

jiB

64<sup>e</sup> ÉDITION  
JOURNÉES  
DE L'INNOVATION  
EN BIOLOGIE

1-2  
DÉCEMBRE  
2021  
PALAIS  
DES CONGRÈS  
DE PARIS  
FRANCE

# Aspects techniques de l'analyse du microbiome fécal au laboratoire de biologie médicale

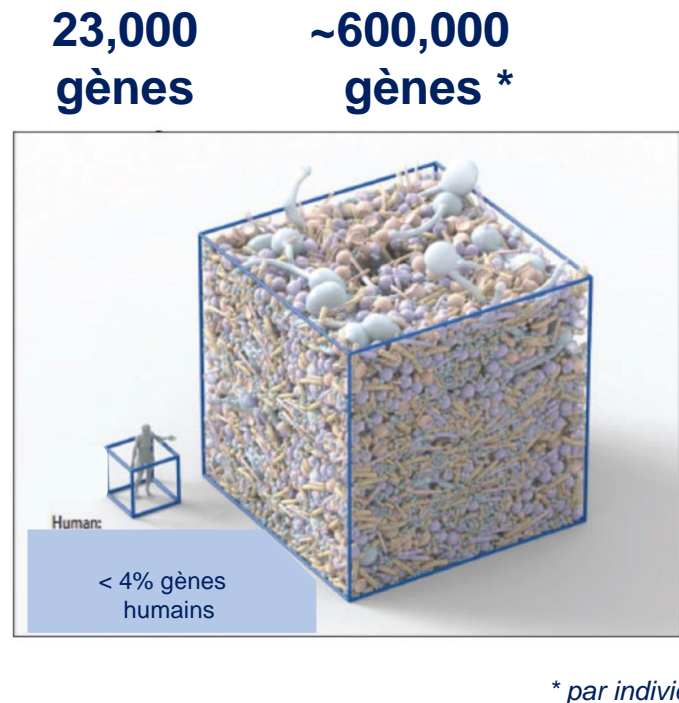
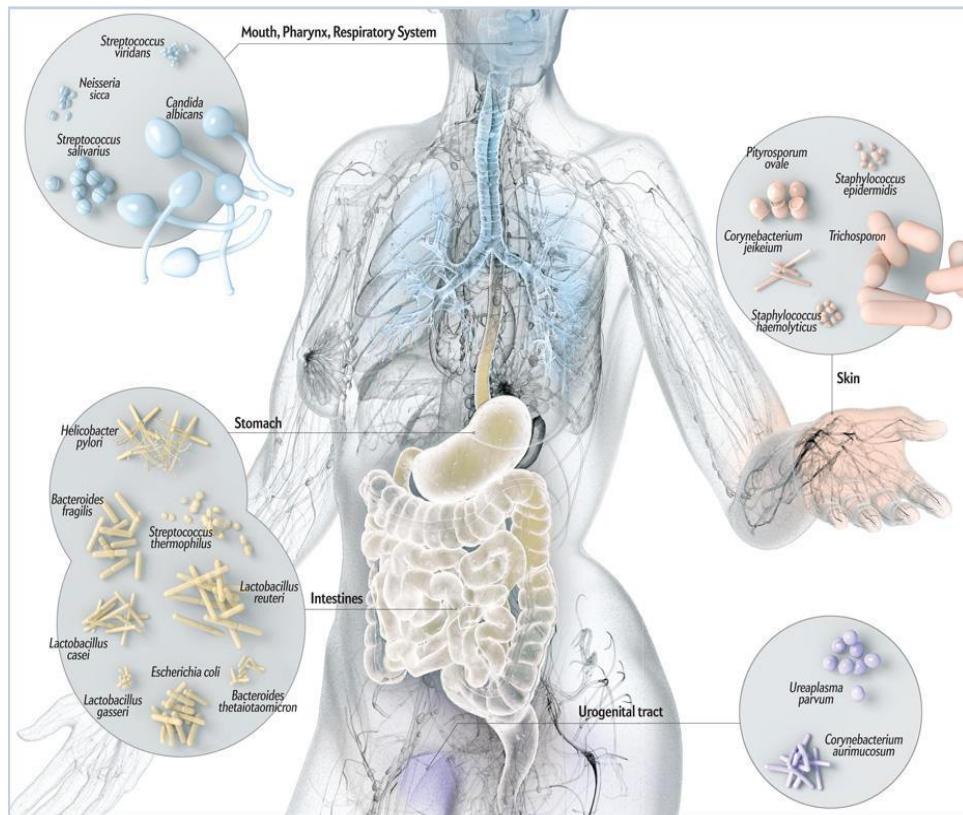
*Joël Doré*

*INRAE, Université Paris-Saclay*

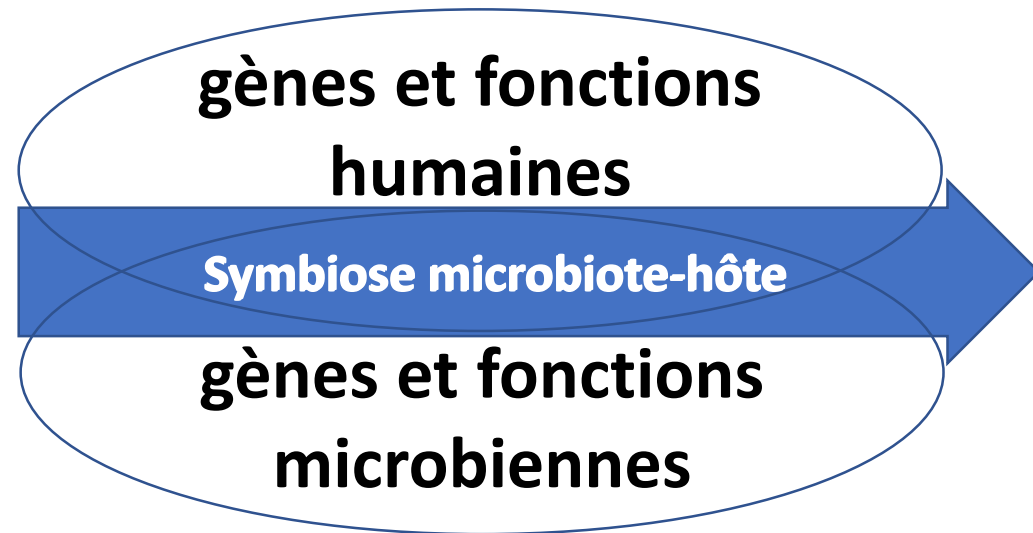


# L'humain est microbien, écosystème, symbiose

**50 000 000 000 000 bactéries et cellules humaines**



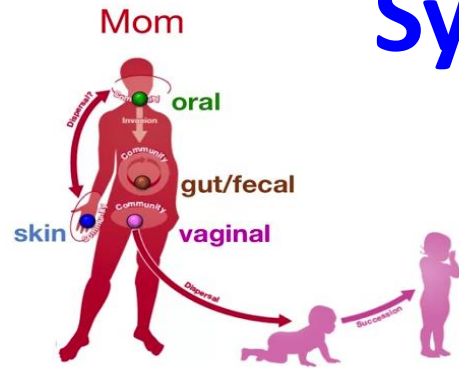
# Les fonctions protectrices apportées par le microbiote



## Le microbiote agit comme:

- Régulateur endocrino-metabolique
- Régulateur Immuno-inflammatoire et
- Protecteur antimicrobien, "barrière"
- Régulateur Neuro-vegetatif

# Symbiose microbiote-hôte



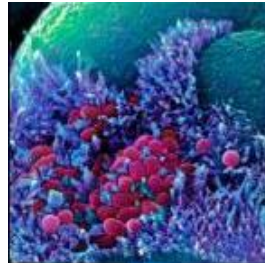
*Une relation qui débute dès la naissance...*

adapted from Gonzalez et al. 2011, EMBO reports

**Maturation  
immunitaire**



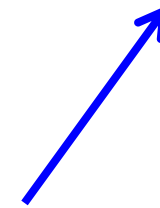
**&**



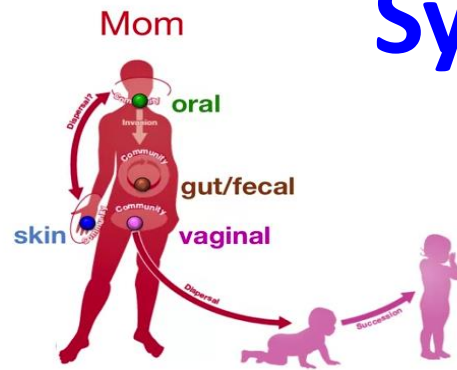
**Développement  
des microbiotes**

**Symbiose :  
Le microbiote  
comme  
une composante  
du 'soi'**

**Maintien de la symbiose :  
Santé et bien-être**



# Symbiose microbiote-hôte



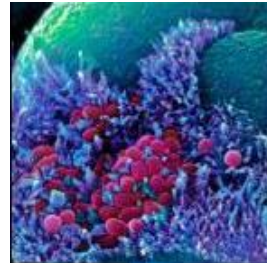
*Une relation qui débute dès la naissance...*

adapted from Gonzalez et al. 2011, EMBO reports

**Maturation  
immunitaire**



&



**Développement  
des microbiotes**

**Symbiose :  
Le microbiote  
comme  
une composante  
du 'soi'**

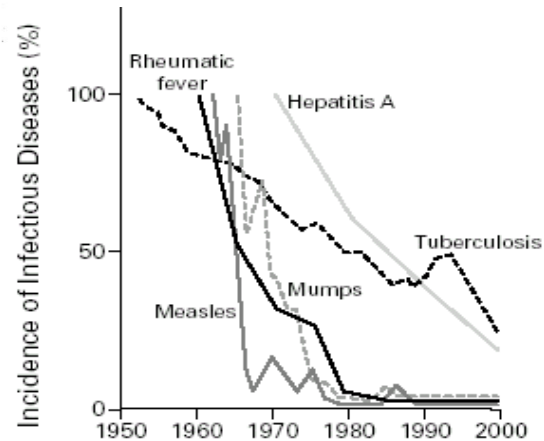
**Maintien de la symbiose :  
Santé et bien-être**

**Rupture écologique:  
Perte de fonction barrière  
&  
Risque d'infection**

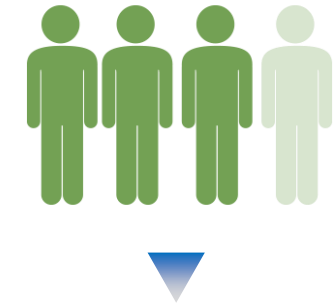
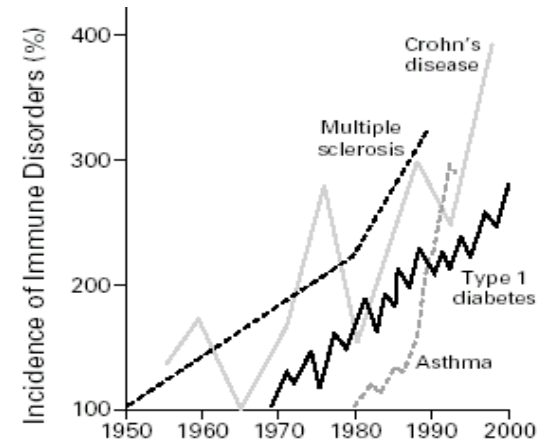
**Rupture de tolérance immunitaire:  
Perte d'homéostasie  
&  
Risque de troubles immunité-  
médiés**

# Malgré des progrès considérables de la médecine ...

L'incidence des maladies chroniques et de leurs complications croît, de façon incontrôlée, depuis ~60 ans...



Bach JF, N Eng J Med 2002



1 humain sur 4  
en 2025 (OMS)

quelques  
transitions  
récentes...

- ✓ Mode et environnement de naissance
- ✓ Habitudes de vie & de nutrition
- ✓ Exposition aux xénobiotiques

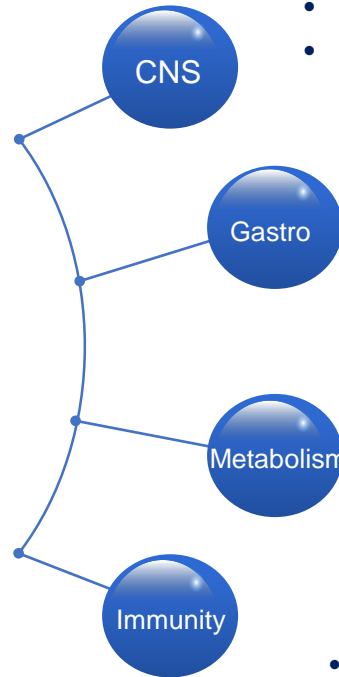
...l'espérance de vie est déjà impactée

... la prévention est un besoin urgent

# Du concept de dysbiose...

## Dysbiose

Microbiote altéré



- Autism Spectrum Disorders
- Major Depressive Disorders
- Multiple sclerosis

- IBD (CD, UC)
- IBS
- NASH syndrome
- Cirrhosis

- Insulin resistance (T2D)
- Metabolic syndrome
- Obesity

- Allergies
- Auto-immune diseases
- Cancer immunotherapy

# Du concept de dysbiose... à la rupture de symbiose

**Dysbiose** : Une altération de la symbiose microbes-hôte

Microbiote altéré

+

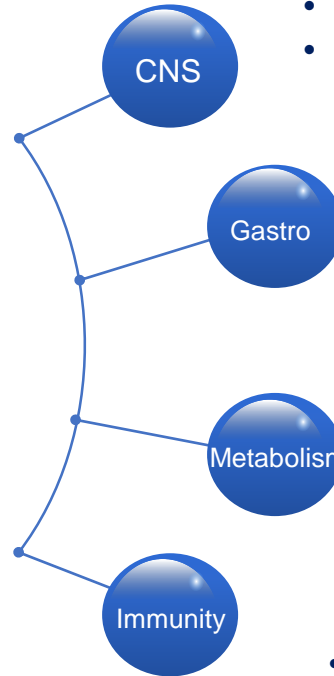
'hyper'-perméabilité intestinale

+

état inflammatoire (de bas grade)

+

stress oxydatif



- Autism Spectrum Disorders
- Major Depressive Disorders
- Multiple sclerosis

- IBD (CD, UC)
- IBS
- NASH syndrome
- Cirrhosis

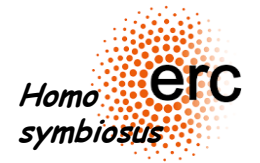
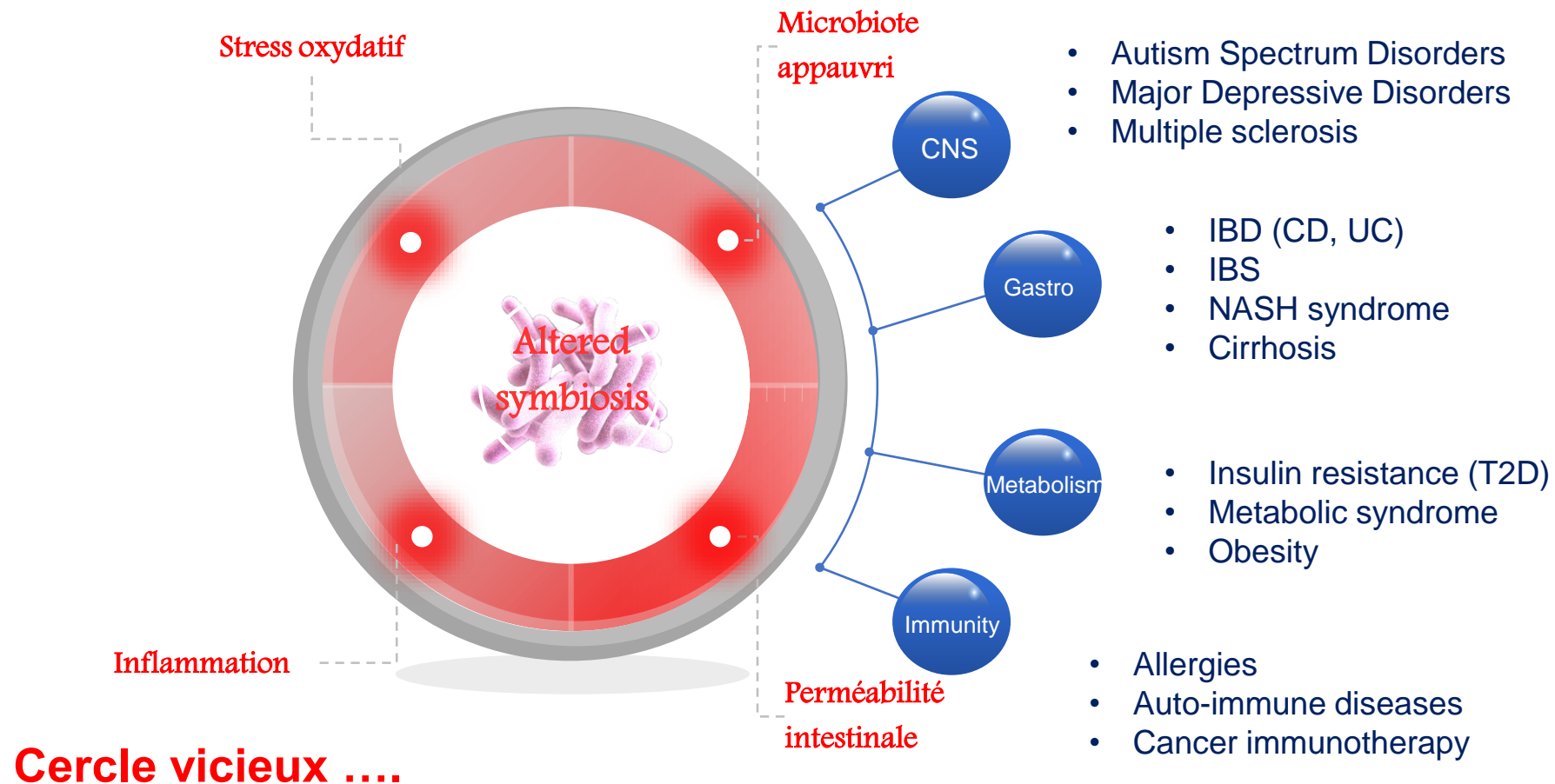
- Insulin resistance (T2D)
- Metabolic syndrome
- Obesity

- Allergies
- Auto-immune diseases
- Cancer immunotherapy



# De la rupture de symbiose...

Dysbiose : Une altération de la symbiose microbes-hôte



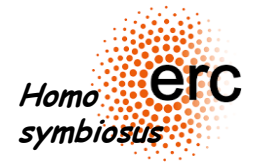
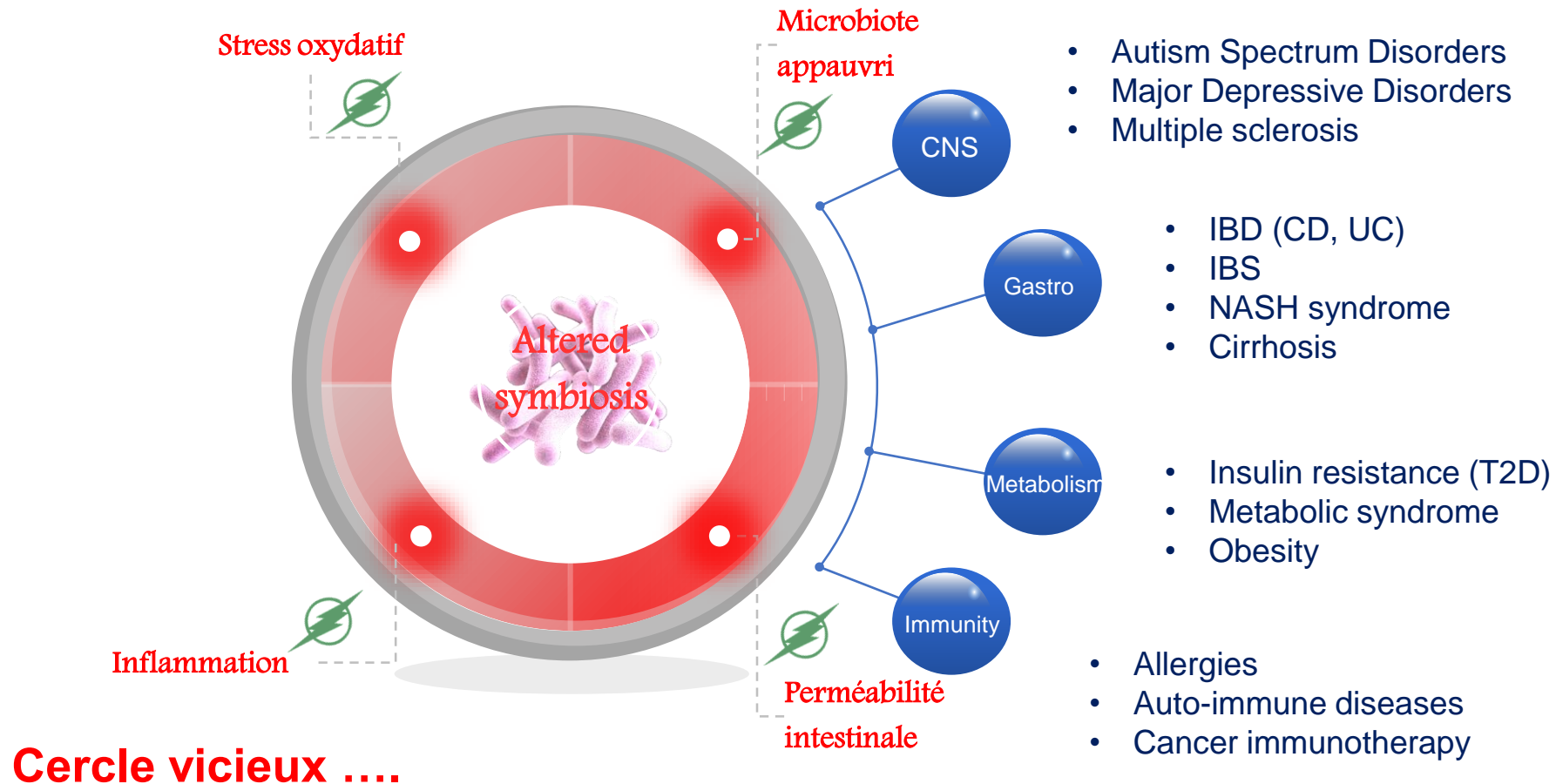
Van de Guchte, Blottiere & Doré.  
Microbiome. 2018.

Quatre leviers actionnables  
pour: diagnostic, prédiction,  
prévention et thérapie

Doré et al. Therapy. 2017.

# De la rupture de symbiose... aux tests de microbiomique

Dysbiose : Une altération de la symbiose microbes-hôte



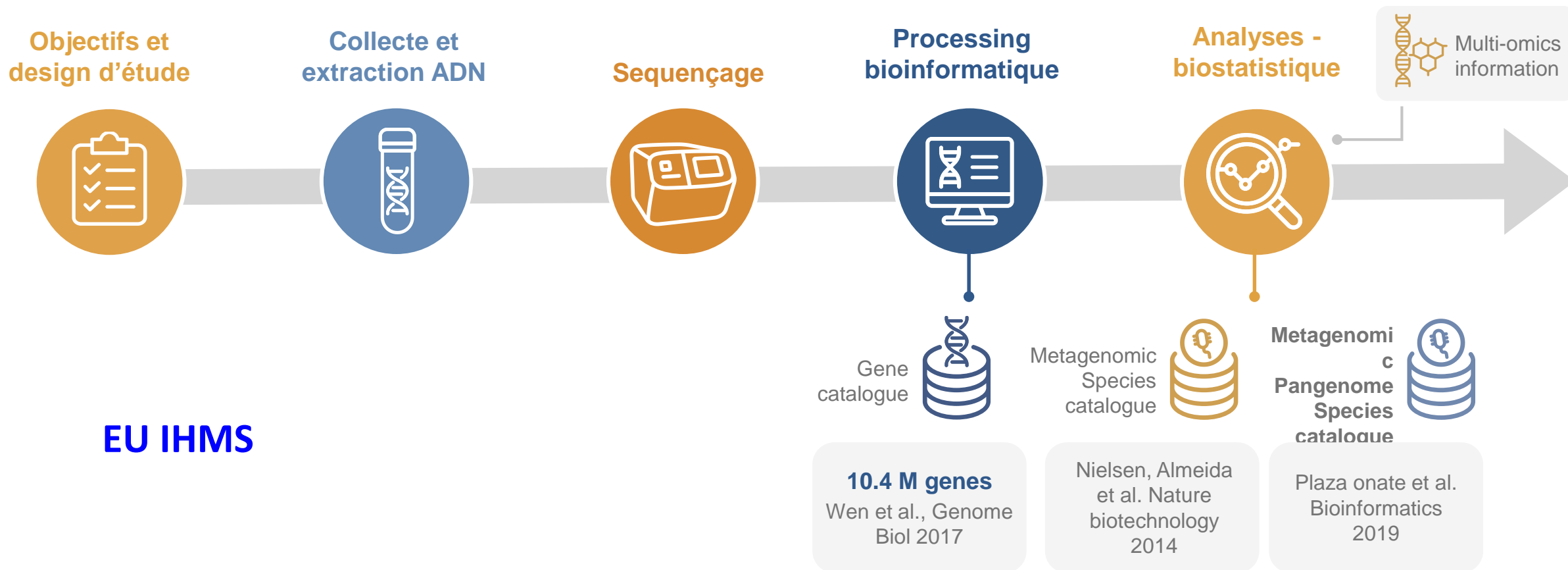
Van de Guchte, Blottiere & Doré.  
Microbiome. 2018.

 Quatre leviers actionnables pour: diagnostic, prédiction, prévention et thérapie

Doré et al. Therapy. 2017.

# Un pipeline haute résolution pour l'analyse du microbiome

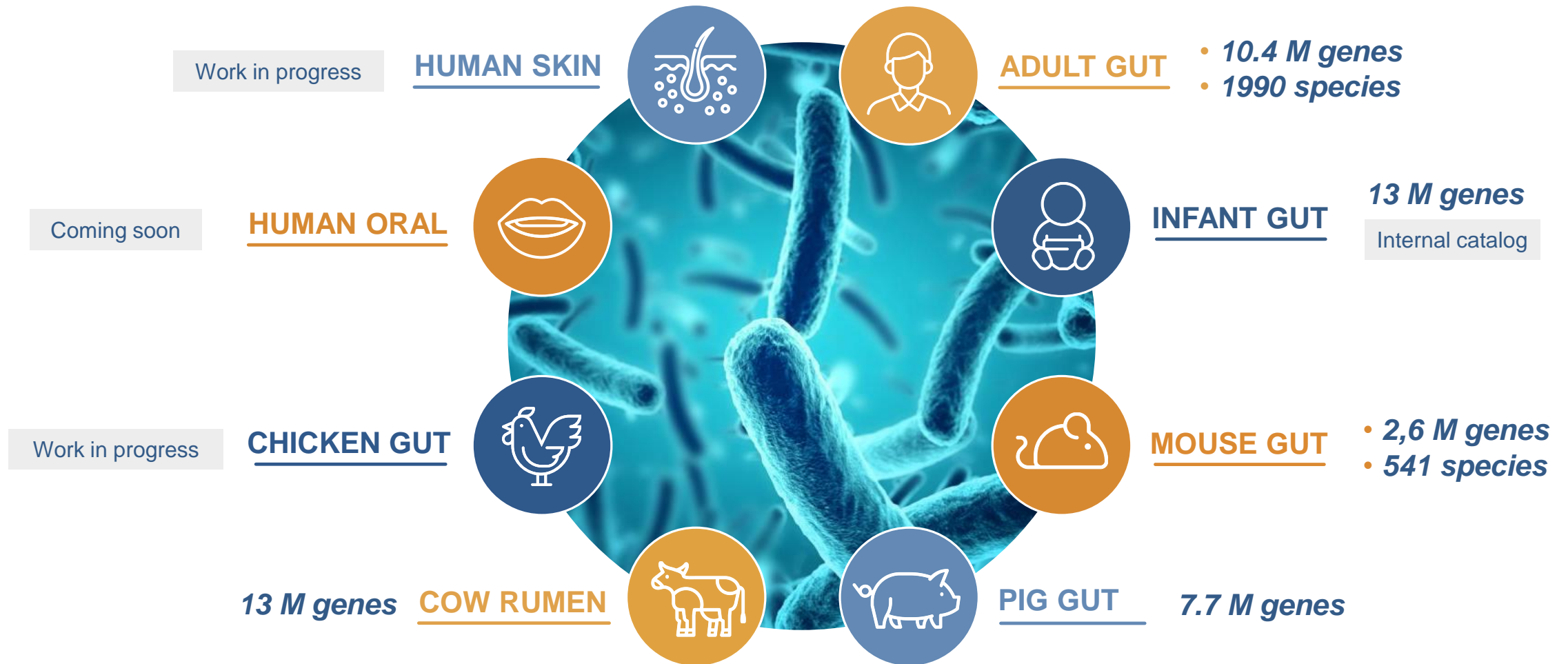
Pipeline de metagenomique pour analyse exhaustive au niveau souches



**La standardisation, un élément crucial à chaque étape du processus**

<http://www.microbiome-standards.org>

# Catalogues de référence des gènes et espèces des microbiomes



# Standardisation des procédures pré-analytiques et de data-science



*International Human Microbiome Standards – 2012-2017*

## *Rationel.*

Comprendre la symbiose hôte-microbes exige une  
**caractérisation des microorganismes associés à l'humain**  
- le microbiote

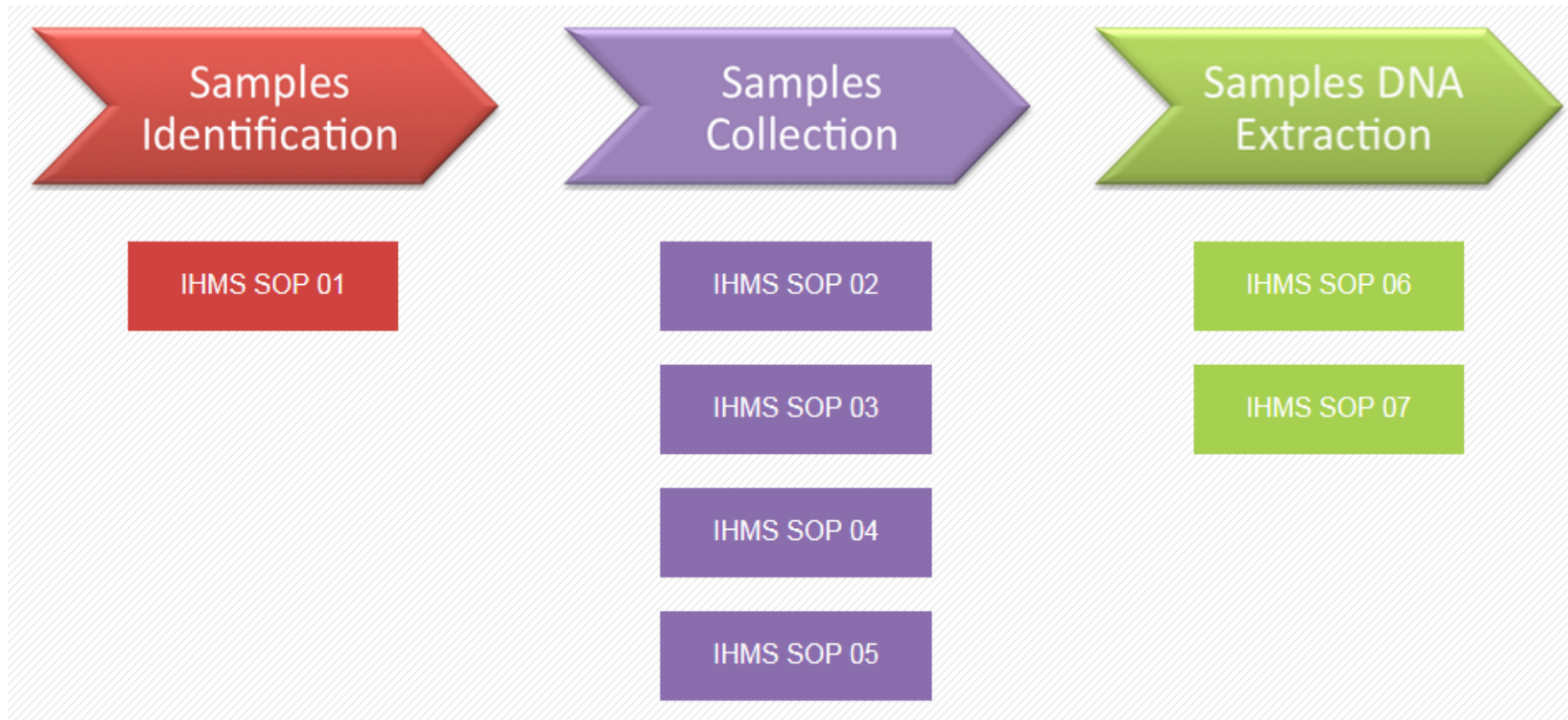
## *Objectifs de l'IHMS.*

Le projet IHMS a coordonné le développement de  
**Procédures Standardisées, définies pour optimiser la qualité et  
la comparabilité des données dans le domaine du microbiome.**

# Standardisation des procédures pré-analytiques et de data-science



## Collection and processing of human stool samples



# Standardisation des procédures - extraction d'ADN:



## International Human Microbiome Standards

### 2. Collection and processing of human stool samples

Dore, J., Ehrlich, S.D., Levenez, F, et al. and IHMS Consortium (2015)

**2 fecal samples A & B ; 200 aliquots each**

**ROUND#1: 21 protocols (mis en œuvre localement).**



IHMS SOP 06

IHMS SOP 07

**=> Sélection du top 5 protocoles ; 3 très similaires combinés en un consensus (kit commercial)**

**ROUND#2: 3 protocoles ; 4 participants (mis en œuvre des 3 protocoles) – transférabilité inter-laboratoires**

**=> 2 protocoles retenus (SOPs 06 & 07)**

# IHMS – WP2 PARTICIPANT LABORATORIES



**Legend: IHMS consortium members & WP2-associated participants**



**SCOTLAND (UK) :** Aberdeen ; **IRELAND :** Cork

**FRANCE :**

Jouy-en-Josas – INRA Micalis1

Jouy-en-Josas – INRA Micalis2

Evry – CEA Genoscope

Palaiseau,

Nantes

**SPAIN :**

Barcelona - HUVH

**CANADA :**

London (ON)

Guelph (ON)

Vancouver

**USA :**

Houston (TX) – BCM

Chapel Hill (NC)

Kannapolis (NC)

Gainesville (FL)

**FINLAND :** Helsinki

**DENMARK :** Copenhagen

**NETHERLANDS :** Wageningen,  
Maastricht

**GERMANY:** Nuthetal

Heidelberg – EMBL

**AUSTRIA:** Graz

**JAPAN :**

Kanagawa

**CHINA :**

Shanghai - SJTU

Shenzhen - BGI



a place of mind  
THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA

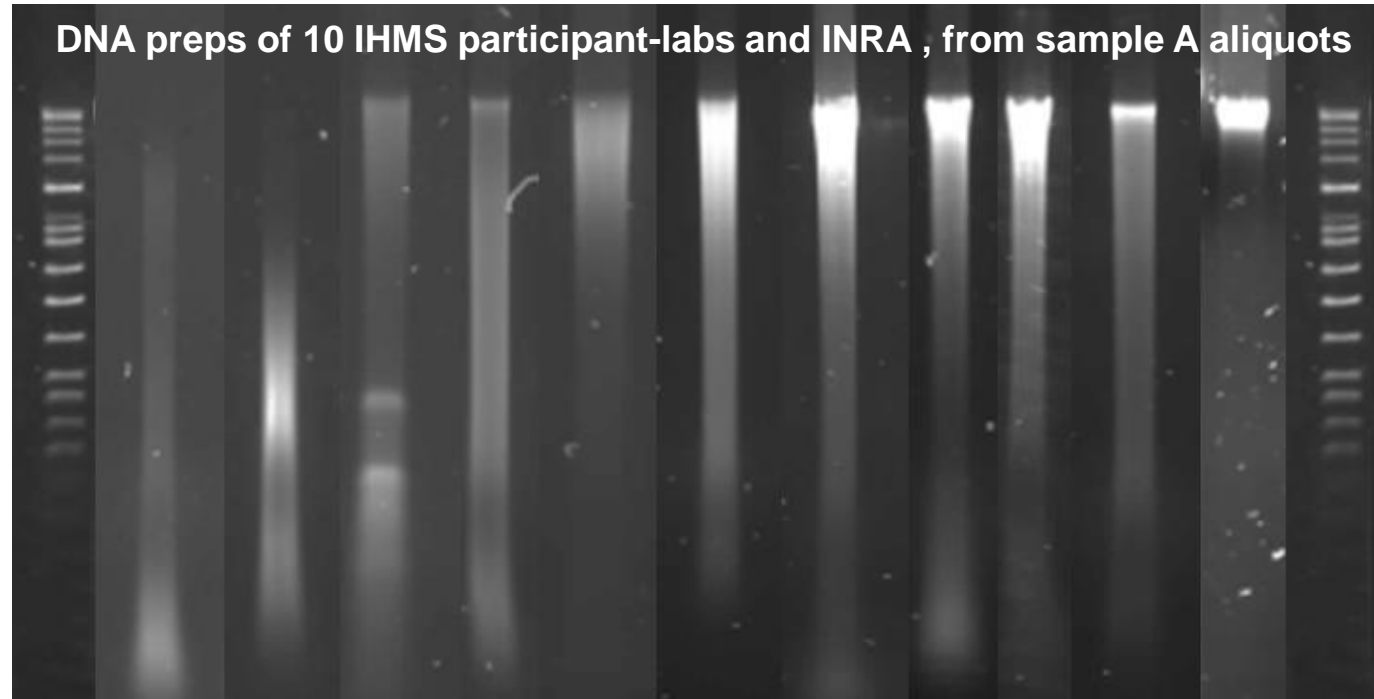


**AUSTRALIA :**  
Brisbane



# Standardisation des procédures - extraction d'ADN:

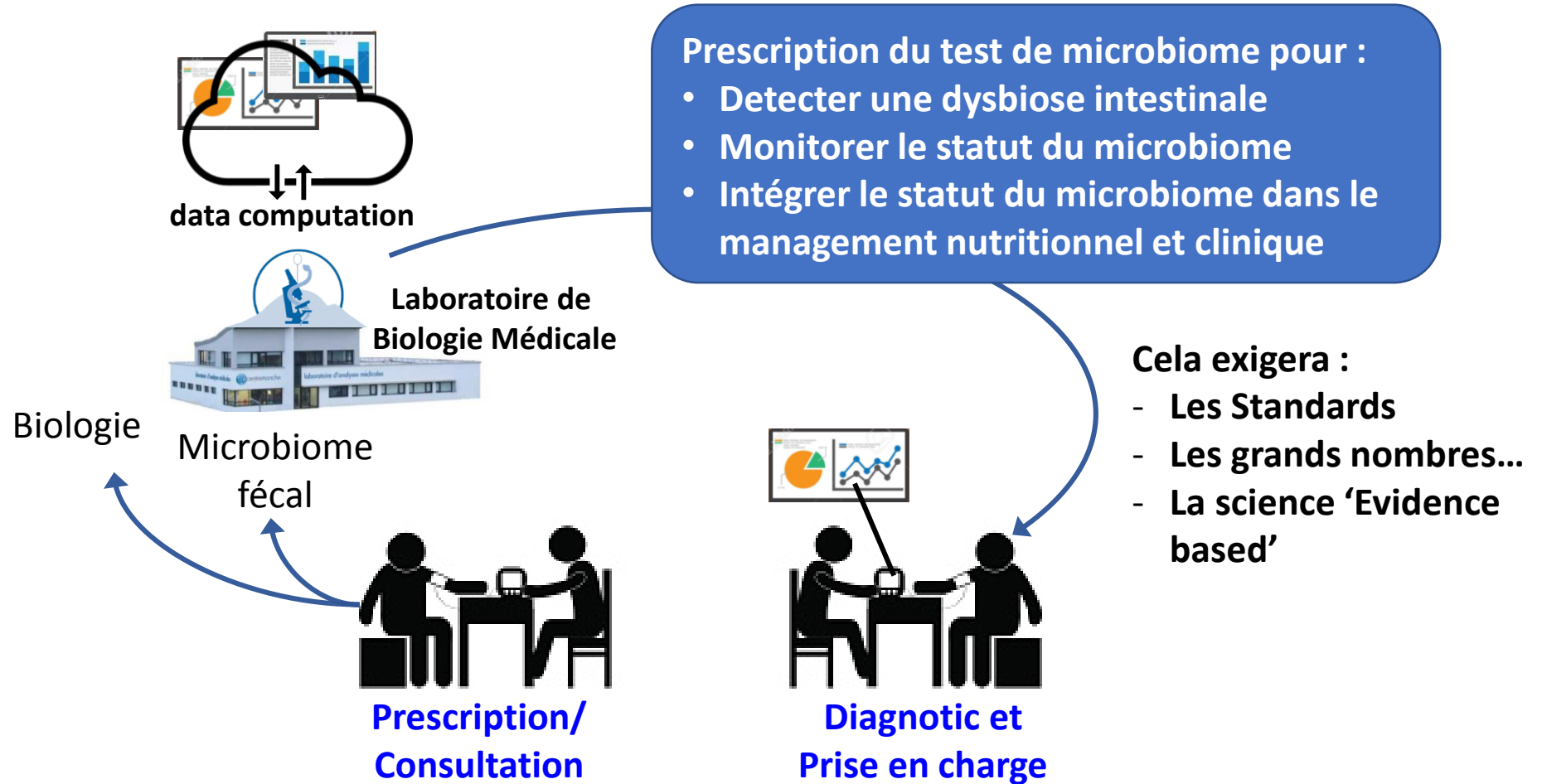
## IHMS : exemple de QC sur extraits d'ADN



*Note: figure reconstruite à partir de 11 gels d'électrophorèse*

**2.5 à 278 ng/ $\mu$ L      avec    82ng à 16 $\mu$ g par préparation ;  
à partir d'aliquots de 150 mg (différence 100 à 200X)**

# Vers le test de microbiomique pour le diagnostic et le monitoring



## Vers un million de microbiomes

### Million Microbiome of Humans Project MMHP

Officially launched the October 26th, 2019 at the 14th International Conference on Genomics (ICG-14)

International microbiome research program

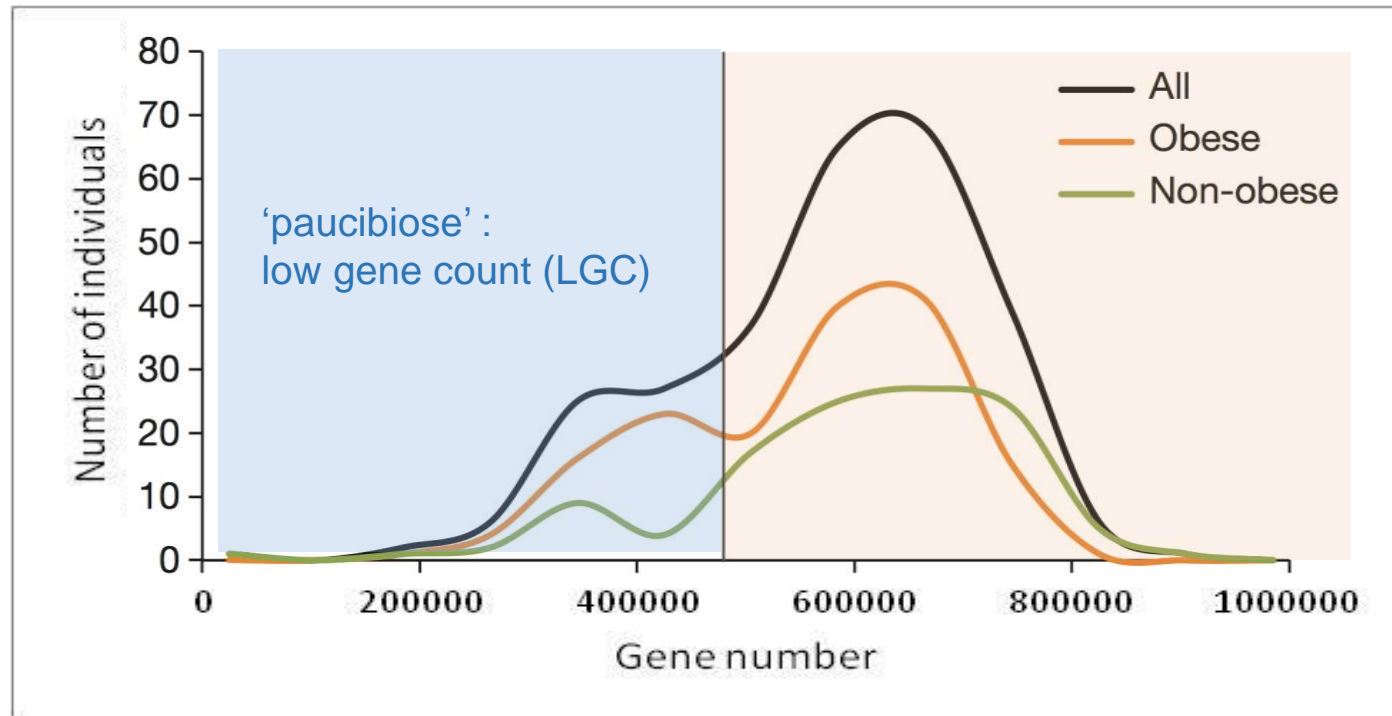
**Intégré au MMHP,**

**MGP initie en 2022 le projet de caractérisation de **100,000 Microbiomes de personnes résidant en France**, par une approche de Science Citoyenne et le réseau France-cohorte**

**Avec le soutien de **la Microbiome Foundation et un club de partenaires****

# Exemple de métrique : le compte en gènes

Distribution bimodale en population (Français et Danois) sur la base de la valeur du compte de gènes  
faible compte en gènes à fort compte en gènes



LGC:

≈ 15 % sujets non-obèses

≈ 40% surpoids

≈ 75% obèses morbides

Un faible compte en gènes (**paucibiose**) est associé à :

- Des symptômes métaboliques & inflammatoires dans le surpoids et l'obésité ([LeChatelier Nature 2013](#))
- Une non-réponse à la restriction calorique dans le surpoids et l'obésité ([Cotillard Nature 2013](#))
- Une cirrhose plus sévère et d'aggravation plus rapide ([Qin Nature 2014](#); [Solé Gastroenterology 2020](#))
- Une non-réponse à l'immunothérapie du cancer ([Routy Science 2018](#), [Gopalakrishnan Science 2018](#))

# Quelques messages

...

- nos tissus et organes interagissent avec nos microbiotes, avec des bénéfices mutuels typiques d'une symbiose.
- une symbiose altérée s'accompagnera de perte de fonctions protectrices.
- L'analyse du microbiote est aujourd'hui réalisable en conditions standardisée.
- des paramètres numériques peuvent donner une vision robuste et fiable de l'état du microbiote
- Cela conduit à un potentiel d'innovation majeur pour le diagnostic, au service de la pratique médicale à venir.



# 'Merci de votre attention'

[joel.dore@inrae.fr](mailto:joel.dore@inrae.fr)

**FluE/Lapaque lab,**  
Micalis Institute

**Nicolas Lapaque,**  
**Joël Doré,**  
**Hervé Blottière,**  
Catherine Juste,  
Christel Béra-Maillet,  
Jean-Marc Lelièvre,  
Alexandre Jamet,  
Maarten van de Guchte,  
Stanislas Mondot,  
et al....



**MetagenoPolis**

**Alexandre Cavezza**  
**S. Dusko Ehrlich**  
**Joël Doré**  
**Hervé Blottière**  
**Mathieu Almeida**  
**Christian Morabito**  
**Hugo Roume**  
Florence Haimet  
Nicolas Pons  
Emmanuelle Le Chatelier  
Véronique Lejard  
Magali Berland  
et al....



MetaHIT consortium

**Karine Clément** (ICAN, CHU Pitié Salpêtrière)  
& MetaCardis Consortium **MetaCardis**

Harry Sokol (Hôpital Saint Antoine)

Sven Pettersson et col. (Karolinska Institute)

Maria Rescigno (IEO, Milan)

Oluf Pederson (Novo Nordisk Foundation, Copenhagen)

Francisco Guarner (Val Hebron Hosp., Barcelone)

Mark Morisson (U of Queensland, Brisbane)





# Un pipeline haute résolution pour l'analyse du microbiome

Recueil  
d'échantillons

Séquençage

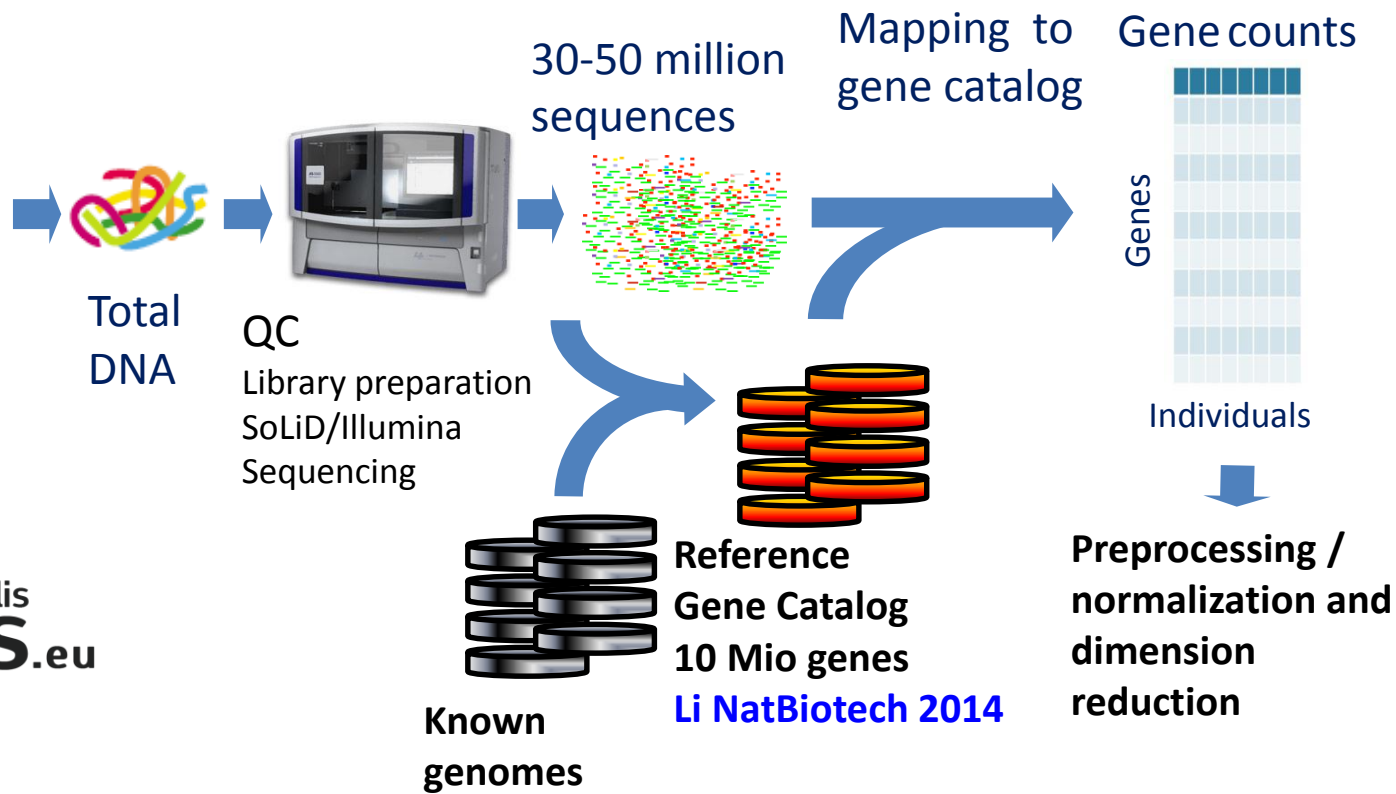
Construction de  
référence

Profilage  
des gènes

Bioinformatique  
& analyses  
statistiques



Stool  
sample

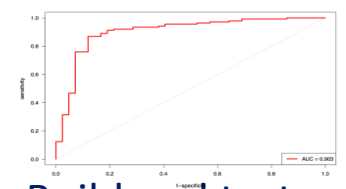


relate to  
human data



Identify relevant  
microbial players

Nielsen NatBiotech 2014



Build and test  
prediction models



La standardisation, un élément crucial à chaque étape du processus

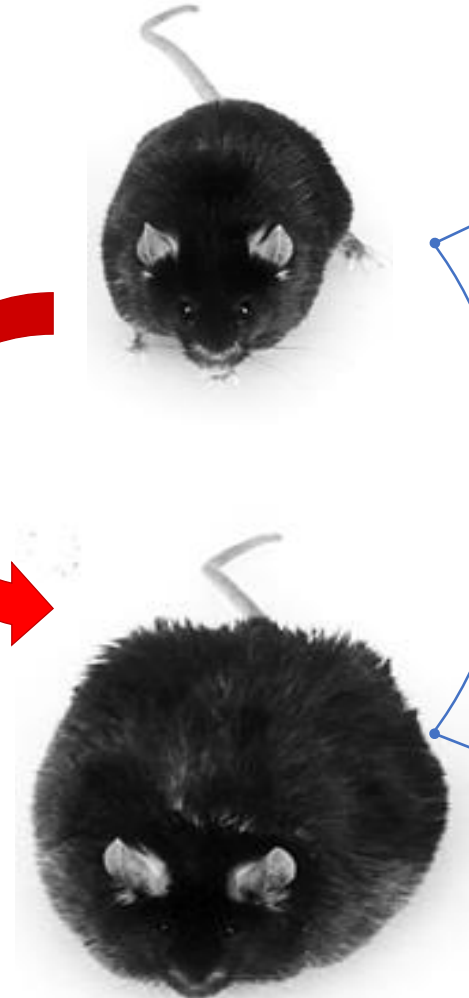
<http://www.microbiome-standards.org>



# Transfert de microbiote : quand le microbiote peut construire une symbiose altérée et conférer un risque ou reproduire les symptômes d'affections chroniques



« Avatar humanisé »  
L. Zitvogel



CNS

- Autism Spectrum Disorders
- Major Depressive Disorders
- Multiple sclerosis

Gastro

- IBD (CD, UC)
- IBS
- NASH syndrome
- Cirrhosis

Metabolism

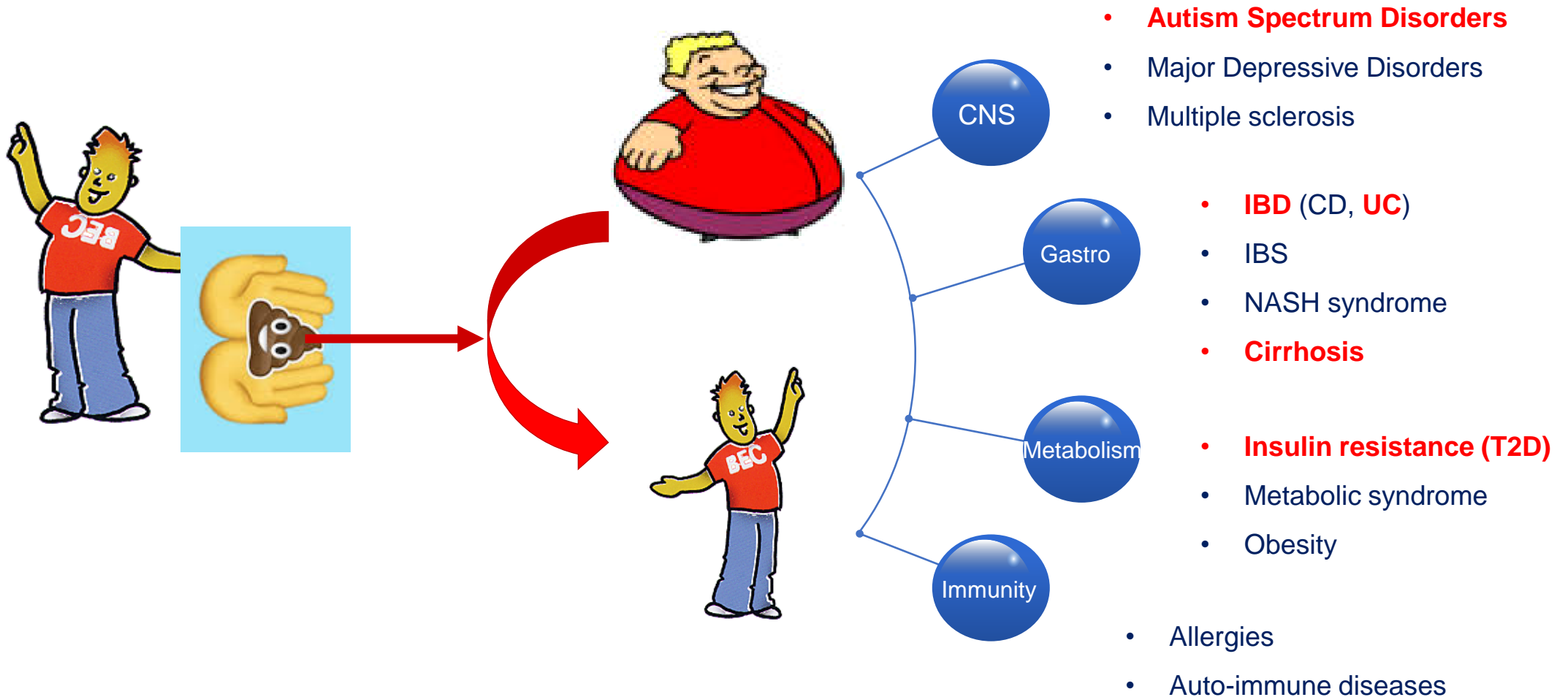
- Insulin resistance (T2D)
- Metabolic syndrome
- Obesity

Immunity

- Allergies
- Auto-immune diseases

Turnbaugh 2006, Ridaura 2013, Le roy 2013, Llopis 2016, Schaubeck 2016, Sharon 2019, Kelly 2016, Harach 2017 (no disease in GF), Berer, Comm @ Bdebates 2019, Sun 2018 (cure in mouse model), Routy 2018

# Transfert de microbiote : quand le microbiote peut restaurer la symbiose et atténuer les symptômes d'affections chroniques



# Microbiote et homéostasie immunitaire

## - deux leviers majeurs de la symbiose -

