

Effet de barrière du microbiote: symbiose et antibiose

Philippe J Sansonetti

Leçon #1

06 décembre 2017



Chaire de Microbiologie
et Maladies Infectieuses





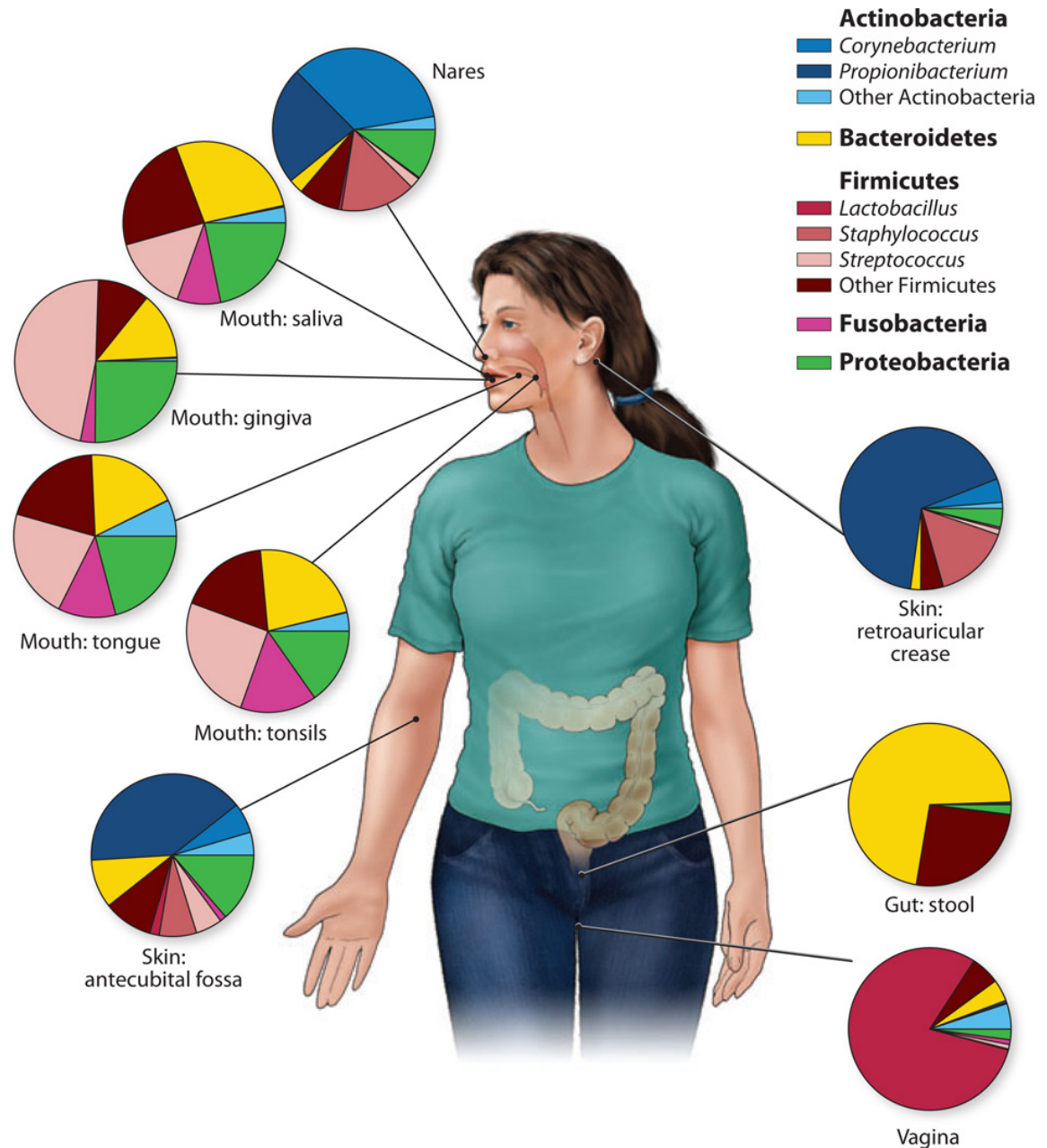
Séminaire:

Dr Eric Cascales (LISM, CNRS / UMR7255, Marseille)

Guerres intestines: le système de sécrétion de type 6,
un atout dans la course aux armements bactérienne

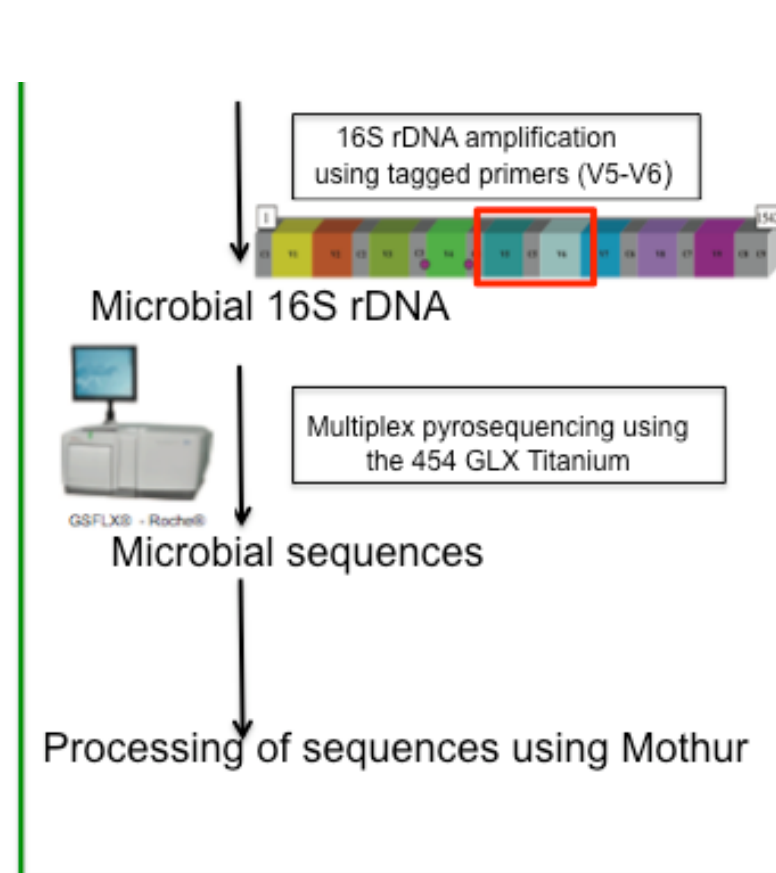
Le(s) microbiote(s) de l'organisme humain

Chacun des sites corporels correspond à une niche écologique spécialisée et caractérisée par ses propres consortia microbiens, des dynamiques communautaires différentes et des interactions étroites avec les tissus



Seulement 60 % des espèces bactériennes du microbiote intestinal peuvent être cultivées
"The great plate anomaly"

Diagnostic moléculaire utilisant les gènes codant l'ARN ribosomal 16S (16S rRNA) (Woese et al., 1977.PNAS)



Direct Analysis of Genes Encoding 16S rRNA from Complex Communities Reveals Many Novel Molecular Species within the Human Gut

ANTONIA SUAU,^{1,2*} RÉGIS BONNET,² MALÈNE SUTREN,¹ JEAN-JACQUES GODON,³
GLENN R. GIBSON,² MATTHEW D. COLLINS,² AND JOEL DORÉ¹

Laboratoire d'Ecologie et Physiologie du Système Digestif, Institut National de la Recherche Agronomique, 78352 Jouy-en-Josas Cedex,¹ and Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement, Institut National de la Recherche Agronomique, 11100 Narbonne,³ France, and Department of Food Science and Technology, University of Reading, Whiteknights, Reading, RG6 6AP United Kingdom²

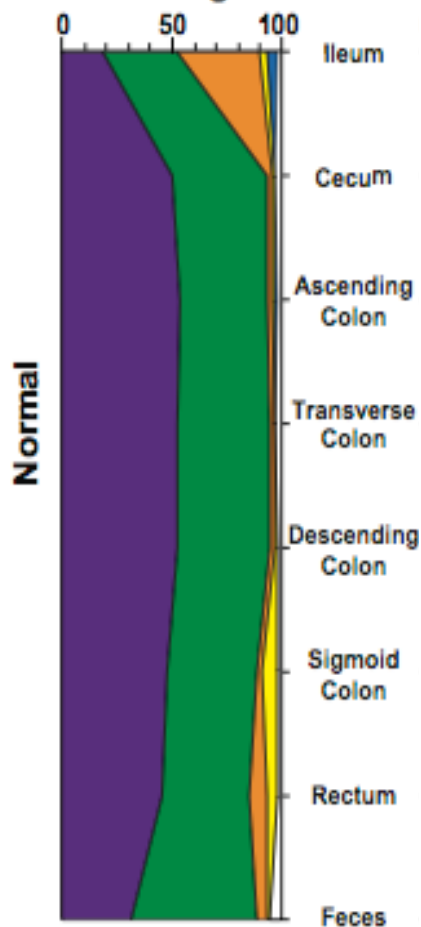
Received 12 April 1999/Accepted 31 August 1999



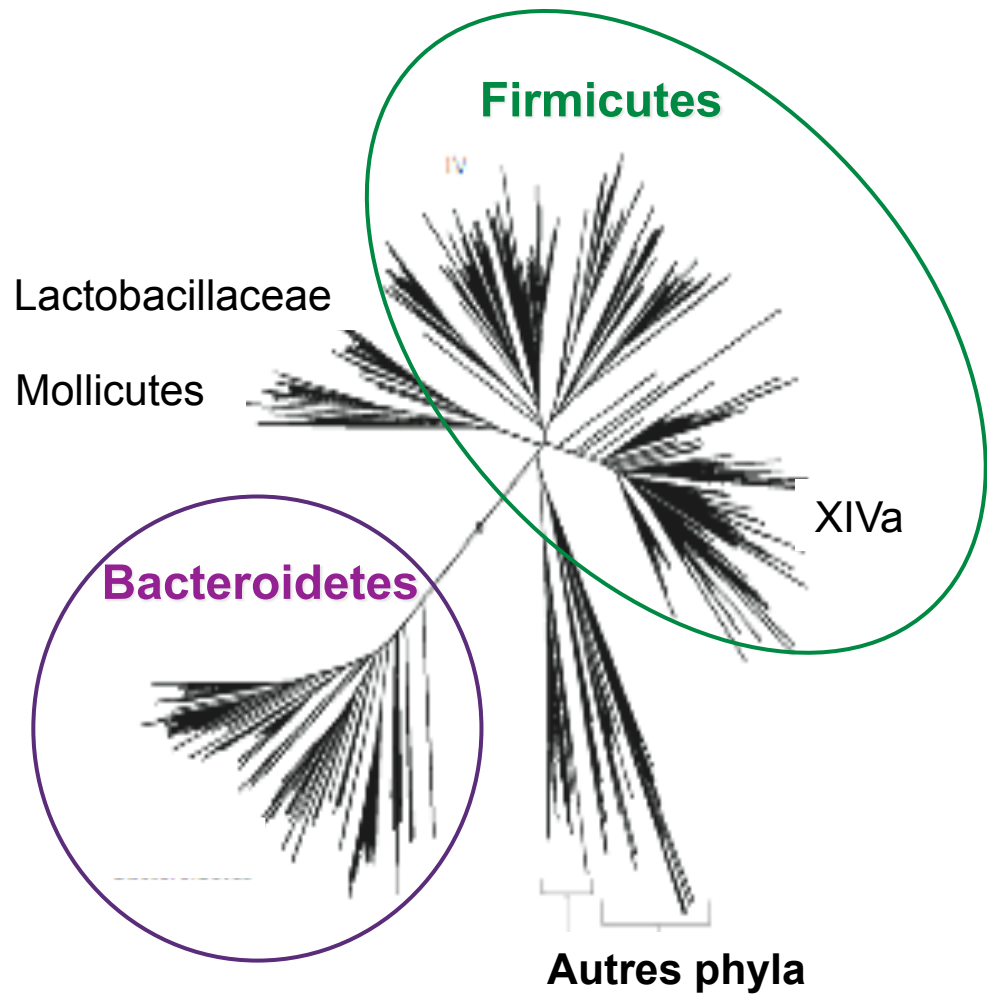
The human intestinal tract harbors a complex microbial ecosystem which plays a key role in nutrition and health. Although this microbiota has been studied in great detail by culture techniques, microscopic counts on human feces suggest that 60 to 80% of the observable bacteria cannot be cultivated. Using comparative analysis of cloned 16S rRNA gene (rDNA) sequences, we have investigated the bacterial diversity (both cultivated and noncultivated bacteria) within an adult-male fecal sample. The 284 clones obtained from 10-cycle PCR were classified into 82 molecular species (at least 98% similarity). Three phylogenetic groups contained 95% of the clones: the *Bacteroides* group, the *Clostridium coccoides* group, and the *Clostridium leptum* subgroup. The remaining clones were distributed among a variety of phylogenetic clusters. Only 24% of the molecular species recovered corresponded to described organisms (those whose sequences were available in public databases), and all of these were established members of the dominant human fecal flora (e.g., *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Fusobacterium prausnitzii*, and *Eubacterium rectale*). However, the majority of generated rDNA sequences (76%) did not correspond to known organisms and clearly derived from hitherto unknown species within this human gut microflora.

Microbiote intestinal humain

Percentage of bacteria in gut habitat



Majorité des bactéries intestinales: **Firmicutes**, surtout clusters XIVa et IV comprenant des bactéries Gram+ de bas GC%, sensibles à l'oxygène (EOS), largement incultivables
Bacteroidetes = bactéries anaérobies à Gram -



- Microbiote résident = 1000 espèces, 10x nombre de cellules somatiques et germinales (10^{14})

- Le microbiote a une activité métabolique égale à un organe supplémentaire comme le foie (Bocci, 1992).

Protéobactéries (Enterobactéries, Desulfovibrio, Akkermansia)

Actinobactéries (Bifidobactéries)

Archebactéries

(Methanobrevibacter, methanogenesis)

Microbiote intestinal humain

Le microbiote intestinal humain est dominé par cinq phyla (**Firmicutes**, **Bacteroidetes**, Actinobacteria, Proteobacteria et Verrucomicrobia) et un phylum d'Archaeobactérie (Euryarchaeota). Les groupes bactériens moins prévalents sont répartis parmi les phyla suivants: Cyanobacteria, Fusobacteria, Lentisphaerae, Spirochaetes et TM7.

Firmicutes. Ce phylum inclus Ruminococcus, Clostridium, Lactobacillus (plusieurs sont des probiotiques), des Eubacteries productrices de butyrate: Faecalibacterium, Roseburia.

Bacteroidetes. Ce phylum inclut les Bacteroides, Prevotella et Xylanibacter qui dégradent une série de glycanes complexes.

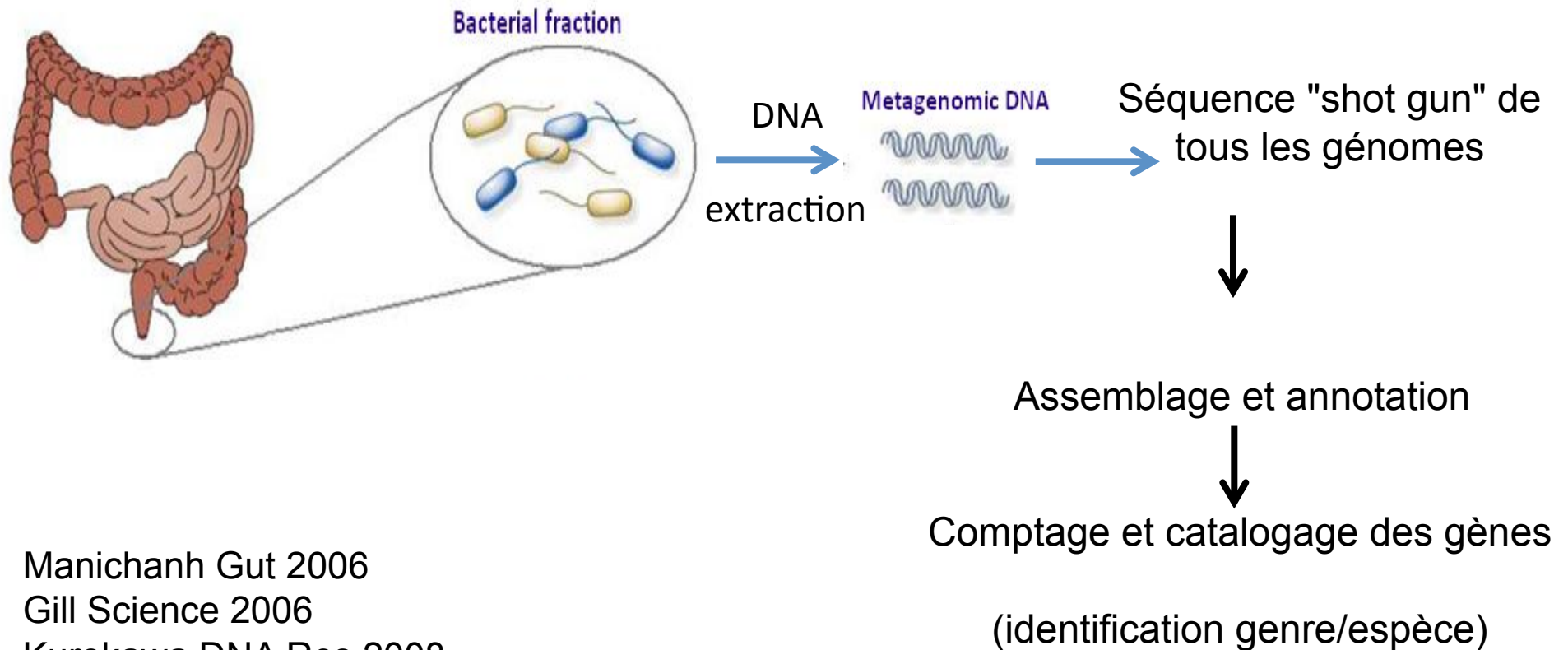
Actinobacteria. Ce phylum inclut Collinsella et Bifidobacterium (comprenant des souches probiotiques).

Proteobacteria. Ce phylum inclut les Escherichia (famille des Entérobactéries) et Desulfovibrio (bactéries sulfo-réductrices), Verrucomicrobia (récemment découvert) et Akkermansia (dégradation des mucines).

Euryarchaeota. Ce phylum contient Methanobrevibacter (un genre très prévalent impliqué dans la méthanogénèse intestinale).

Metagénomique intestinale humaine: du microbiote au microbiome

Le métagénome est constitué de la combinaison de tous les génomes des microbes présents dans un écosystème



Manichanh Gut 2006

Gill Science 2006

Kurokawa DNA Res 2008

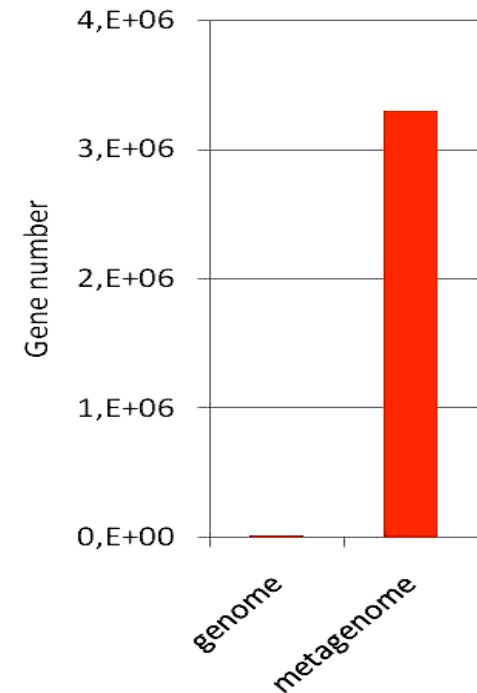
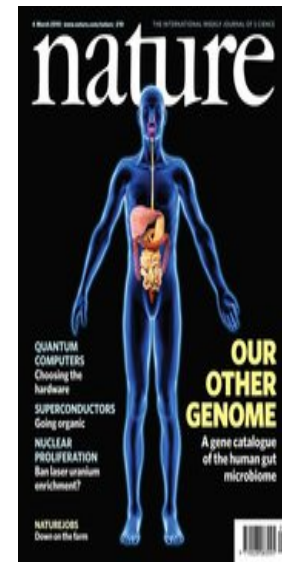
Manichanh Nucl Acids Res 2008

De la séquence du génome humain à la métaséquence du microbiome intestinal humain

- Publication de la première séquence d'un génome humain: 2001 (International Human Genome Sequencing Consortium; Venter et al., 2001)
- Publication de la première métaséquence de microbiomes humains: (MetaHit Consortium; Quin et al. 2010. Nature)



Coordination: Dusko Ehrlich
<http://www.metahit.eu>



Métagénome bactérien de l'intestin humain

Séquençage à haut débit de l'ADN d'échantillons de selles de 124 sujets européens (Danemark, Espagne)

Analyse bioinformatique de 5 milliards de "reads" courts.

Identification de 3,3 millions de gènes = 150 x nb. de gènes du "premier génome"

1000 espèces environ (maintenant 9 millions...)

Métagénomique = vision élargie de l'interaction hôte-microbes: santé et maladie

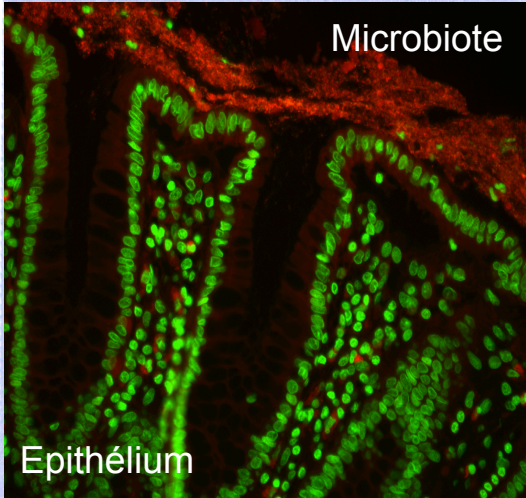
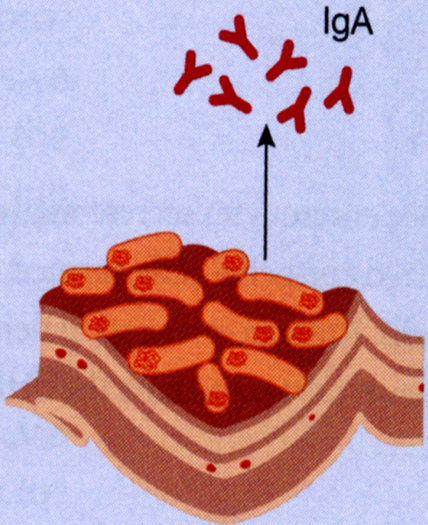
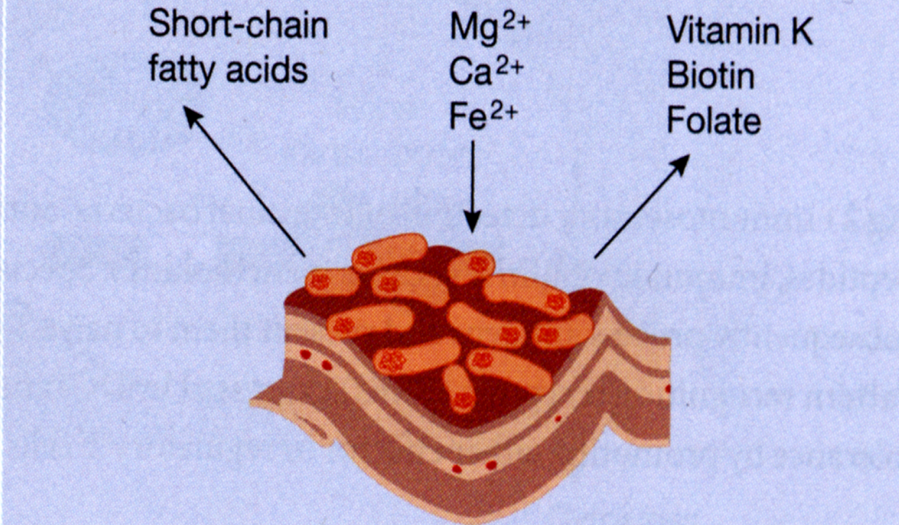
Séquençage de nouvelle génération et bioinformatique ont aidé à positionner le microbiote intestinal comme possible moteur de la santé et de la maladie chez l'homme

Vrai changement de paradigme entre une vision focalisée sur un processus "un – contre - un" du conflit hôte pathogène à une interaction plus large et complexe de communautés microbiennes multi-espèces en interface avec leur hôte en conditions d'homéostasie – réflexion de la co-évolution – ou en conditions pathologiques aiguës / chroniques en réponse :

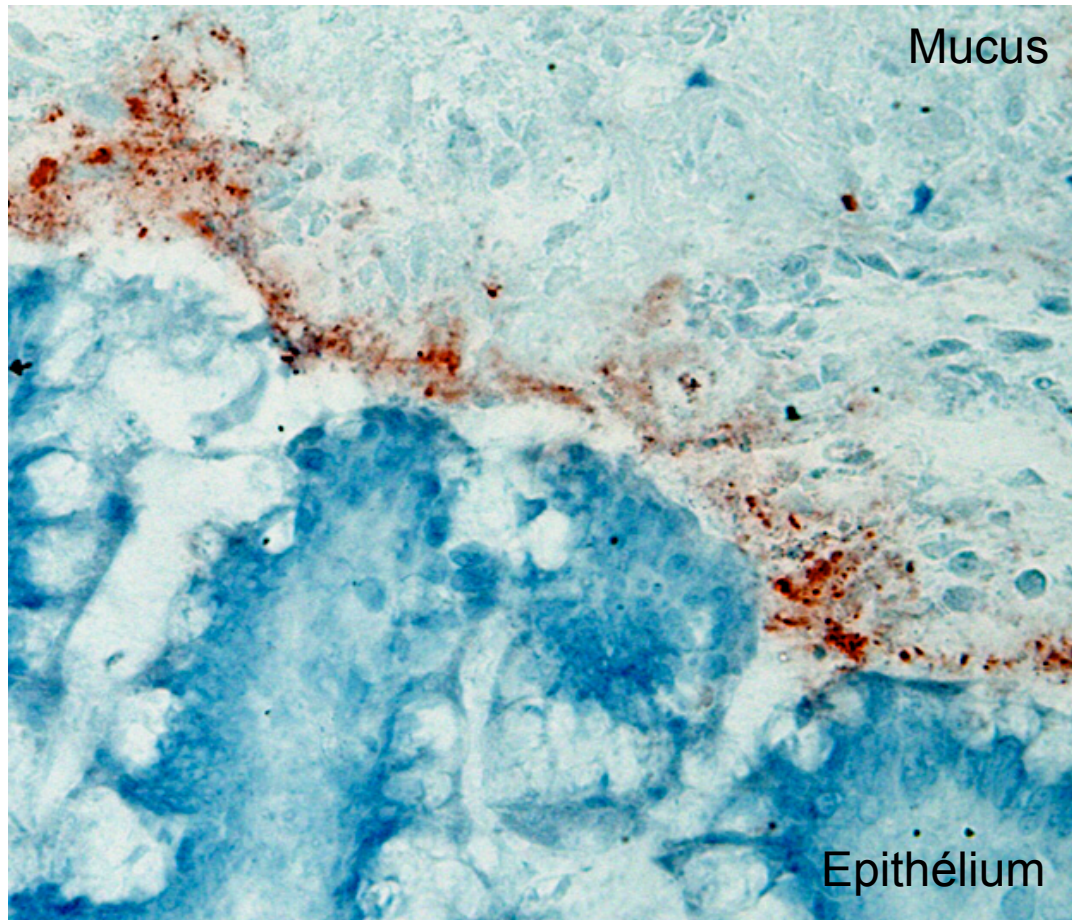
- A la constitution d'une dysbiose
- A la rupture de l'effet de barrière par un pathogène ou un pathobiotte



Fonctions fournies par le microbiote intestinal à son hôte

Protective functions	Structural functions	Metabolic functions	
Pathogen displacement Nutrient competition Receptor competition Production of anti-microbial factors e.g., bacteriocins, lactic acids	Barrier fortification Induction of IgA Apical tightening of tight junctions Immune system development	Control IEC differentiation and proliferation Metabolize dietary carcinogens Synthesize vitamins e.g., biotin, folate	Ferment non-digestible dietary residue and endogenous epithelial-derived mucus Ion absorption Salvage of energy
 <p>Microbiote</p> <p>Epithélium</p>	 <p>IgA</p>	 <p>Short-chain fatty acids</p> <p>Mg^{2+} Ca^{2+} Fe^{2+}</p> <p>Vitamin K Biotin Folate</p>	

Vie bactérienne à la surface de la muqueuse intestinale "comme être assis sur un volcan..."



Peptide cationique antimicrobien hBD3

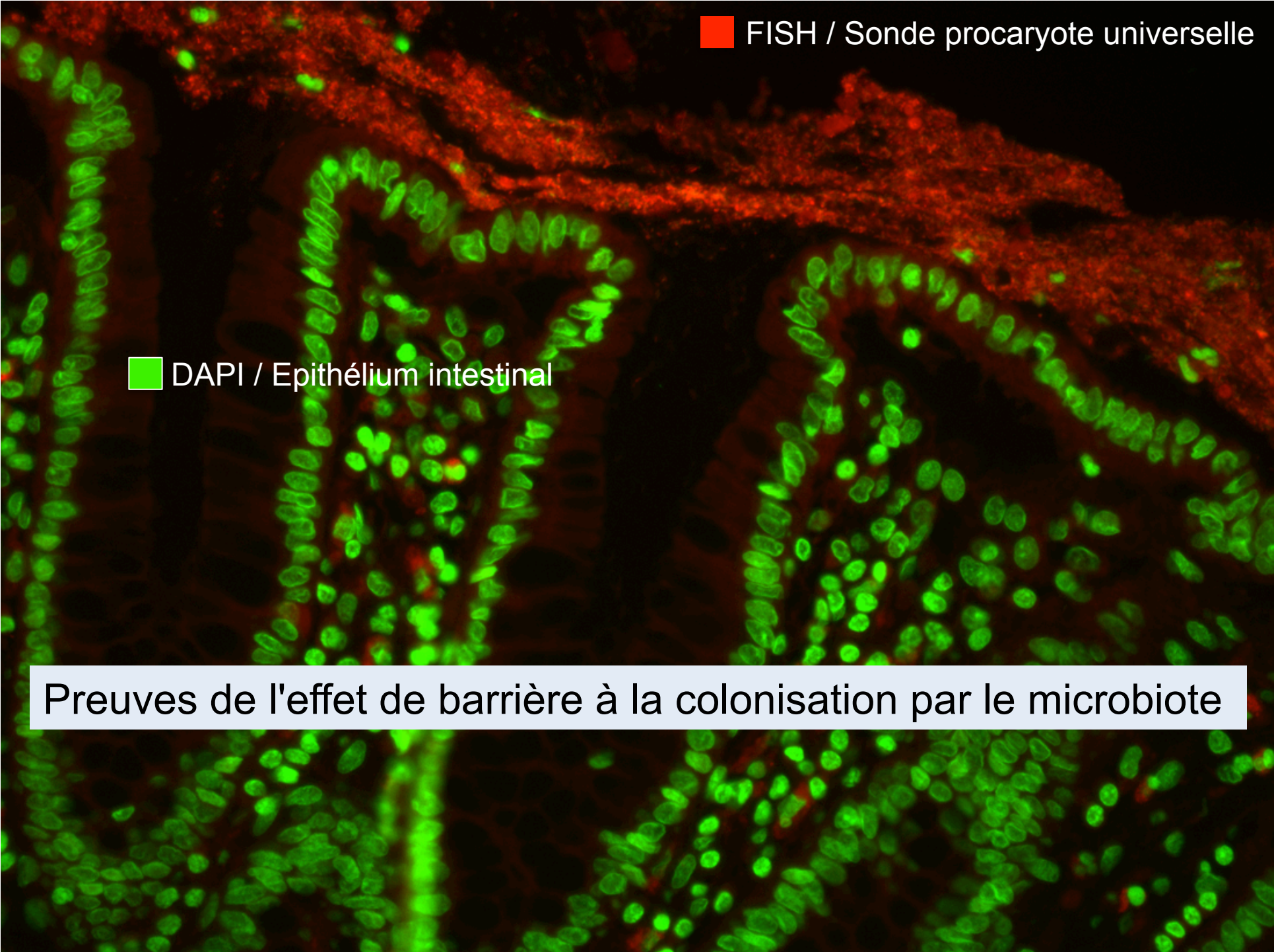


Sansonetti, 2004, Nature Rev. Immunol.
Sansonetti, 2006, Nat. Immunol.
Sansonetti & Di Santo, 2007, Immunity
Sansonetti, 2011, Mucosal Immunology

Symbiotes: survivent à distance ou dans niches, échappent/régulent défenses: **tolérance**
Pathogènes: engagent la barrière épithéliale + subversion immunité
- résistent/dégradent effecteurs
- bloquent signaux de danger
- modifient (post-translational) molécules signaux immunité

↑
O₂, NO, ROS
Peptides antimicrobiens
Lysozyme, protéases,
lectines, phospholipases
Phagocytes (transmigration)
sIgA

Kim et al., PNAS, 2005
Arbibe et al., Nature Immunol., 2007
Sperandio et al., J. Exp. Med., 2008
Marteyn et al., Nature, 2010
Konradt et al., Cell Host Microbe, 2011
Puhar et al., Immunity, 2013



■ FISH / Sonde procaryote universelle

■ DAPI / Epithélium intestinal

Preuves de l'effet de barrière à la colonisation par le microbiote

La présence de communautés complexes établies rend difficile l'invasion de la niche intestinale par une bactérie allogène/pathogène

L'utilisation d'animaux axéniques, ou un pré-traitement antibiotique, induit une plus grande sensibilité de la souris à des bactéries pathogènes comme *E. coli*, *C.difficile*, *V. cholerae*, *C. rodentium* (Reeves & coll., 2012, Infect Immun; Collins & coll., 1978, Infect Immun; Butterton & coll., 1996, Infect Immun; Kamada & coll., 2012, Science)

LETTER

doi:10.1038/nature12503

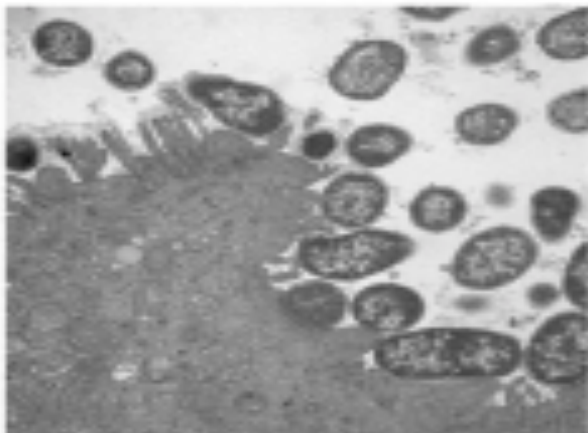
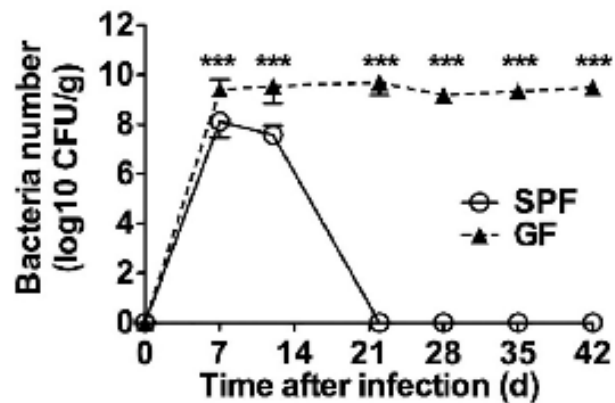
Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens

Katharine M. Ng^{1*}, Jessica A. Ferreyra^{1*}, Steven K. Higginbottom¹, Jonathan B. Lynch¹, Purna C. Kashyap^{1†}, Smita Gopinath¹, Natasha Naidu², Biswa Choudhury², Bart C. Weimer³, Denise M. Monack¹ & Justin L. Sonnenburg¹

L'altération de la flore commensale de la souris par un traitement antibiotique entraîne la libération de fortes concentrations d'acides sialiques libres que *S. typhimurium* et *C. difficile* catabolisent et utilisent comme source d'énergie (Nature, 2013).

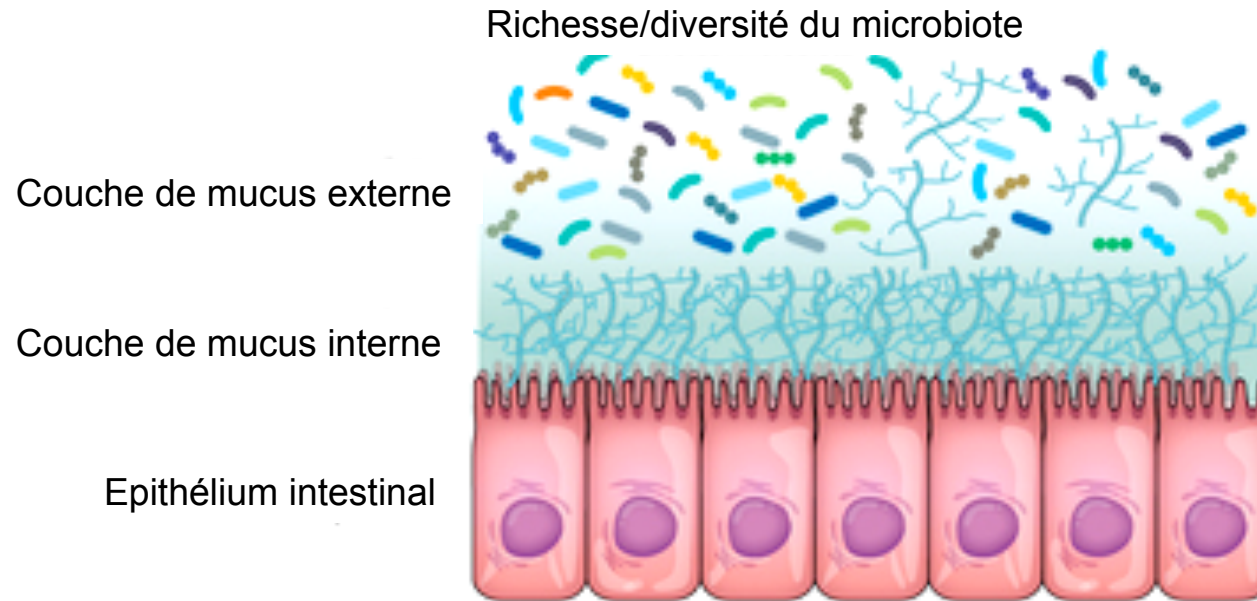
Regulated Virulence Controls the Ability of a Pathogen to Compete with the Gut Microbiota

Nobuhiko Kamada¹, Yun-Gi Kim¹, Ho Pan Sham³, Bruce A. Vallance³, José L. Puente⁴, Eric C. Martens², and Gabriel Núñez¹

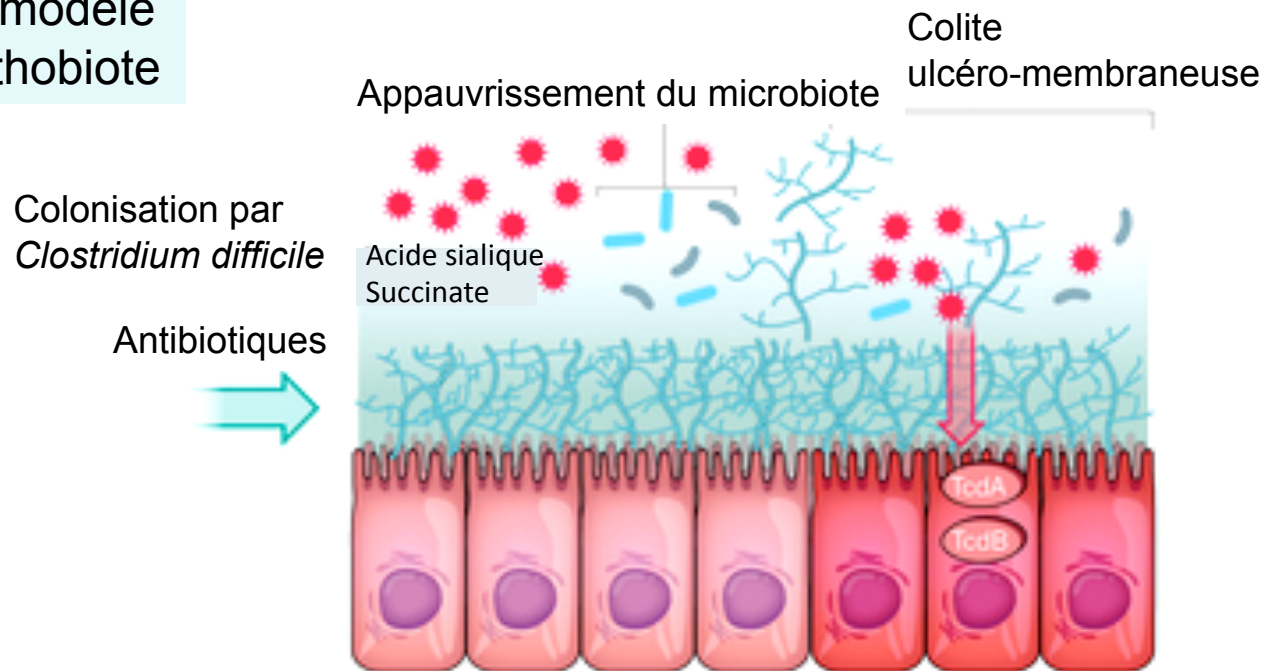


Le microbiote est requis pour l'éradication de *Citrobacter rodentium*
Infection orale avec 10⁹ cfu de *C. rodentium*

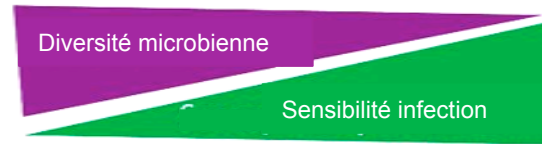
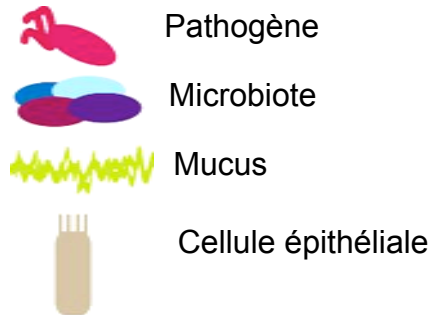
Antibiotiques, appauvrissement du microbiote, colite à *C. difficile*



Autre modèle de pathobio

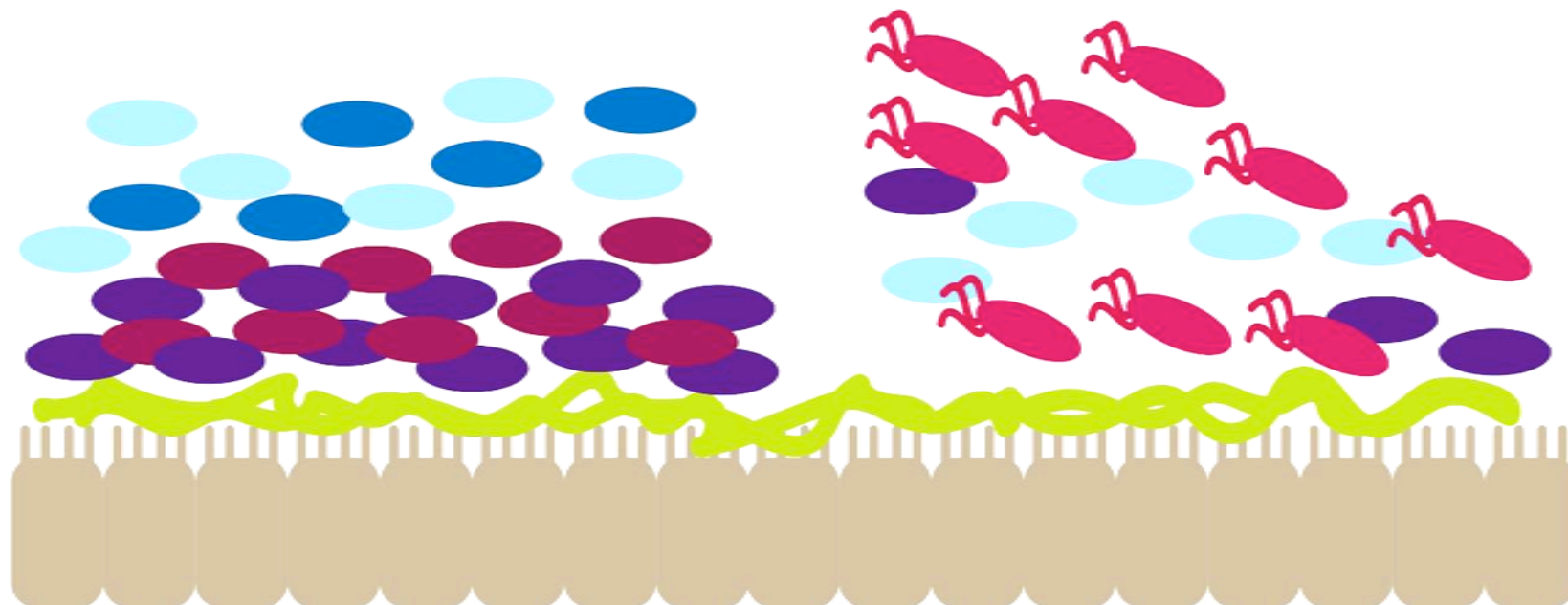


Diversité et richesse du microbiote assurent le maintien de l'effet de barrière contre les pathogènes



Intestin sain

Intestin post-antibiotiques





■ FISH / Sonde procaryote universelle

■ DAPI / Epithélium intestinal

Microbiote intestinal, barrière à l'intrusion et à la colonisation par des microorganismes pathogènes

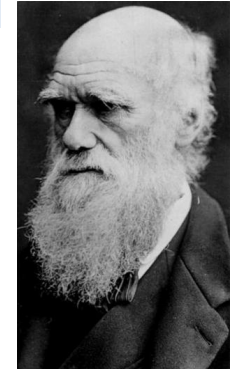
- Saturation des récepteurs (sur les mucines, cellules)
- Réseaux/flux métaboliques établis (robustes/résilients) privant les intrus de nutriments essentiels à leur survie/croissance (compétition métabolique)
- Systèmes antibactériens (antibiotiques, bactériocines, bactériophages, T6SS)
- Stimulation contrôlée des mécanismes de défense épithéliaux (i.e. PAMs, lectines, radicaux oxydatifs) = "inflammation physiologique"

Effet de barrière du microbiote: coût adaptatif/d'aptitude ("fitness cost")

Nor ought we to marvel if all the contrivances in nature be not, as far as we can judge, absolutely perfect; and if some of them be abhorrent to our idea of fitness

Charles Darwin, 1859

The origin of species (1st Edition)



Coût adaptatif/aptitude ("fitness cost") d'une bactérie défini par le coût qu'elle est en mesure de payer afin d'ajuster son métabolisme pour répondre aux variations des conditions environnementales auxquelles elle doit faire face pour survivre

En l'absence de cette capacité ou lors de l'acquisition de nouvelles propriétés qui ont un coût d'adaptation qui la dépasse, la bactérie perd tout avantage sélectif et est éliminée de cet environnement

Base de l'effet de barrière du microbiote

Nothing in biology makes sense except in the light of evolution

Theodosius Dobzansky

REVIEWS

Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle

*Michael E. Hibbing**, *Clay Fuqua**, *Matthew R. Parsek¹* and *S. Brook Peterson**

Abstract | Most natural environments harbour a stunningly diverse collection of microbial species. In these communities, bacteria compete with their neighbours for space and resources. Laboratory experiments with pure and mixed cultures have revealed many active mechanisms by which bacteria can impair or kill other microorganisms. In addition, a growing body of theoretical and experimental population studies indicates that the interactions within and between bacterial species can have a profound impact on the outcome of competition in nature. The next challenge is to integrate the findings of these laboratory and theoretical studies and to evaluate the predictions that they generate in more natural settings.

Nat Rev Microbiol, 2010

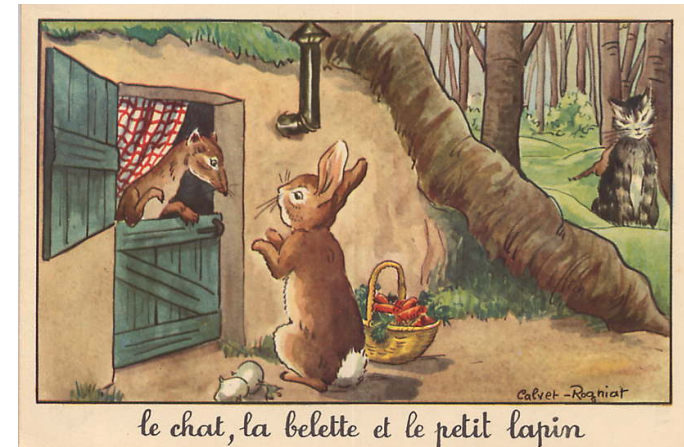
Compétition pour l'acquisition de nutriments

Survie au prix d'une compétition impitoyable pour des ressources nutritionnelles limitées: extension des équations de J. Monod = relation entre concentration limitante de nutriments et croissance bactérienne

Paramètre clé du maintien de l'homéostasie et de l'intégrité des populations microbiennes complexes

Flux métaboliques stabilisés

Conséquences: robustesse, stabilité, résilience
= "loi du premier occupant"



Compétition pour l'acquisition de nutriments

Compétition pour occupation de la niche

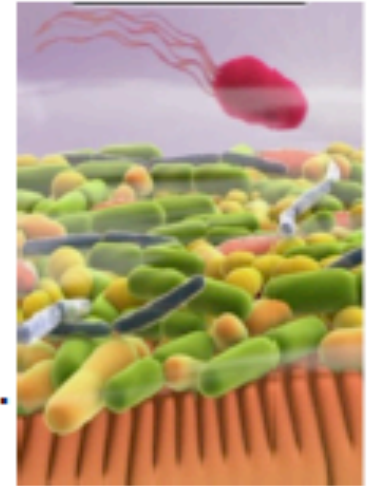
Logique de l'équilibre du microbiote en tant qu'assemblage de multiples espèces

Compétition métabolique porte sur diverses sources de carbone, oligoéléments et métaux, vitamines, en particulier **Vit B12**
(Degnan et coll. 2014. Cell Host Microbe)

Sous-tend effet de barrière à la colonisation par des pathogènes et des pathobiotés

Primo-colonisation

Problématique fondamentale: bases moléculaires et cellulaires de la colonisation. Modalités d'étude...



Méthode d'analyse = **génomique fonctionnelle**

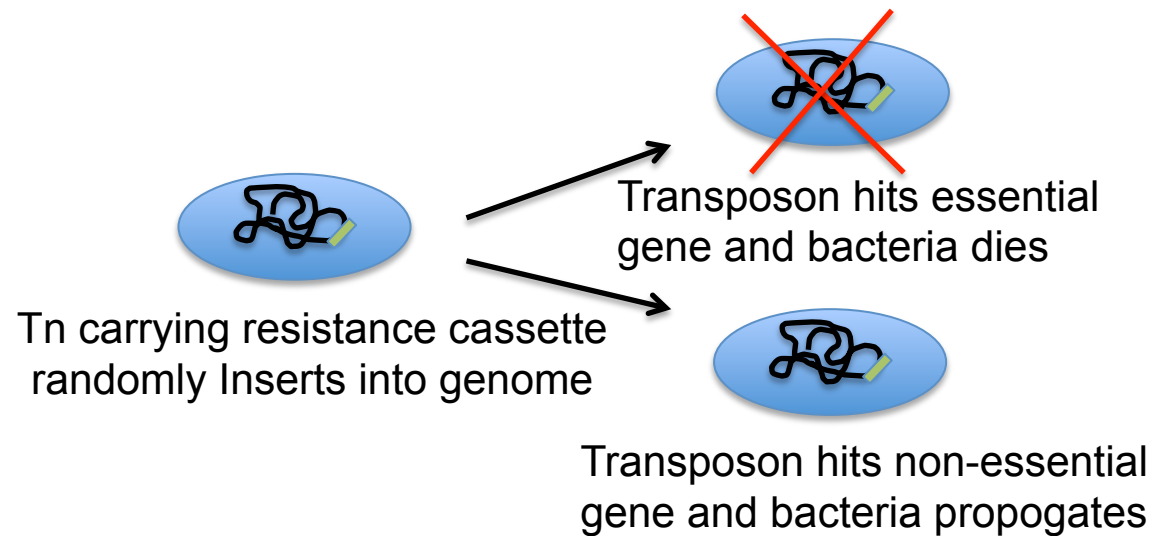
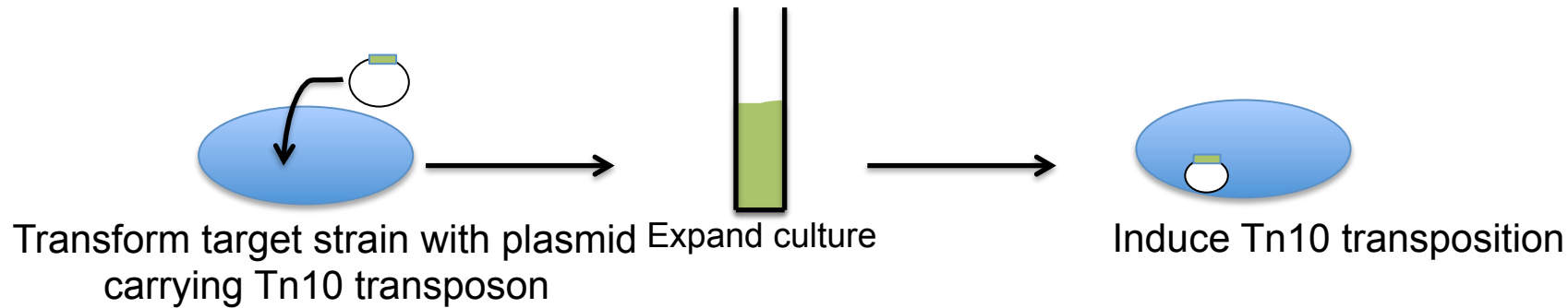
3 approches:

- **Clonage-expression** de fragments génomiques d'une souche de "fitness" élevée dans une souche de "fitness" faible et recherche de transformants ayant acquis une "fitness" égale ou proche de la souche donatrice.

- **Tn-seq**

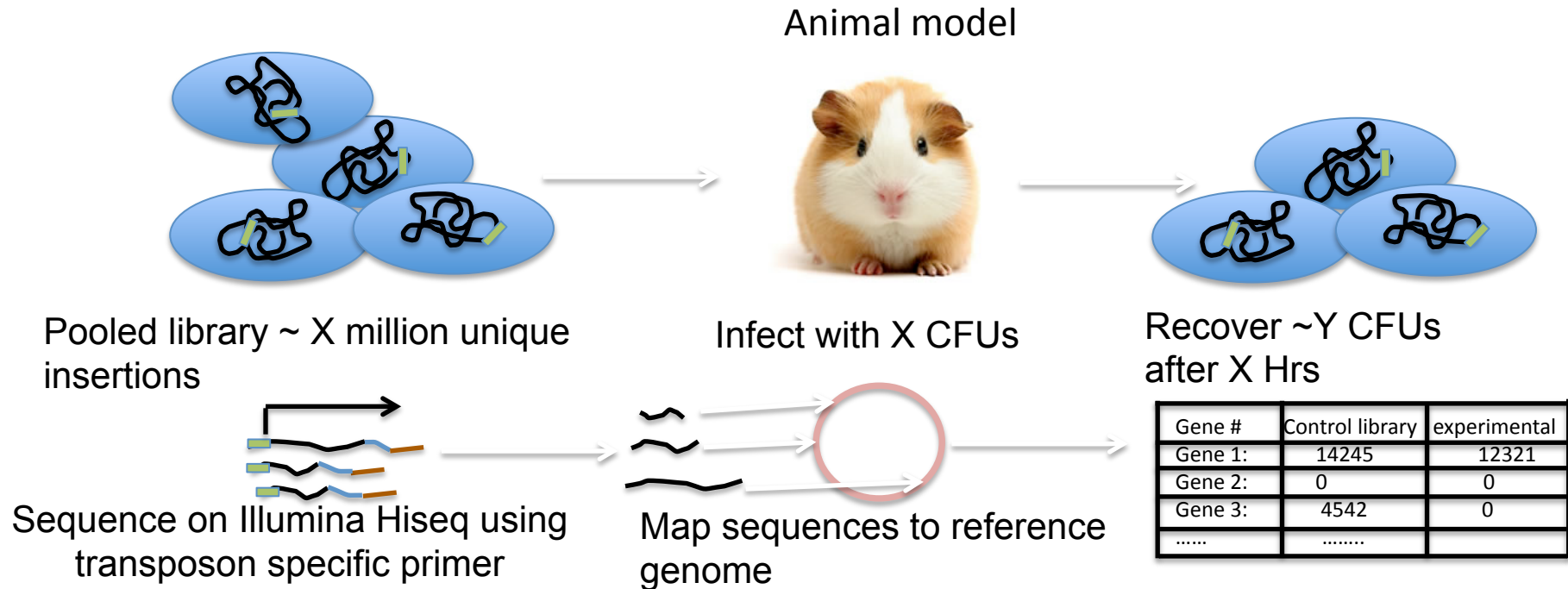
- **Signature-tagged mutagenesis (STM)**

Tn-seq: une approche à haut débit de séquençage parallèle pour l'étude des gènes de fitness et des interactions génétiques chez les bactéries



Adapted from:
van Opijnen T, Bodi KL, Camilli A. Nat methods, 2009

Tn-seq: une approche à haut débit de séquençage parallèle pour l'étude des gènes de fitness et des interactions génétiques chez les bactéries



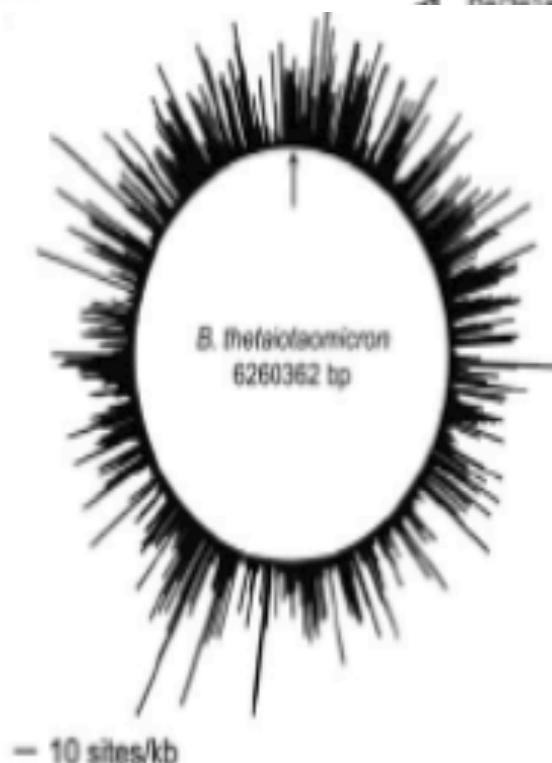
Préparation d'une librairie de mutants pour Tn-seq:
 L'ADN génomique est extrait de l'"input population" et de l'"output population" des bactéries bactéries mutagénisées.
 Coupure par enzyme de restriction,
 Séparation par PAGE.
 Ligation d'adapteurs d'ADN double-brin
 Cycles limités d'amplification PCR
 Séquençage profond

Data output: List of genes and number of sequence reads corresponding to those genes

= fitness ratio"

Identifying Genetic Determinants Needed to Establish a Human Gut Symbiont in Its Habitat

Andrew L. Goodman,¹ Nathan P. McNulty,¹ Yue Zhao,¹ Douglas Lipp,¹ Ravi D. Mitra,¹ Catherine A. Longenecker,^{1,2} Rob Knight,¹ and Jeffrey L. Gordon^{1,2*}
¹Center for Genome Sciences, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO 63110, USA
²Department of Chemistry and Biochemistry, University of Colorado, Boulder, CO 80509, USA
 *Correspondence: gordon@wustl.edu
 DOI: 10.1016/j.chom.2009.04.002



Vit B12 = cofacteur de réactions enzymatiques essentielles:
 - Isomérases
 - Méthyltransférases
 - Déhalogénases

← Rapport de fitness



Pas d'effet sous sélection →
 Gène essentiel →
 Gène requis sous la pression sélective →

Gene #	# of Tn reads mapped to genome	
	No Selection	Selection applied
Gene 1:	14245	13254
Gene 2:	0	0
Gene 3:	4523	0
.....

Van Opijnen & coll, 2009, Nat Methods

Human Gut Microbes Use Multiple Transporters to Distinguish Vitamin B₁₂ Analogs and Compete in the Gut

Patrick H. Degnan,^{1,3} Natasha A. Barry,¹ Kenny C. Mok,² Michiko E. Taga,² and Andrew L. Goodman^{1,2*}

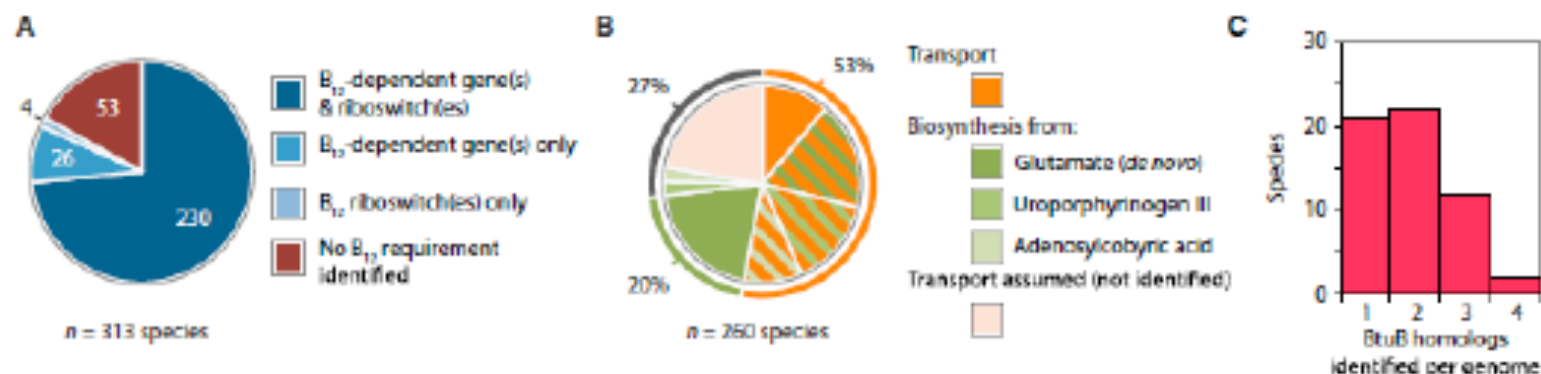
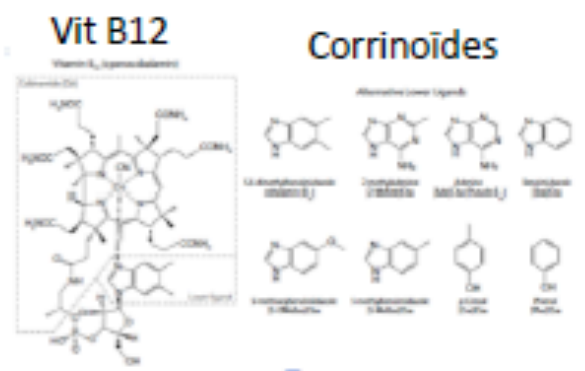
¹Department of Microbial Pathogenesis and Microbial Diversity Institute, Yale University, New Haven, CT 06536, USA

²Department of Plant and Microbial Biology, University of California, Berkeley, Berkeley, CA 94720, USA

³Present address: Department of Microbiology, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA

*Correspondence: andrew.goodman@yale.edu

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2013.12.007>



Large redondance des systèmes de transport de la Vit B12 et corrinoides dans les génomes des bactéries du microbiome intestinal.

Plus de 80% des espèces possèdent des gènes ou des riboswitches dépendant de la Vit. B12.

La plupart de ces espèces sont dépourvues des gènes de synthèse de la Vit. B12 et doivent recourir à des transporteurs afin d'assurer leurs besoins en Vit. B12.

Nombreux transporteurs chez *Bacteroides*. 3 chez *B. tetaiotamicron*

Compétition pour l'acquisition de nutriments

Du fait de la similitude de leurs voies métaboliques, la compétition est souvent plus grande entre des espèces apparentées qu'entre des espèces non apparentées.

Ex: les entérobactéries sont une grande famille de commensaux, mais incluent aussi des pathogènes majeurs: Salmonella, Shigella, Yersinia, Citrobacter, ETEC, EPEC, EHEC...

Il existe de nombreuses preuves expérimentales de cette compétition métabolique chez les entérobactéries:

Restriction de la capacité de croissance et de la colonisation de *Citrobacter rodentium* dans l'intestin de la souris (Kamada et coll. 2012. Science)

E. coli protège contre l'infection par *S. flexneri*



Samuel B Formal

EXPERIMENTAL SHIGELLA INFECTIONS

V. STUDIES IN GERM-FREE GUINEA PIGS

SAMUEL B. FORMAL, GUSTAVE DAMMIN, HELMUTH SPRINZ, DONALD KUNDEL,
HERMAN SCHNEIDER, RICHARD E. HOROWITZ,¹ AND MARTIN FORBES²

Walter Reed Army Institute of Research, Washington, D. C., and Department of Pathology,
Peter Bent Brigham Hospital, Boston, Massachusetts

Received for publication March 13, 1961

ABSTRACT

FORMAL, SAMUEL B., (Walter Reed Army Institute of Research, Washington, D. C.), GUSTAVE DAMMIN, HELMUTH SPRINZ, DONALD KUNDEL, HERMAN SCHNEIDER, RICHARD E. HOROWITZ, AND MARTIN FORBES. Experimental shigella infections. V. Studies in germ-free guinea pigs. *J. Bacteriol.* **82**:284-287. 1961.—Germ-free guinea pigs succumb after oral infection with *Shigella flexneri* serotype 2a; they survive a similar challenge with either a strain of *Escherichia coli* or a culture of lactobacillus. Animals monocontaminated with *E. coli* survive, whereas those monocontaminated with lactobacilli succumb to subsequent challenge with dysentery bacilli. Prior subcutaneous inoculation of heat-killed *S. flexneri* 2a does not render germ-free guinea pigs resistant to the fatal infection with viable dysentery bacilli.

Experimental *Shigella* Infections in Laboratory Animals

I. Antagonism by Human Normal Flora Components in Gnotobiotic Mice^{1,2}

BRUCE R. MAIER AND DAVID J. HENTGES

Department of Microbiology, University of Missouri School of Medicine, Columbia, Missouri 65201

Received for publication 21 March 1972

Germfree mice were associated with selected species of human intestinal bacteria and then challenged with a streptomycin-resistant *Shigella flexneri* strain. Antagonism against *Shigella* was most pronounced in mice associated with *Escherichia coli* and least pronounced in mice associated with *Bacteroides fragilis*. A moderate degree of antagonism could be demonstrated in mice associated with either *Streptococcus faecalis* or *Bifidobacterium adolescentis*. *Shigella* persisted in the cecal contents of *E. coli*-associated mice at very low, stable levels. *Shigella* populations were reduced to levels below detection in the ceca of mice diassociated with *E. coli* and *Bacteroides*. Upon subsequent administration of streptomycin, *Bacteroides* disappeared from the ceca. The *E. coli* population was greatly reduced, and *Shigella* reappeared at very high population levels as an apparent recombinant which resembled *E. coli* biochemically. A streptomycin-resistant *E. coli* population subsequently emerged and became dominant in the ceca. *Shigella* concomitantly declined to levels below detection.

Compétition pour l'acquisition de nutriments

Compétition pour le fer

La "guerre du fer" est un élément dominant de la compétition interbactérienne aux surfaces de l'hôte

Le fer est un nutriment essentiel dont la carence limite efficacement la croissance bactérienne

Compétition contre les autres bactéries et compétition contre l'hôte (lactoferrine, transferrine, lipocaline-2

Salmonella produit des sidérophores modifiés résistant à la lipocaline-2 (Rafatelu et coll. 2009. Cell Host Microbe)

Compétition pour l'acquisition de nutriments: approches alternatives pour les pathogènes

Certains pathogènes peuvent occuper une niche différente des commensaux:
Colonisation/invasion de la surface muqueuse, niche dont les commensaux
sont exclus

Possibilité de migration vers d'autres niches plus riches en nutriments critiques
pour les bactéries flagellées mobiles

Utilisation de nutriments et de voies de dissimilation différentes (Fabich AJ et
coll. 2008. Infect Immun)

Certains *E. coli* pathogènes (EHEC O157:H7) utilisent une variété de sucres
non utilisés par les commensaux: N-acetylgalactosamine et L-fucose obtenus à
partir de l'hydrolyse des motifs glycosylés des mucines intestinales

Compétition pour l'acquisition de nutriments: approches alternatives pour les pathogènes

Le déclenchement d'une réaction inflammatoire liée à l'activation de la réponse innée muqueuse en réponse à une adhésion étroite et surtout à une invasion change considérablement l'équilibre de la niche:

- Destruction de la flore commensale extrêmement sensible (anaérobies) aux radicaux oxygène

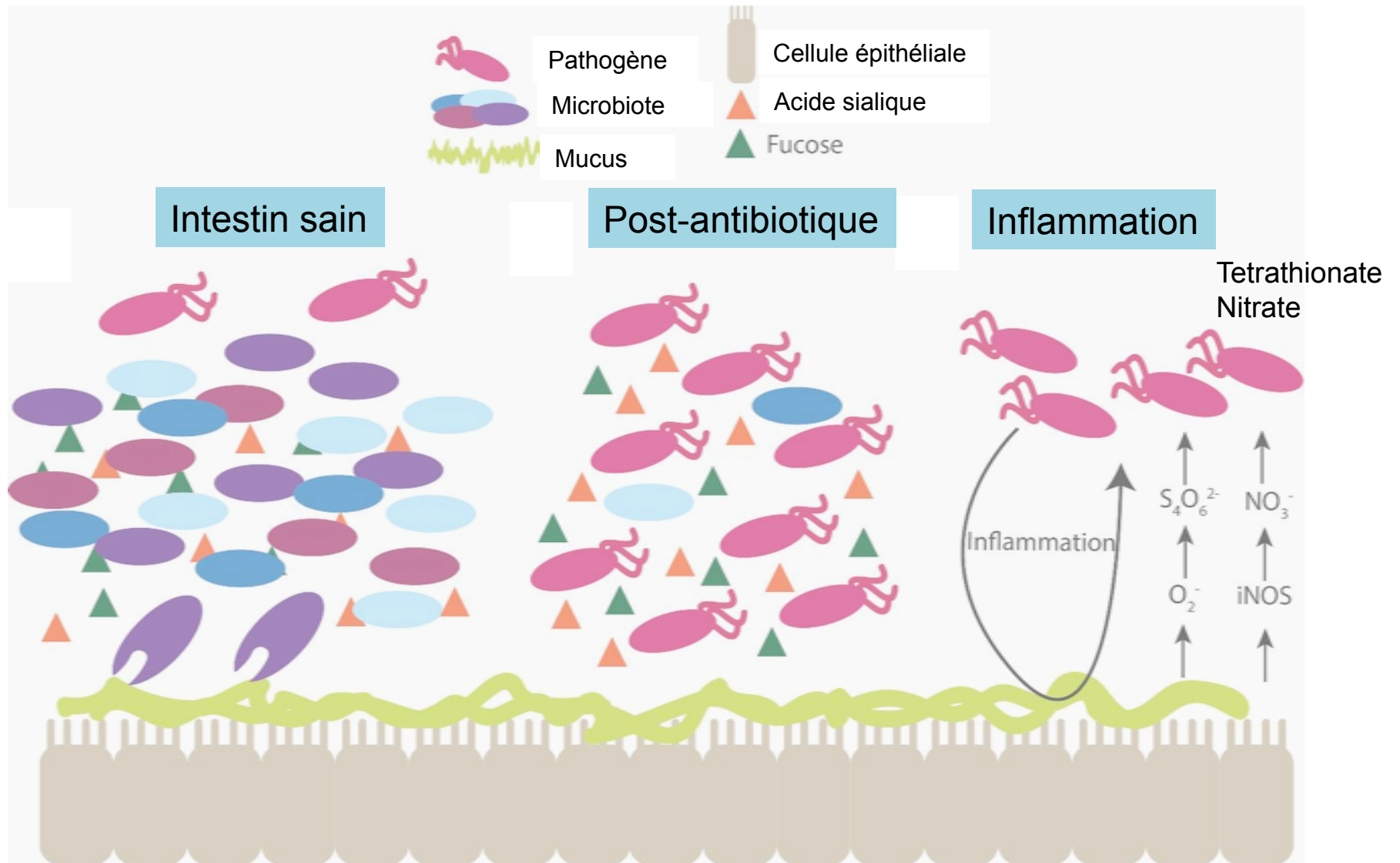
- Utilisation par le pathogène de composés produits par l'épithélium inflammatoire: *Salmonella* utilise le tétrathionate produit par les cellules épithéliales en l'intégrant dans sa chaîne respiratoire

La respiration par le tétrathionate (accepteur d'électrons) offre à *Salmonella* un avantage de croissance en anaérobiose sur les bactéries commensales fermentatives (Winter SE et coll. 2010. Nature)

Les nitrates produits par l'intestin inflammatoire facilitent la croissance en anaérobiose des *E. coli* commensaux (Winter SE et coll. 2013. Science)

L'intestin inflammatoire libère aussi une grande quantité d'éthanolamine qui soutient la croissance de *Salmonella* (Thiennimitr et coll. 2011.PNAS) et de EHEC (Berth et coll. 2011. Microbiol)

Pathogènes exploitent les métabolites produits par le microbiote et l'hôte



Sanctions économiques & course aux armements

L'effet de barrière n'est pas qu'un processus de privation de bactéries pathogènes mal adaptées au défi métabolique environnemental du microbiote

C'est aussi un vrai processus de compétition mettant en jeu des mécanismes d'attaque et de défense très sophistiqués



- **Métabolites bactériens toxiques, antibiotiques**

(McKenney & Kendall. 2016. FEMS Pathogens and Disease; Donia & Fishbach. 2015. Science; Davies. 2013. J Antibiot)

- **Bactériocines / résistance aux bactériocines**

(Zheng et al, Environ Microbiol, 2015)

- **Bactériophages / résistance aux bactériophages**

(Scarpellini et al, Digest and Liver Dis, 2015)

- **Appareils de sécrétion de type 6 (T6SS, agresseurs / défenseurs)**

(Basler & Mekalanos, 2012, Cell)

Métabolites bactériens produits par les commensaux

Les acides gras à chaînes courtes (SCFA) produits par la fermentation des polysides complexes par certaines bactéries commensales comme *Bifidobacterium* inhibent la croissance de bactéries entéropathogènes:

S. typhimurium (Barthel & coll., 2003, Infect Immun)

EHEC (Fanning & coll., 2012, PNAS)

C. rodentium (Yoshimura & coll., 2010. Antonie van Leeuwenhoek)

Métabolites responsables:

Butyrate (Gantois I & coll., 2006, Appl Environment Microbiol)

Acetate et protection contre EHEC: *Bifidobacterium* agit en partie grâce à un gène codant pour un transporteur de sucres (ATP-binding cassette) entraînant la production accrue d'acétate, réduction de la perméabilité intestinale à la toxine SLT, effet antibactérien ?

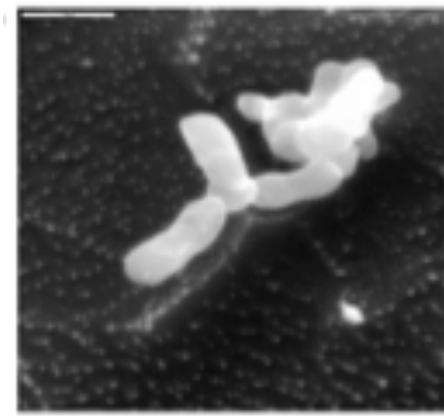
Domaine à élargir, y compris pour la compréhension de l'homéostasie

LETTER

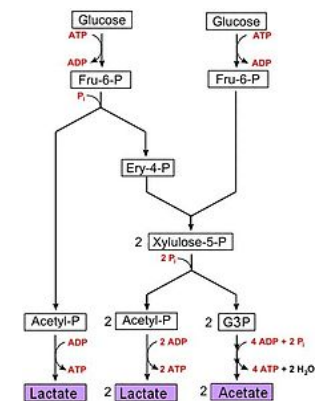
doi:10.1038/nature09646

Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate

Shinji Fukuda^{1,2}, Hidehiro Toh³, Koji Hase¹, Kenshiro Oshima⁴, Yumiko Nakanishi^{1,2,5}, Kazutoshi Yoshimura⁶, Toru Tobe⁷, Julie M. Clarke⁸, David L. Topping⁸, Tohru Suzuki⁹, Todd D. Taylor³, Kikuji Itoh⁶, Jun Kikuchi^{2,5,10}, Hidetoshi Morita¹¹, Masahira Hattori⁴ & Hiroshi Ohno^{1,2,12}

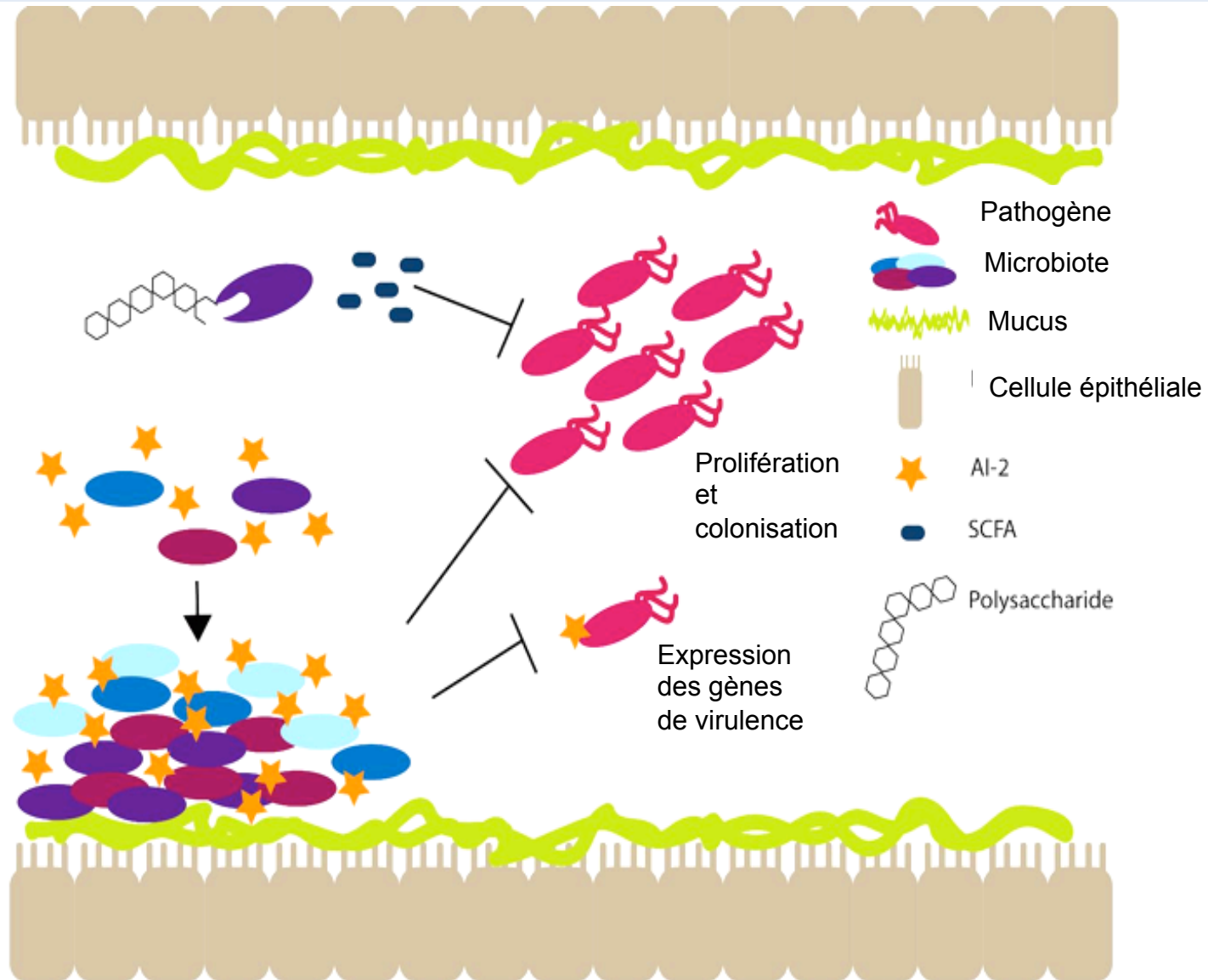


Bifidobacterium breve



Fermentation

Molécules produites par le microbiote prévenant croissance, colonisation et expression des gènes de virulence des pathogènes



Composés antibactériens produits par les commensaux: antibiotiques et colicines

A côté de la compétition métabolique, les bactéries intestinales peuvent limiter la croissance des autres espèces bactériennes par la production directe:

- De composés antibactériens
- Etudes récentes montrent comment des composés antimicrobiens du microbiote peuvent inhiber la colonisation intestinale par des bactéries pathogènes et des pathobiotés

-

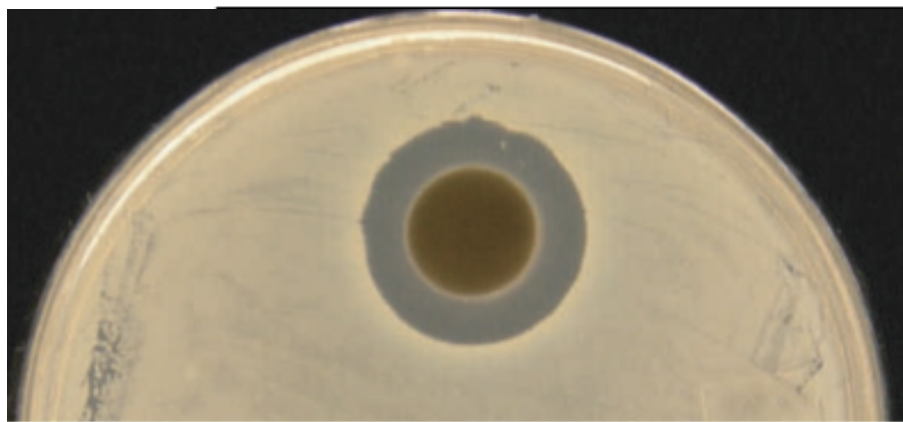


Published in final edited form as:
 Chem Rev. 2011 September 14; 111(9): 5492–5505. doi:10.1021/cr2000509.

Antibiotics as Signal Molecules

Diego Romero, Matthew F. Traxler, Daniel López¹, and Roberto Kolter^{*}
 Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA 02115

Antibiotiques: prédateurs ou régulateurs de l'homéostasie de la communauté microbienne



Tapis de *Bacillus subtilis*.
 Surnageant de *Burkholderia thailandensis* producteur d'antibiotiques

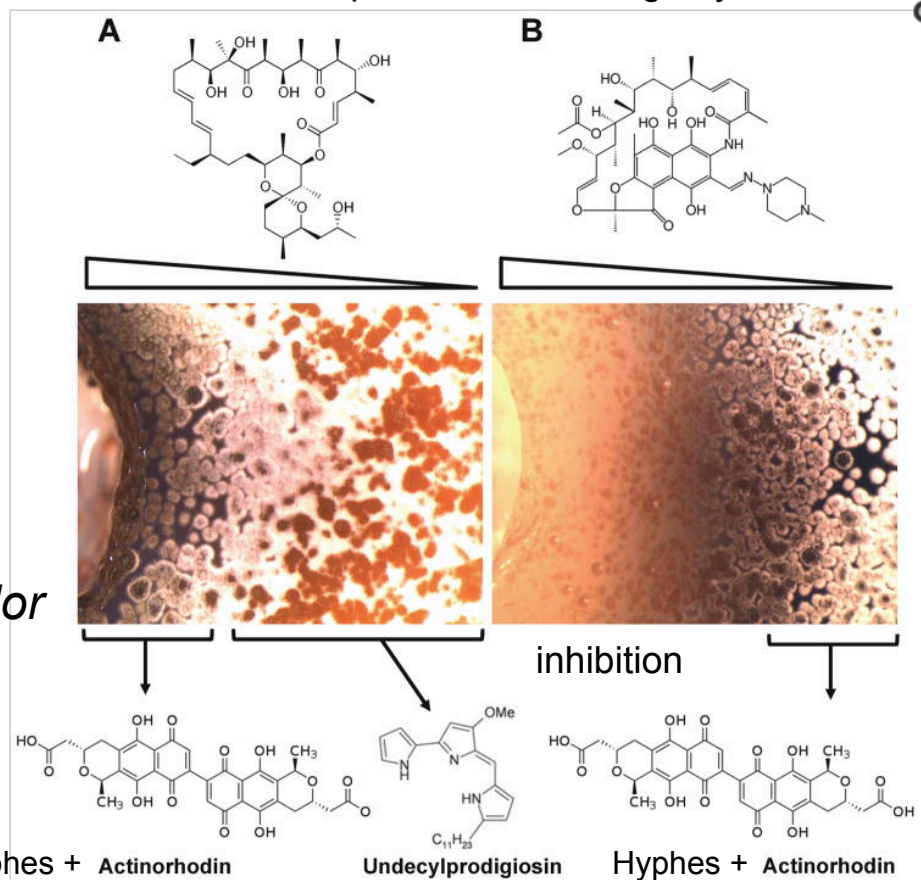
Streptomyces coelicolor

Rifampicine = inhibiteur transcription
 Oligomycine = inhibiteur ATP-synthase

Gradient

Rifampicine

Oligomycine



Hyphes + Actinorhodin

Undecylprodigiosin

Hyphes + Actinorhodin

Antibiotics as signalling molecules

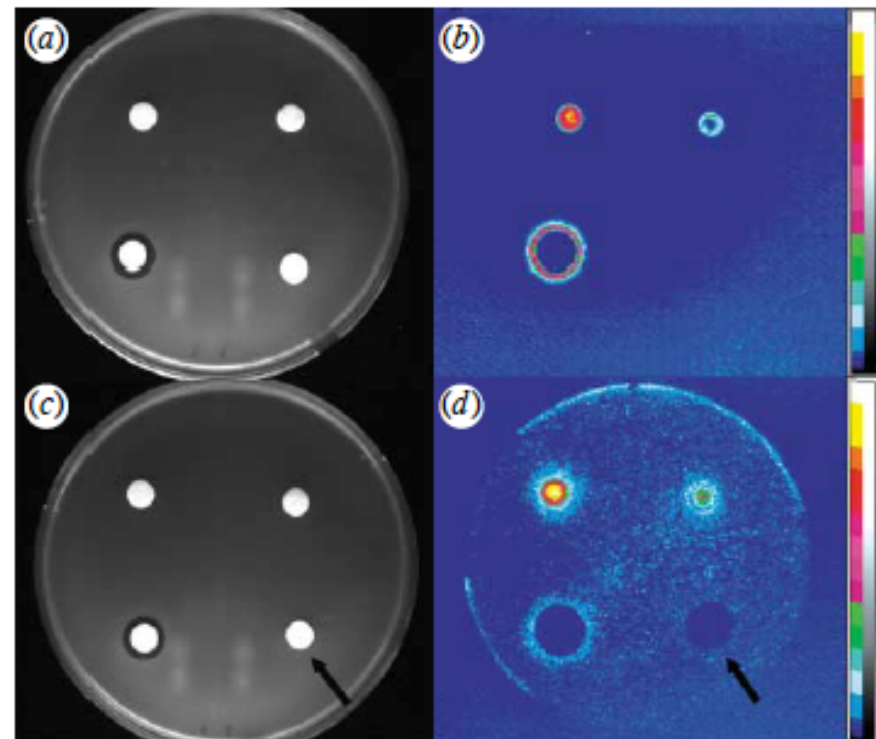
Grace Yim, Helena Huimi Wang and Julian Davies FRS*

*Department of Microbiology and Immunology, Life Sciences Institute, 2350 Health Sciences Mall,
University of British Columbia, Vancouver BC V6T 1Z3, Canada*

Majorité des composés organiques de petit poids moléculaire fabriqués et sécrétés par les microorganismes jouent un rôle de signalisation environnemental. Dans le très grand nombre identifié, très peu ont une vraie activité antimicrobienne de niveau thérapeutique. La plupart montrent une activité de régulation transcriptionnelle à très faible concentration.

Effet premier = régulation homéostasie populations microbiennes complexes ?

Equivalents autoinducteurs du QS ?



S. typhimurium, luxA-E opéron fusionné avec promoteur fad (métab. acides gras/ anaérobiose, a & b) et promoteur tsr (sérine chimiorécepteur, c & d).

Buvard: microcine, indolicidine, pleurocidine, CP26 (haut G & sens aiguilles montre)

Bactériocines / colicines

Bactériocines: peptides antimicrobiens produits par les bactéries qui ciblent un spectre étroit de bactéries compétitrices (Hammami & coll., 2013, Cell Mol Life Science).

La Thuricine CD dérivée de *Bacillus thuringiensis* cible des bactéries pathogènes mais a peu d'effet sur les commensaux établis (Rea & coll., 2010, PNAS; Rea MC & coll., 2014, Microbiology).

Quatre classes selon PM, structure, espèce d'origine, mécanismes de "killing" et de résistance

Colicines: les plus connues et les mieux étudiées, produites par des plasmides d'*E. coli* et bactéries apparentées, capables de tuer *E. coli* et bactéries apparentées.

Se lie à un récepteur de la membrane externe de la bactérie cible, utilisent ce récepteur pour transloquer à travers la membrane, et exercent leur cytotoxicité en dépolarisant la membrane cytoplasmique, souvent une activité DNase ou RNase, parfois une inhibition de la muréine (mur bactérien) (Cascales & coll., 2007, Microbiol & Mol Biol Rev)

Composés antibactériens produits par les commensaux: antibiotiques et colicines

Bactériocines = peptides antimicrobiens bactériens sécrétés qui ciblent et lysent des espèces bactériennes apparentées
(Cotter PD et coll. 2013. Nat Rev Microbiol)

Dans l'intestin, la colonisation par *Enterococcus faecalis* produisant une colicine réduit le nombre d'*Enterococcus faecalis* commensaux, y compris souches Vanco^R préalablement établis (Kommineri S et coll. 2015. Nature)

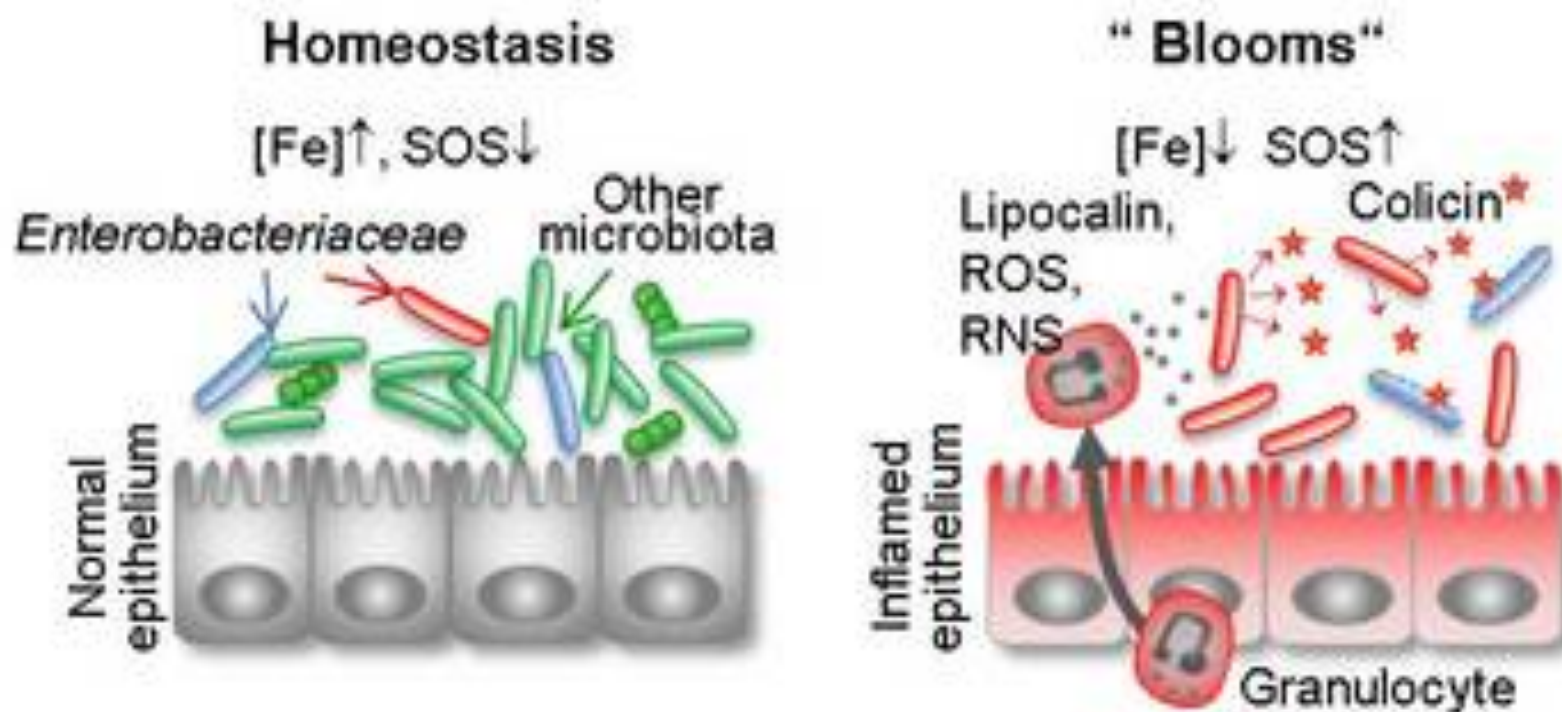
L'analyse exhaustive des génomes commensaux montre une grande variété de gènes codant possiblement pour des composés antimicrobiens = possibles "leads" thérapeutiques (Doria MS. 2014. Cell)

Clostridium scindens inhibe la croissance et la pathogénicité de *Clostridium difficile* chez la souris, grâce à sa capacité de transformer les acides biliaires primaires en acide biliaires secondaires particulièrement toxique envers C. difficile (Buffie CG et coll. 2015. Nature)

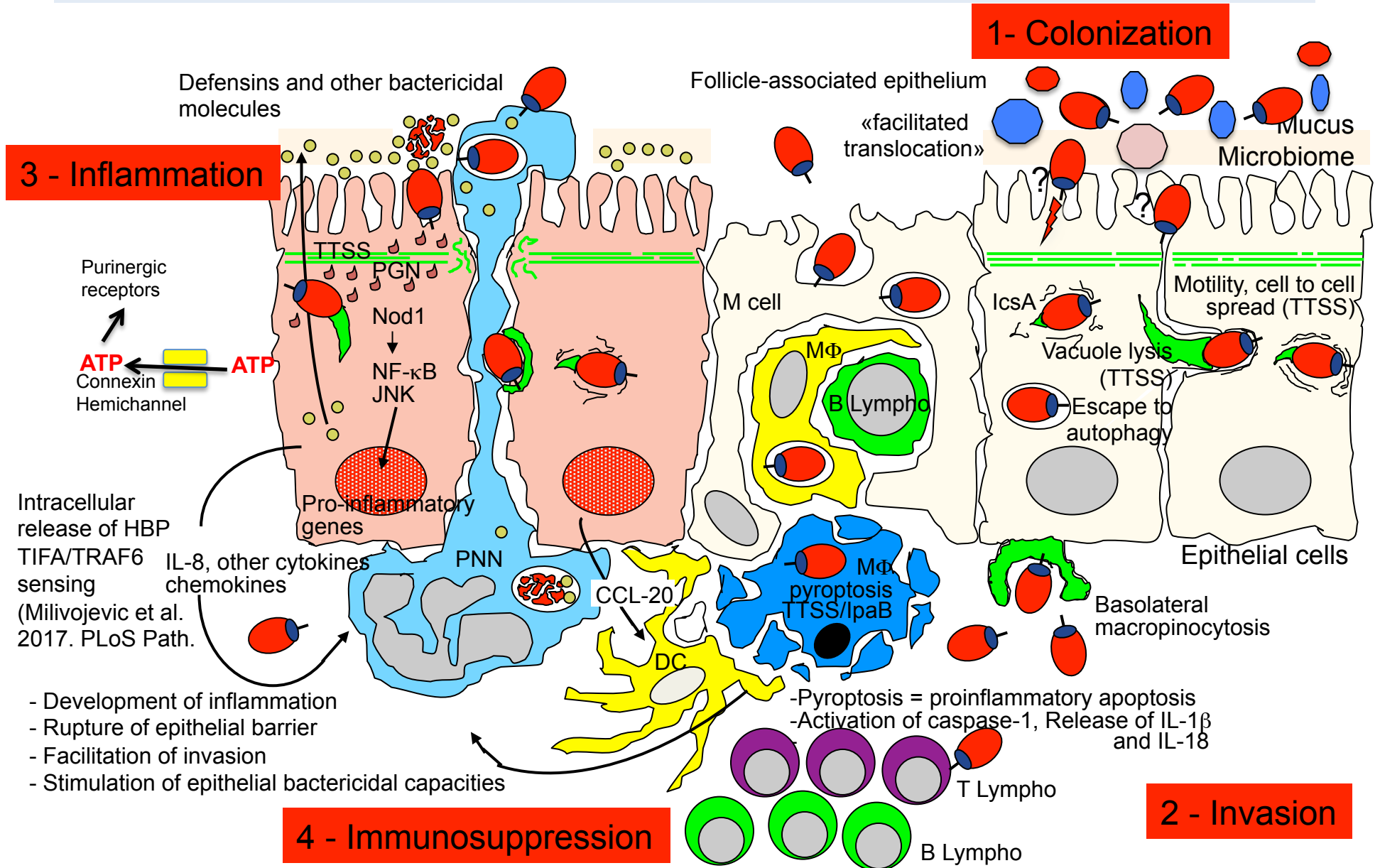
Inflammation Fuels Colicin Ib-Dependent Competition of *Salmonella* Serovar Typhimurium and *E. coli* in Enterobacterial Blooms

Lubov Petkova Nedialkova^{1,2,3}, Rémy Denzler^{3,4}, Martin B. Koeppel^{1,2}, Manuel Diehl^{1,2}, Diana Ring^{1,2}, Thorsten Wille⁴, Roman G. Gerlach⁴, Bärbel Stecher^{1,2*}

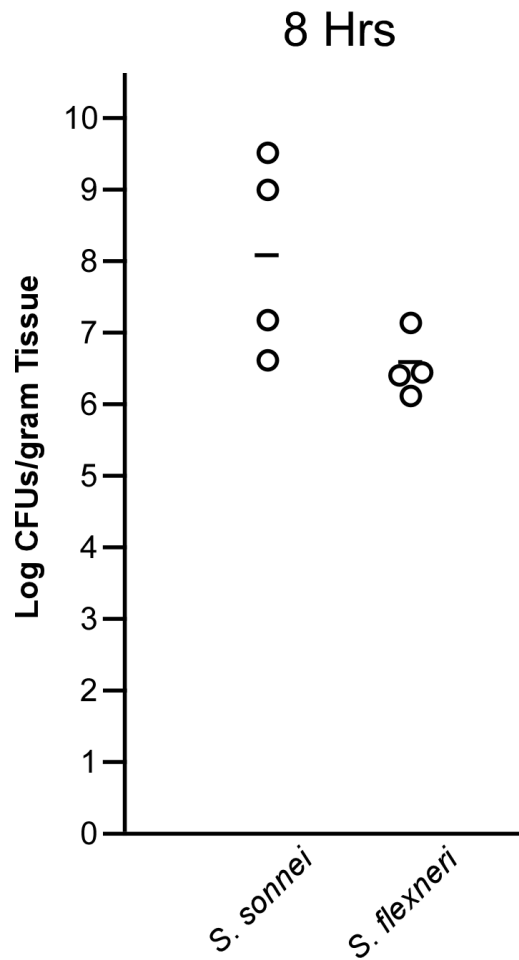
1 Max-von-Pettenkofer Institute, LMU Munich, Munich, Germany, **2** German Center for Infection Research (DZIF), partner site LMU Munich, Munich, Germany, **3** Institute of Microbiology, ETH Zürich, Zürich, Switzerland, **4** Robert Koch-Institut, Wernigerode Branch, Junior Research Group 3, Wernigerode, Germany



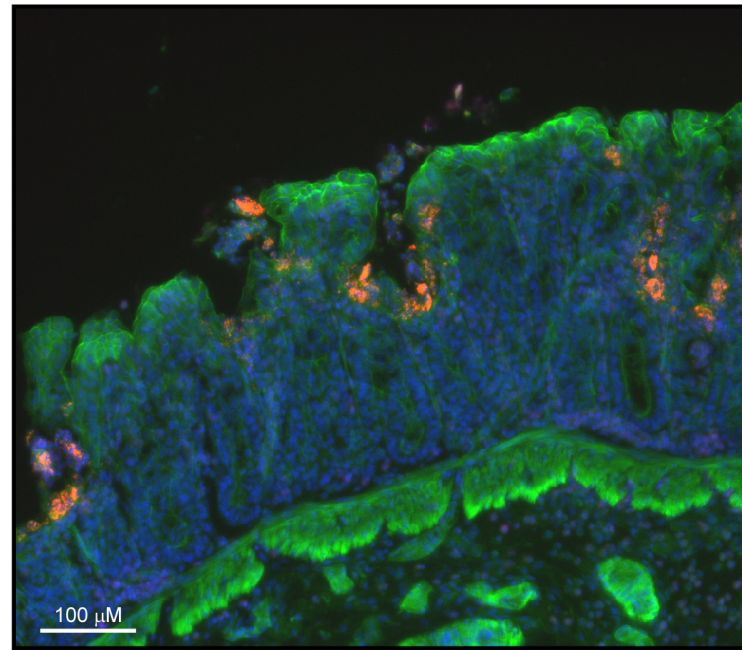
Pathogenesis of *Shigella* infection: central role of the Type Three Secretory System (T3SS)



S. sonnei infection of Guinea pig colon



S. sonnei



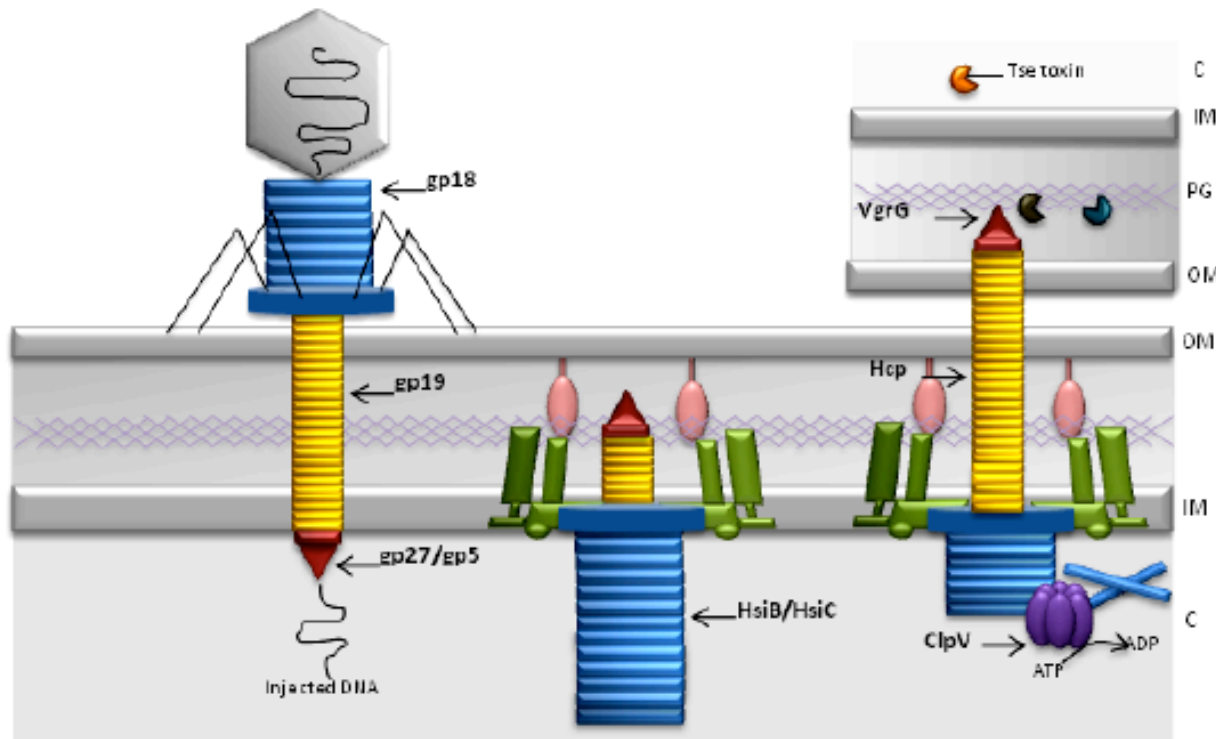
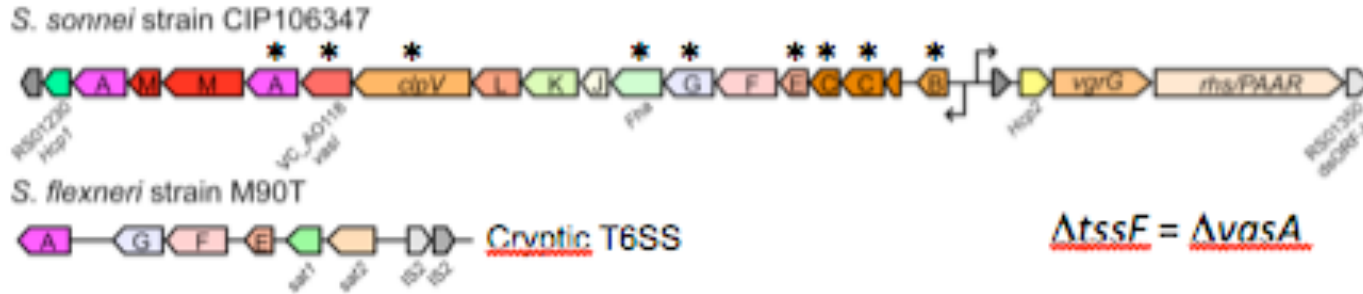
- DAPI
- Actin
- Shigella*
- Mub40

Tn-seq *S. sonnei* = *S. flexneri*
+ Type 6 Secretory Apparatus (T6SA)

un appareil de sécrétion de type 6 (T6SS) chez *Shigella sonnei*



Mark Anderson

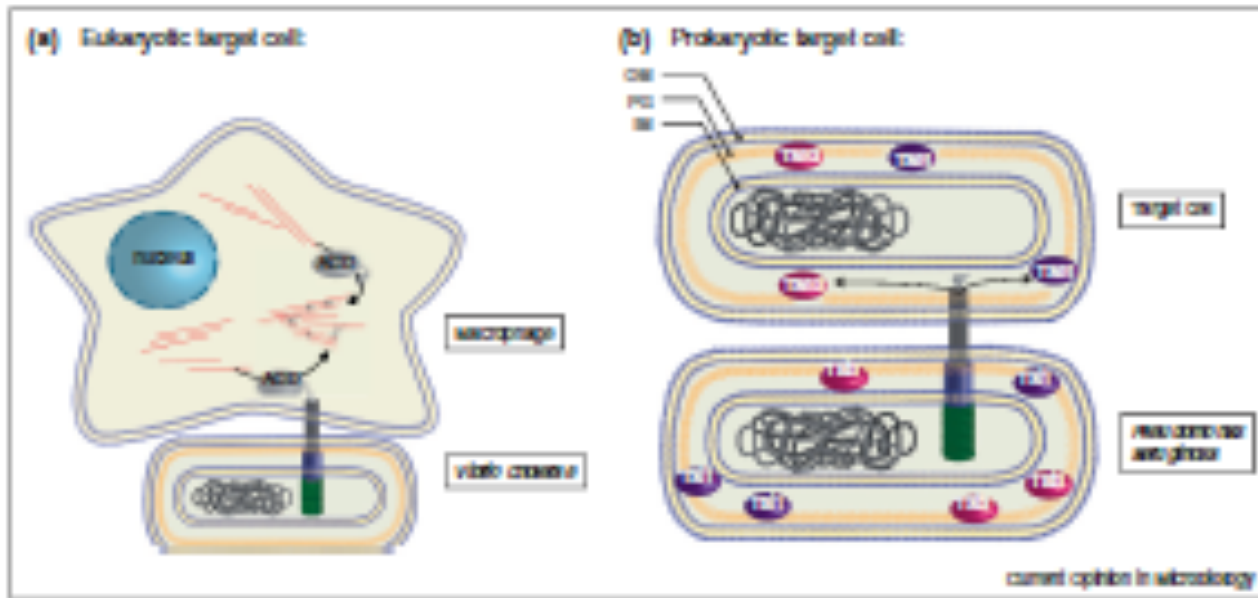


Bacteriophage T6SS Contracted T6SS

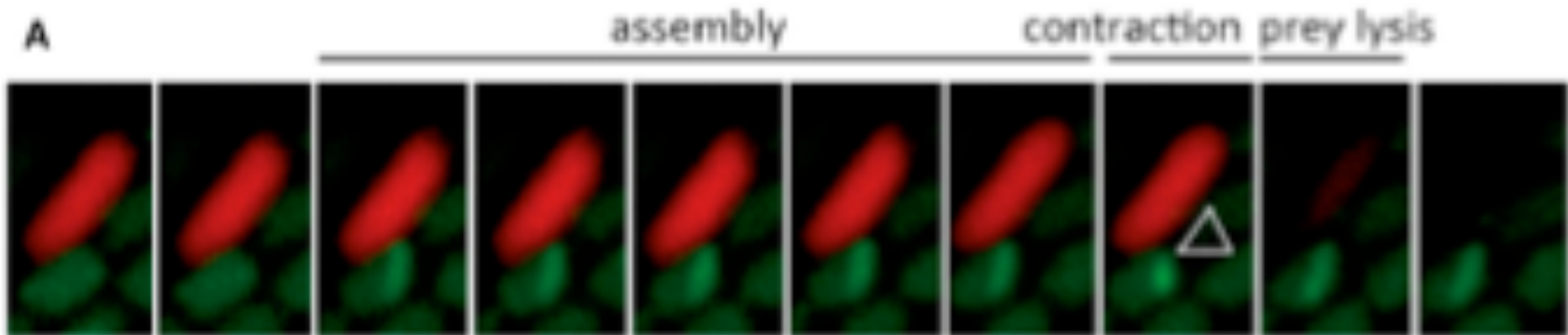
Filloux, 2013,
F1000Prime Report

Anderson et al. 2017.
Cell Host Microbe

T6SS: "le baiser de la mort"



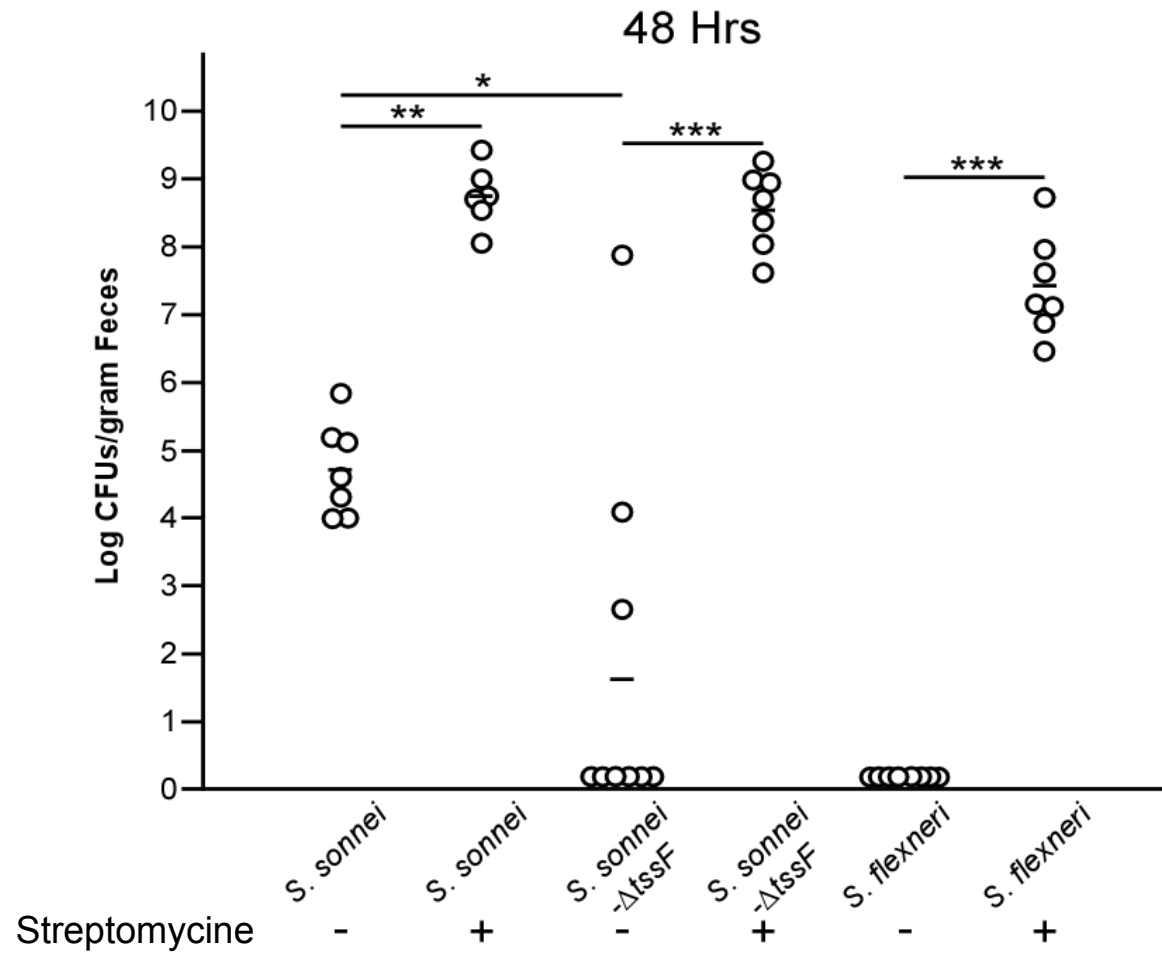
Katitein & Mogk, 2013,
Current Opin Microbiol



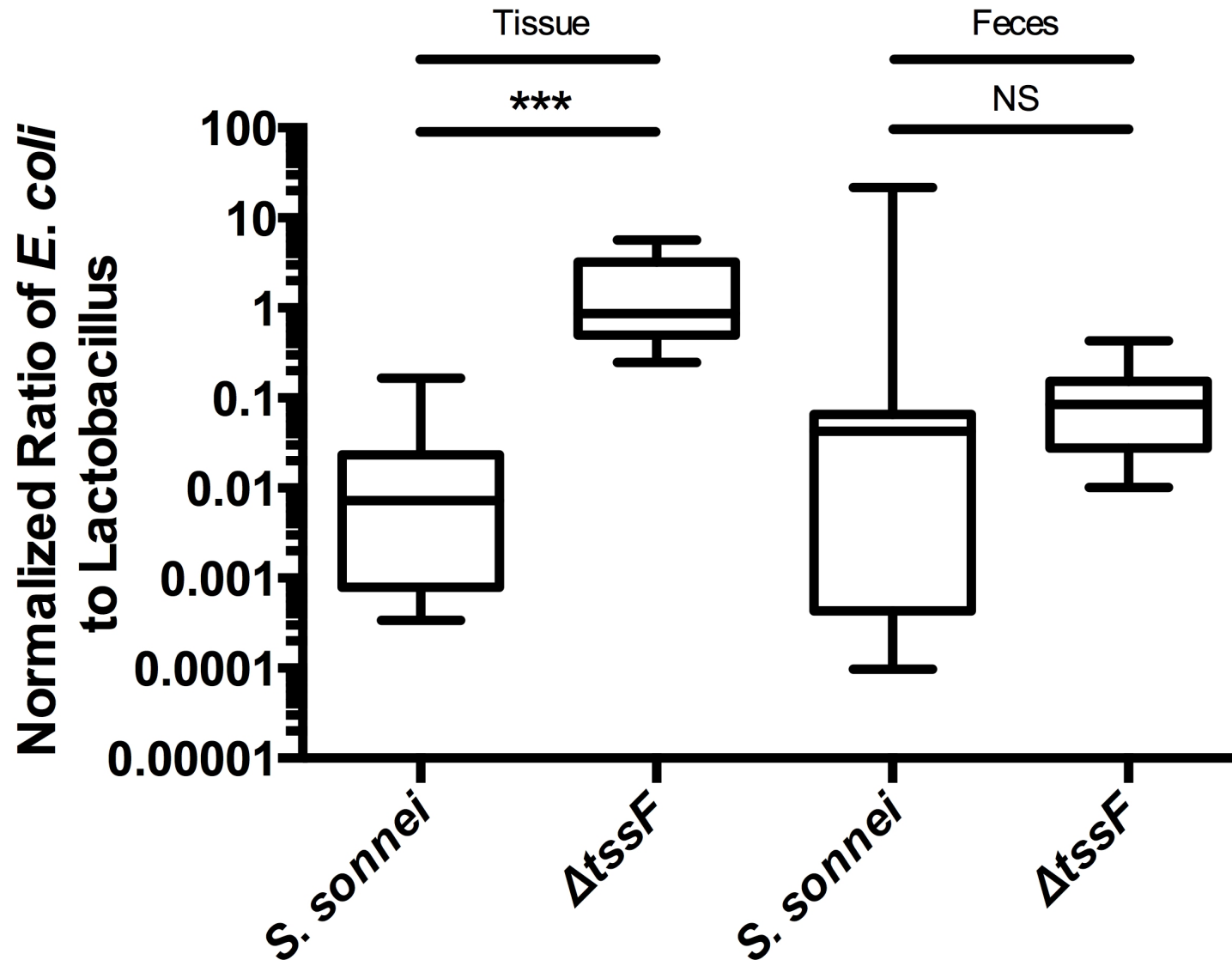
Bactérie prédatrice: TssB-sfGFP (vert) = contraction T6SS`
Bactérie proie: mCherry (rouge)

Cascales & coll, 2013, Cell Reports

Rôle du microbiote dans la protection de l'intestin murin contre l'infection par *Shigella sonnei*
 Rôle du T6SS dans la subversion du microbiote



S. sonnei predation of *E. coli* mucosal niche





Human symbionts inject and neutralize antibacterial toxins to persist in the gut

Aaron G. Wexler^{a,b}, Yiqiao Bao^{a,b}, John C. Whitney^c, Louis-Marie Bobay^d, Joao B. Xavier^e, Whitman B. Schofield^{a,b}, Natasha A. Barry^{a,b}, Alistair B. Russell^f, Bao Q. Tran^f, Young Ah Goo^f, David R. Goodlett^f, Howard Ochman^d, Joseph D. Mougous^{c,g}, and Andrew L. Goodman^{a,b,1}

^aDepartment of Microbial Pathogenesis, Yale University School of Medicine, New Haven, CT 06510; ^bMicrobial Sciences Institute, Yale University School of Medicine, West Haven, CT 06516; ^cDepartment of Microbiology, University of Washington School of Medicine, Seattle, WA 98195; ^dDepartment of Integrative Biology, University of Texas, Austin, TX 78712; ^eComputational Biology Program, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, NY 10065; ^fDepartment of Pharmaceutical Sciences, School of Pharmacy, University of Maryland, Baltimore, MD 21201; and ^gHoward Hughes Medical Institute, University of Washington School of Medicine, Seattle, WA 98195



Bacteroides fragilis type VI secretion systems use novel effector and immunity proteins to antagonize human gut Bacteroidales species

Maria Chatzidaki-Livanis^a, Naama Geva-Zatorsky^{a,b}, and Laurie E. Comstock^{a,1}

^aDivision of Infectious Diseases, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115; and ^bDepartment of Microbiology and Immunobiology, Harvard Medical School, Boston, MA 02115

Edited by Lora V. Hooper, University of Texas Southwestern, Dallas, TX, and approved February 16, 2016 (received for review November 14, 2015)



Salmonella Typhimurium utilizes a T6SS-mediated antibacterial weapon to establish in the host gut

Thibault G. Sana^a, Nicolas Flaugnatti^b, Kyler A. Lugo^a, Lilian H. Lam^a, Amanda Jacobson^a, Virginie Baylot^c, Eric Durand^b, Laure Journet^b, Eric Cascales^b, and Denise M. Monack^{a,1}

^aDepartment of Microbiology and Immunology, Stanford School of Medicine, Stanford University, Stanford, CA 94305; ^bLaboratoire d'Ingénierie des Systèmes Macromoléculaires (UMR7255), Institut de Microbiologie de la Méditerranée, Aix-Marseille Université - CNRS, 13402 Marseille, France; and ^cDivision of Oncology, Department of Medicine and Pathology, Stanford School of Medicine, Stanford University, Stanford, CA 94305

Edited by Scott J. Hultgren, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO, and approved June 30, 2016 (received for review June 2, 2016)