04)
- Conclusion: First randomised trial to demonstrate that FMT can be efficacious in UC



# FMT POUR CU: ÉTUDE ROSSEN

- Randomised controlled trial
- 2 donor vs autologous FMT via nasogastric tube at 3 week interval
- N=48 (23 donor, 25 autologous)
- Clinical and endoscopic remission 30.4% for donor stool vs 20% for autologous FMT (p=0.51)
  - In the per-protocol analysis 41.2% vs 25% (p=0.29)
- Donor FMT responders shifted towards microbiota profiles of their donors
- Autologous FMT responders also shifted their microbiota
- Conclusion: Negative study, further research warranted



# PIPELINE D'INTERVENTIONS CD/MII

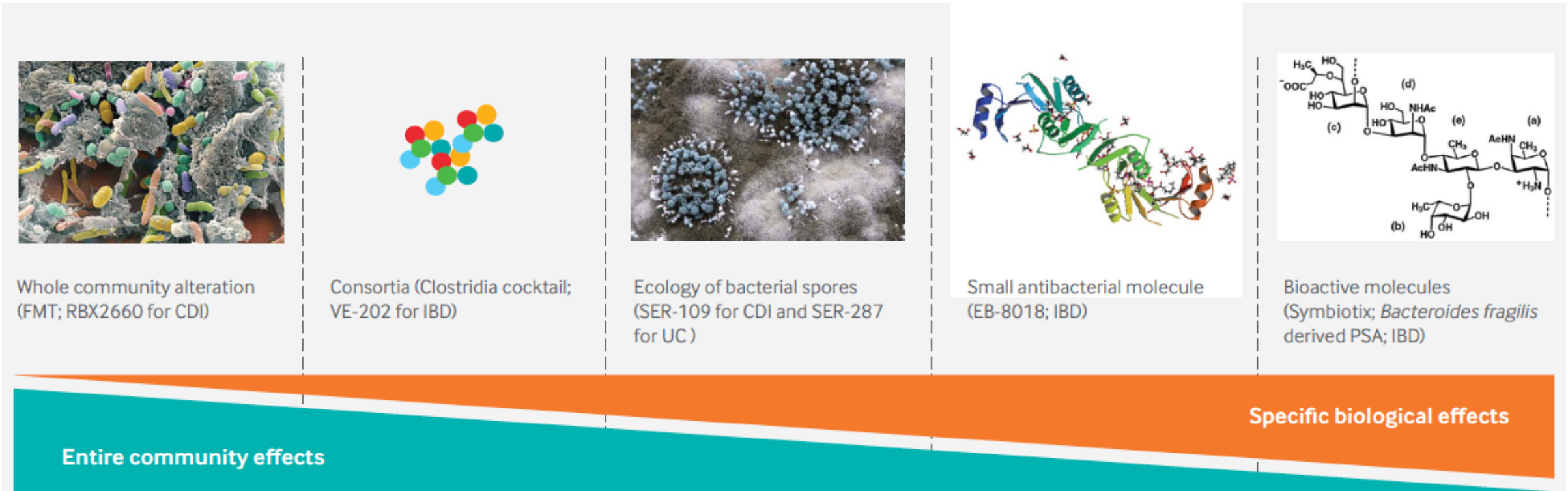


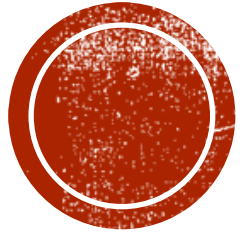
Fig 2| Therapeutic strategies in pipeline to alter properties of microbiome. Various approaches in development and spectrum of microbiota modulation ranging from entire communities to individual species/strains and bioactive molecules



# CONCLUSION

- It's a Brave New World!
- L'intégration des données du microbiome dans l'évaluation des maladies est rien de moins qu'une révolution
- Le futur repose sur des interventions adéquatement ciblées
- Attention à la frénésie qui entoure les produits actuellement sur le marché
- Il reste encore plus de questions que de réponses dans ce domaine





**MERCI**

Questions?

# **LIEN VERS LE DOCUMENTAIRE DE “DÉCOUVERTE” PRÉSENTÉ 2015-09**

<https://www.youtube.com/watch?v=6ZIIgNoSrPY>

