

Webinaire Microbiote et immunité : Interactions essentielles en santé humaine ?

Impact d'une supplémentation maternelle en prébiotiques sur les interactions du microbiote intestinale avec le système immunitaire et conséquences sur la survenue de l'allergie chez la descendance.

Marie Bodinier

Directeur de Recherche INRAE

Responsable de l'équipe Allergie

UR 1268 BIA – Centre INRAE Pays de la Loire

marie.bodinier@inrae.fr

Allergies – Prévalence – Evolution

➤ **Réel problème de santé publique:** 4ème pathologie mondiale selon l'OMS.

➤ Allergies en 2020  → en 2050 

➤ **3 formes d'allergies :**

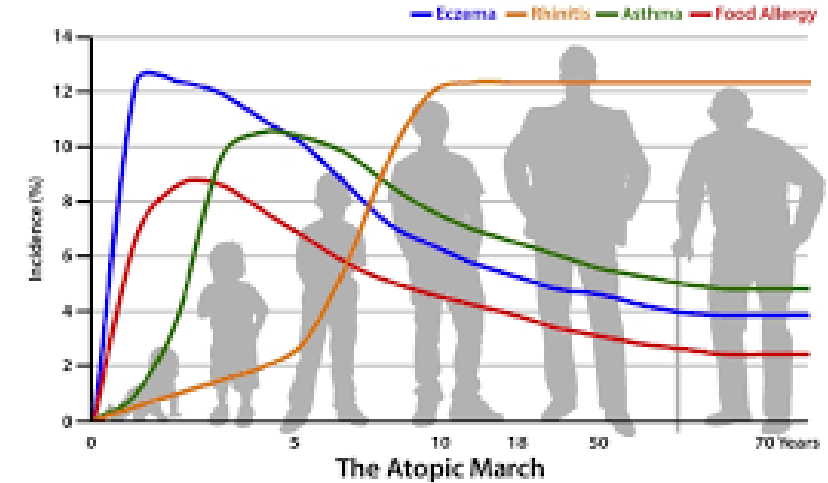
❖ **DA** : 10-15 % des enfants européens (Nakahara, 2021)



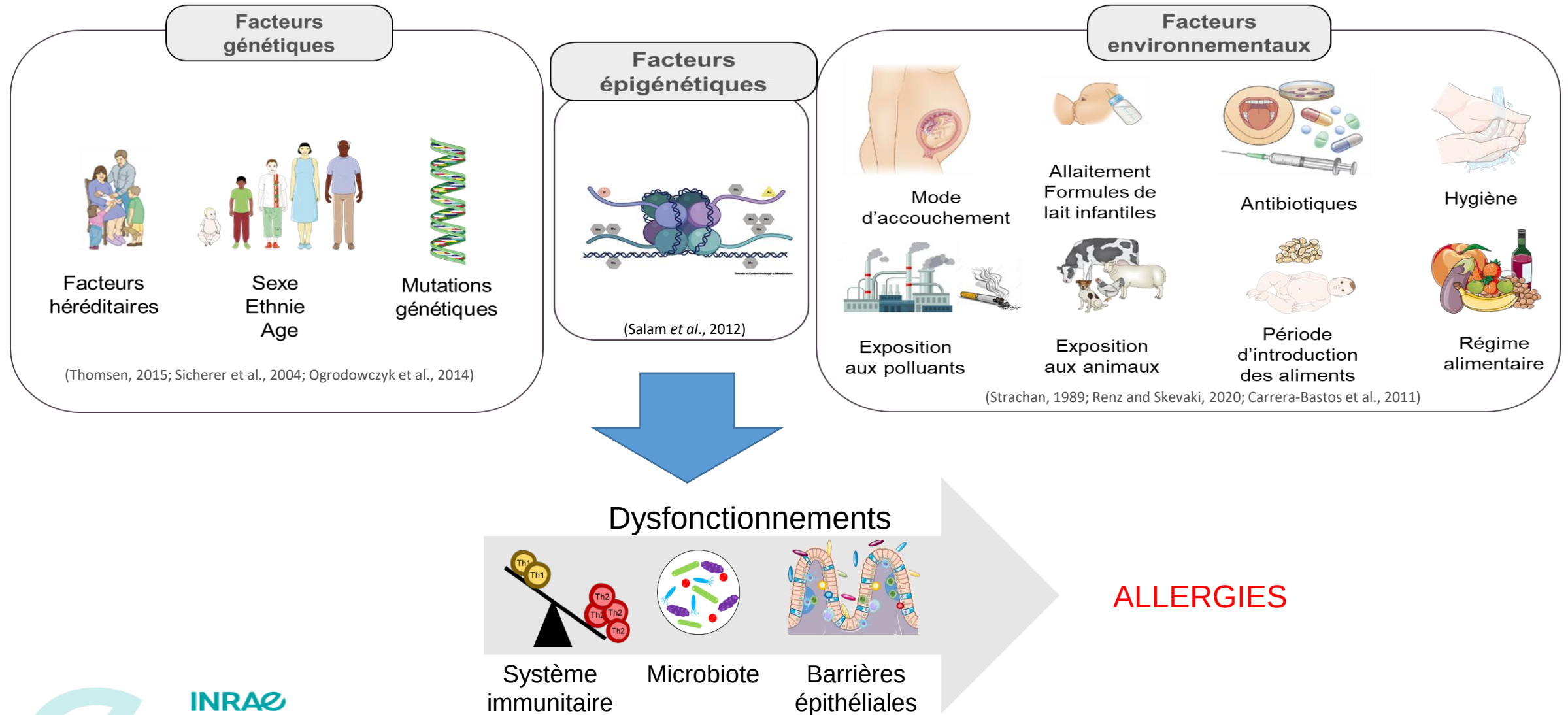
❖ **AA** : 6 % des enfants de 5 ans et moins en France (Tamazouzt, 2021)



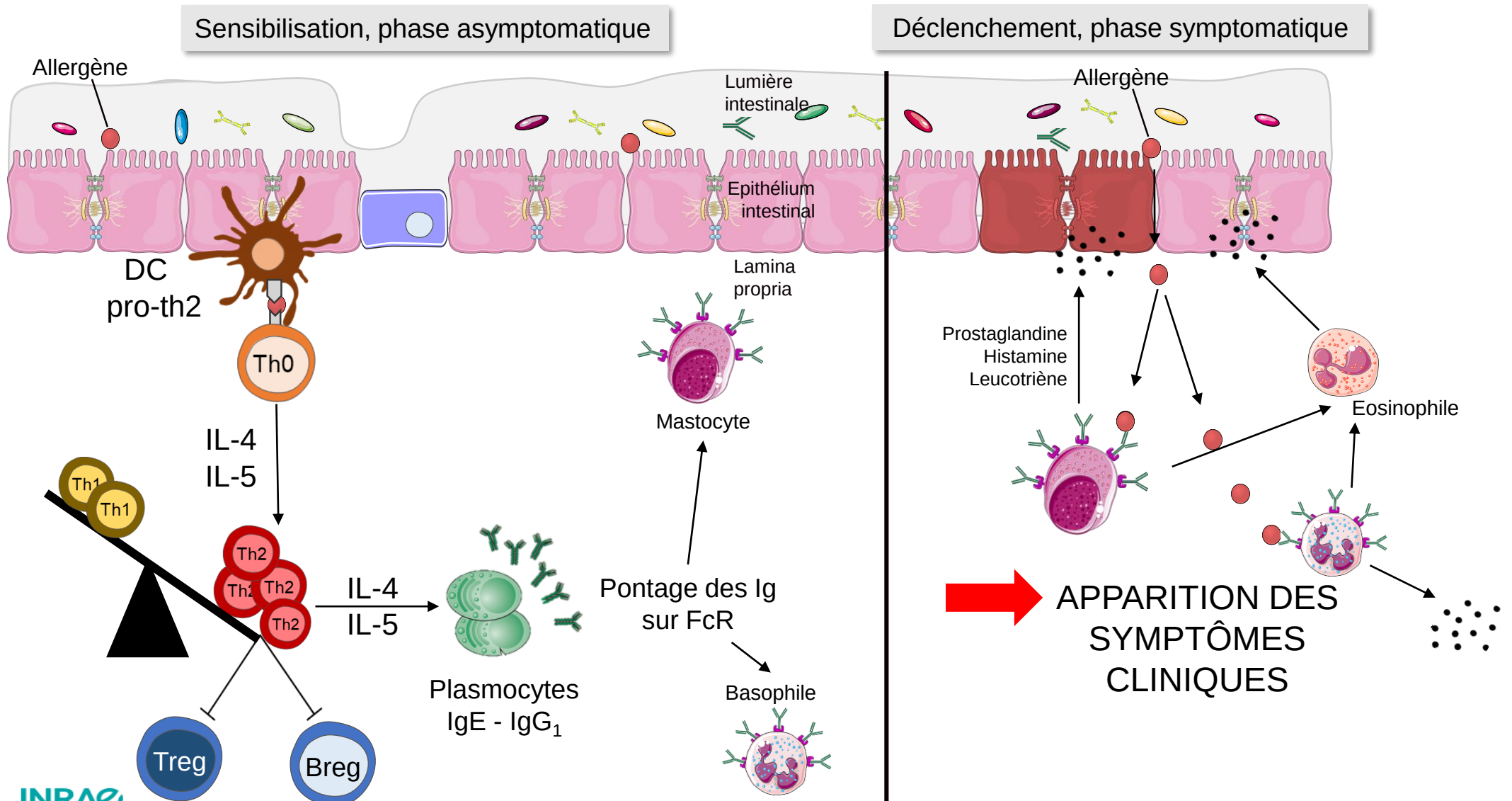
❖ **AR** : 20 à 30% de la population européenne (Bjorksten, 2008)



Facteurs de risque des allergies



Dysfonctionnement du SI



Dysfonctionnement du microbiote

- Ensemble des micro-organismes colonisant les muqueuses et évoluant en symbiose avec leur hôte (Cho and Blaser, 2012)

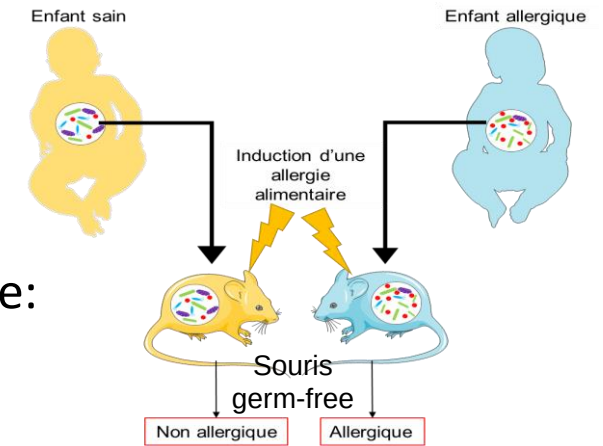
- ❖ 1 million de bactéries par cm² de peau
- ❖ 100 000 milliards de bactéries dans l'intestin

- **Notion de dysbiose dans l'allergie** : Perturbation de la composition bactérienne:

- ❖ Richesse : α diversité
- ❖ Abondance : β diversité

- **Exemples:**

- ❖ Nourrissons allergiques à l'œuf (Fazlollahi et al. 2018) :
Augmentation de l' α diversité bactérienne intestinale.
Genres des familles Lachnospiraceae et Streptococcaceae enrichis.
- ❖ Nourrissons avec DA + AA (Fieten et al. 2018) :
Bifidobacterium breve, Bifidobacterium adolescentis, Faecalitznii bacterium, Akkermansia muciniphila diminués
- ❖ Patients atteints de DA (Łoś-Rycharska et al, 2021 ; Lee et al., 2018) :
Pas de différence d' α diversité du microbiote dermique ou fécal.
Augmentation des clostridies, Clostridium difficile, Escherichia coli et Staphylococcus aureus (S. aureus) dans le microbiome intestinal. Les bifidobactéries, les Bacteroidetes et les Bacteroides sont diminuées.
Proportion plus élevée de S. aureus dans le microbiome cutané.



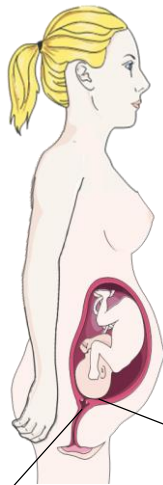
(Rodriguez et al., 2012; Feehley et al., 2019)

Origine des allergies



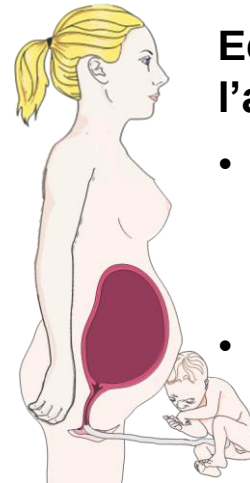
(Wopereis et al., 2014)

- Période clé pour le développement des systèmes biologiques
- Echanges entre la mère et son enfant



Echanges fœto-maternels

- Immuns (Elefant, 2012; Pfefferle et al., 2010; Kinder et al., 2017)
- Microbiens (Jiménez et al., 2005; Aagaard et al., 2014; Martinez et al., 2018)
- Métaboliques (Priyadarshini et al., 2014)



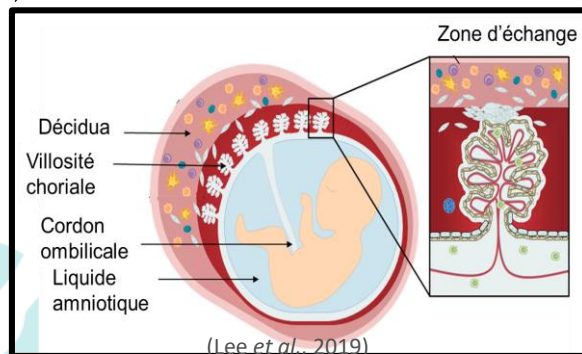
Echanges à l'accouchement

- Transfert du microbiote primaire de la mère à l'enfant (Dominguez-Bello et al., 2010)
- « L'empreinte microbienne » (Al Nabhani and Eberl, 2020)



Echanges post-partum

- Lait maternel (Bäckhed et al., 2015)
- Contacts quotidiens (Drell et al., 2017)



(Lee et al., 2019)

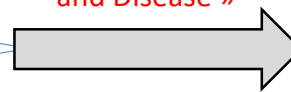
[illegible]

(Mandy and Nyirenda, 2018)

Adapté de Wopereis et al., 2014



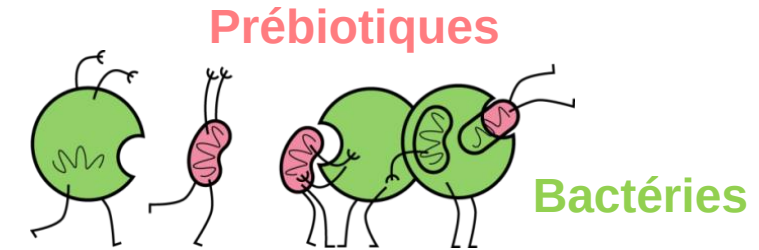
Exposition directe

« Developmental
Origins of Health
and Disease »

**Susceptibilité
aux
pathologies**

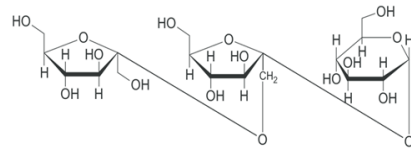
Prébiotiques

= des substrats utilisés de manière sélective par les microorganismes hôtes qui procurent des bienfaits pour la santé

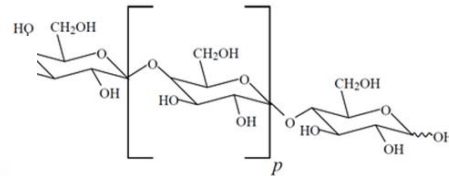


- Fructanes (fructo-oligosaccharides FOS)

- Inuline



- Galactanes (galacto-oligosaccharides GOS)



Augmentent les bactéries bifidogènes qui sont bonnes pour la santé

Lactobacillus (*L. gasseri*, *L. casei*)

Bifidobacterium (*B. breve*, *B. adolescentis*)

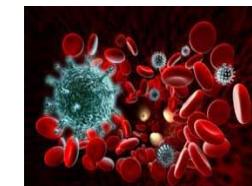
Ruminococcaceae (*Faecalibacterium prausnitzii*)

Bacteroidaceae (*Prevotella*)



Renforcent la barrière intestinale

ZO, MUC, claudines



Induisent un environnement toléroène

DC CD103+, Treg

IL10, IgA

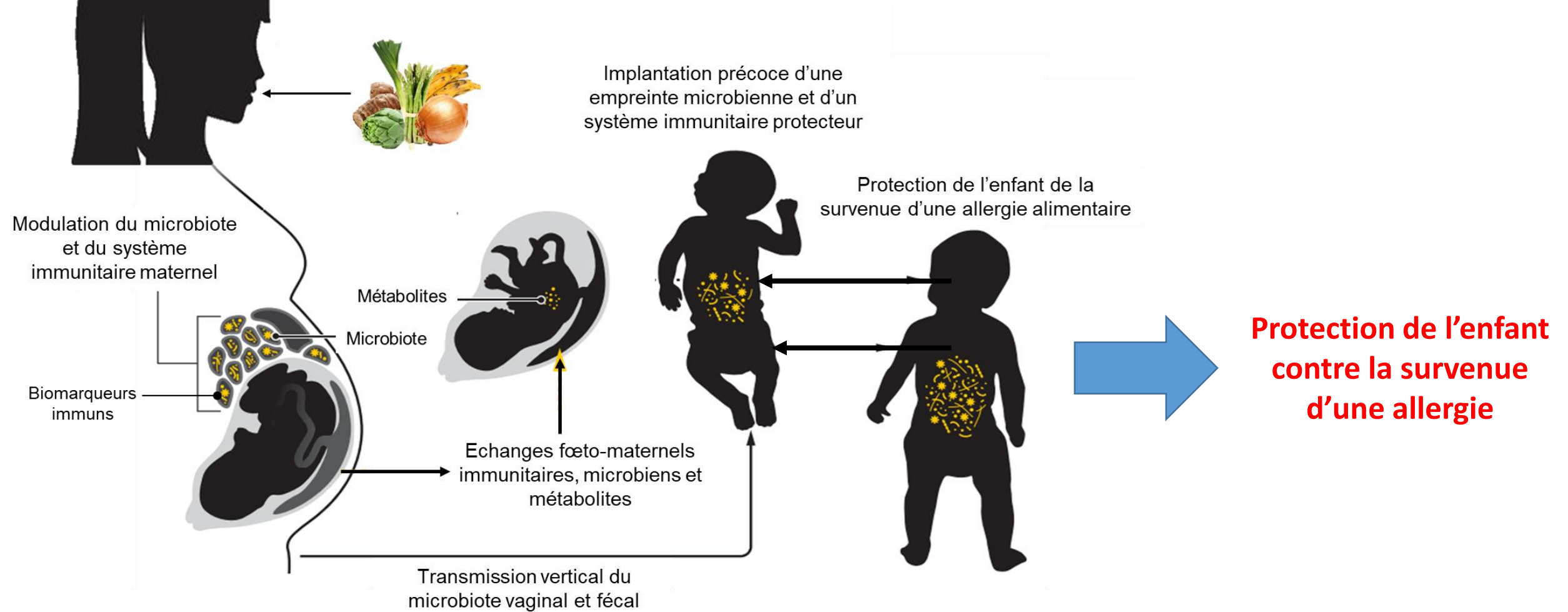
Ratio GOS/inuline 9:1

INRAE

Prévention des allergies par les prébiotiques

30/06/2021 M Bodinier

Notre hypothèse



Stratégie de recherche

Objectif: Démontrer qu'une supplémentation en prébiotiques GOS/inuline pendant la grossesse est efficace pour prévenir de l'allergie - approche translationnelle.

- **Modèles précliniques:** évaluer les mécanismes des prébiotiques sur le SI, les barrières et le microbiote et valider leur effet préventif des prébiotiques sur l'allergie alimentaire

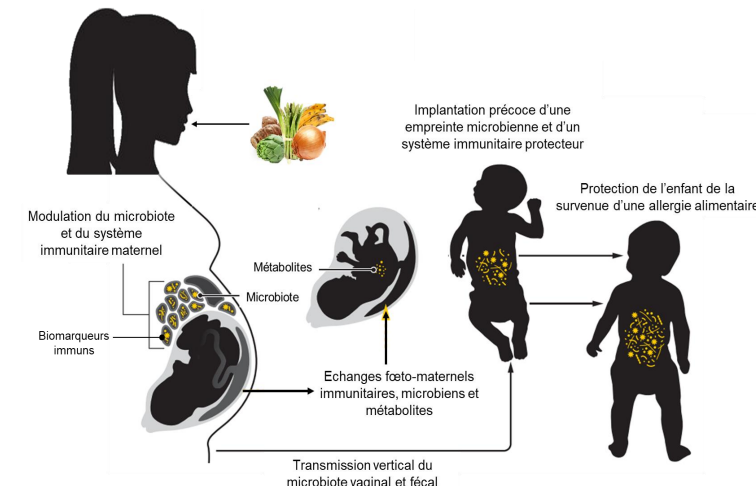


- **Essais cliniques:** valider chez l'homme la prévention des allergies par une supplémentation maternelle en prébiotiques :

- ❖ PREGRALL, France (S. Barbarot)

- ❖ ANR CIMMAP (M. Bodinier)

EN COURS D'ANALYSE



INRAE

Prévention des allergies par les prébiotiques

30/06/2021 M Bodinier

Stratégie de recherche

Objectif: Démontrer qu'une supplémentation en prébiotiques GOS/inuline pendant la grossesse est efficace pour prévenir de l'allergie - approche translationnelle.

- **Modèles précliniques:** évaluer les mécanismes des prébiotiques sur le SI, les barrières et le microbiote et valider leur effet préventif des prébiotiques sur l'allergie alimentaire

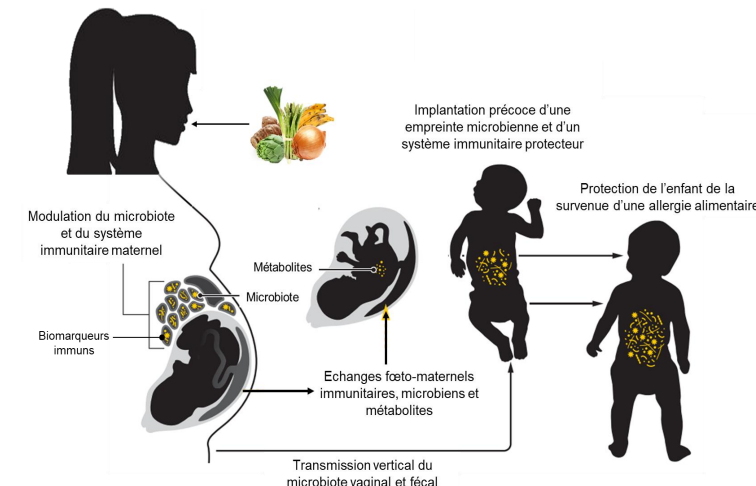


- **Essais cliniques:** valider chez l'homme la prévention des allergies par une supplémentation maternelle en prébiotiques :

- ❖ PREGRALL, France (S. Barbarot)

- ❖ ANR CIMMAP (M. Bodinier)

EN COURS D'ANALYSE



INRAE

Prévention des allergies par les prébiotiques

30/06/2021 M Bodinier

Etudes précliniques sur la prévention des allergies par les prébiotiques utilisés chez la mère pendant la gestation

1



AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE
ANR

Caractériser les effets immuns et métaboliques *in utero* sur le fœtus et dans les tissus fœto-maternels

2



Food for Tomorrow | Cap Aliment
Recherche, Formation & Innovation en Pays de la Loire

Évaluer l'effet préventif sur l'allergie alimentaire chez la descendance

Caractériser les effets immuns et microbiens chez les descendants allergiques

INRAE

Prévention des allergies par les prébiotiques

30/06/2021 M Bodinier

Etudes précliniques sur la prévention des allergies par les prébiotiques utilisés chez la mère pendant la gestation

1



AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE
ANR

Caractériser les effets immuns et métaboliques *in utero* sur le fœtus et dans les tissus fœto-maternels

2



Food for Tomorrow | **Cap Aliment**
Recherche, Formation & Innovation en Pays de la Loire

Évaluer l'effet préventif sur l'allergie alimentaire chez la descendance

Caractériser les effets immuns et microbiens chez les descendants allergiques

Effets des prébiotiques *in utero*

Jour 0



Jour 18

CONTROLE

PREBIOTIQUES

Sacrifice

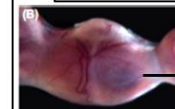
Tissus fœtaux



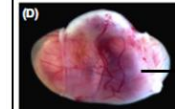
Fémurs

Intestin

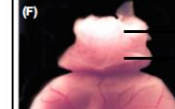
Tissus gestationnels



Liquide amniotique



Utérus



Décidua
Placenta

Tissus maternels



Rate

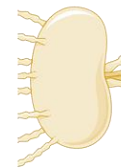


Fémurs



Selles

Descendance 7 semaines de vie



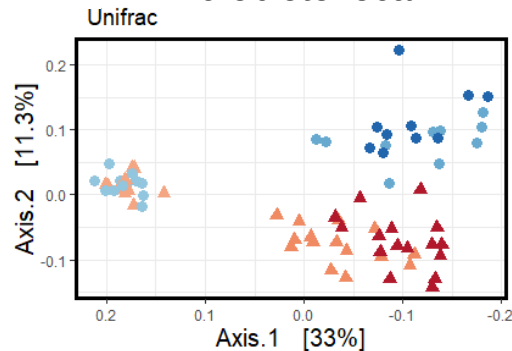
Ganglions lymphatiques

1

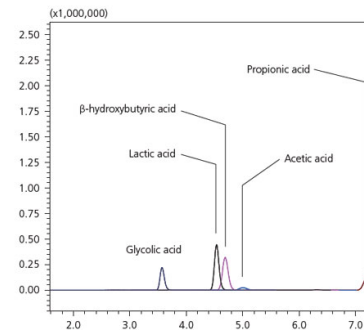


Micalis

Séquençage 16S du microbiote fécal

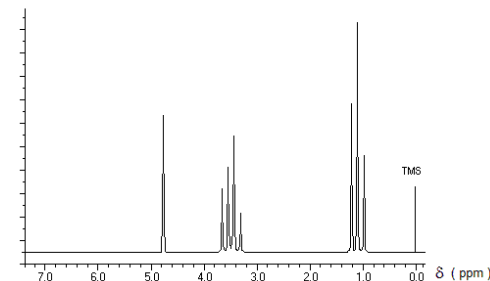


Chromatographie en phase gazeuse des AGCC fécaux



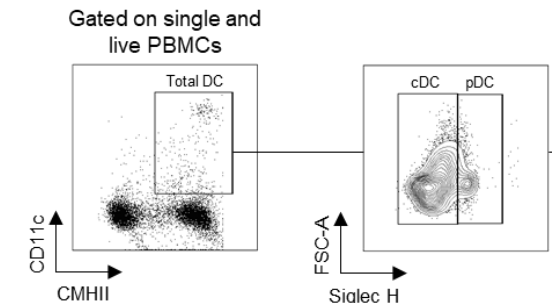
Genotoul Metatoul

RMN sur le liquide amniotique



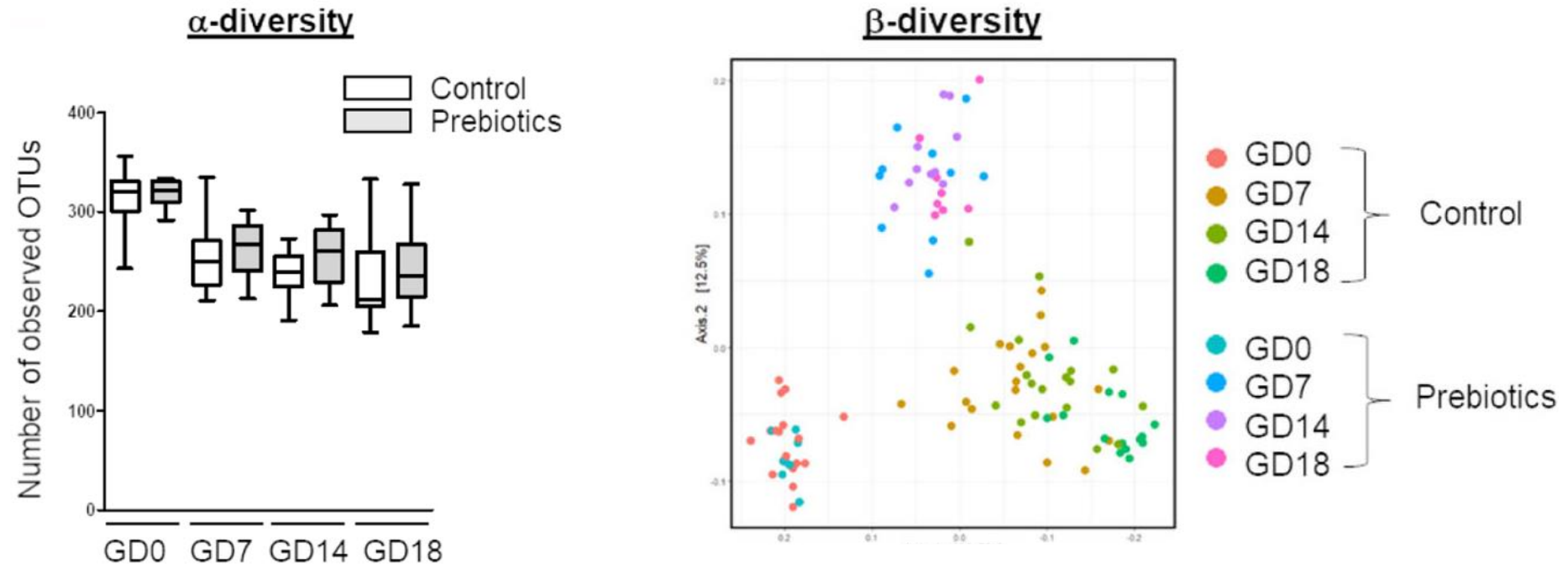
INRAE

Cytométrie en flux des populations cellulaires



Microbiote maternel fécal

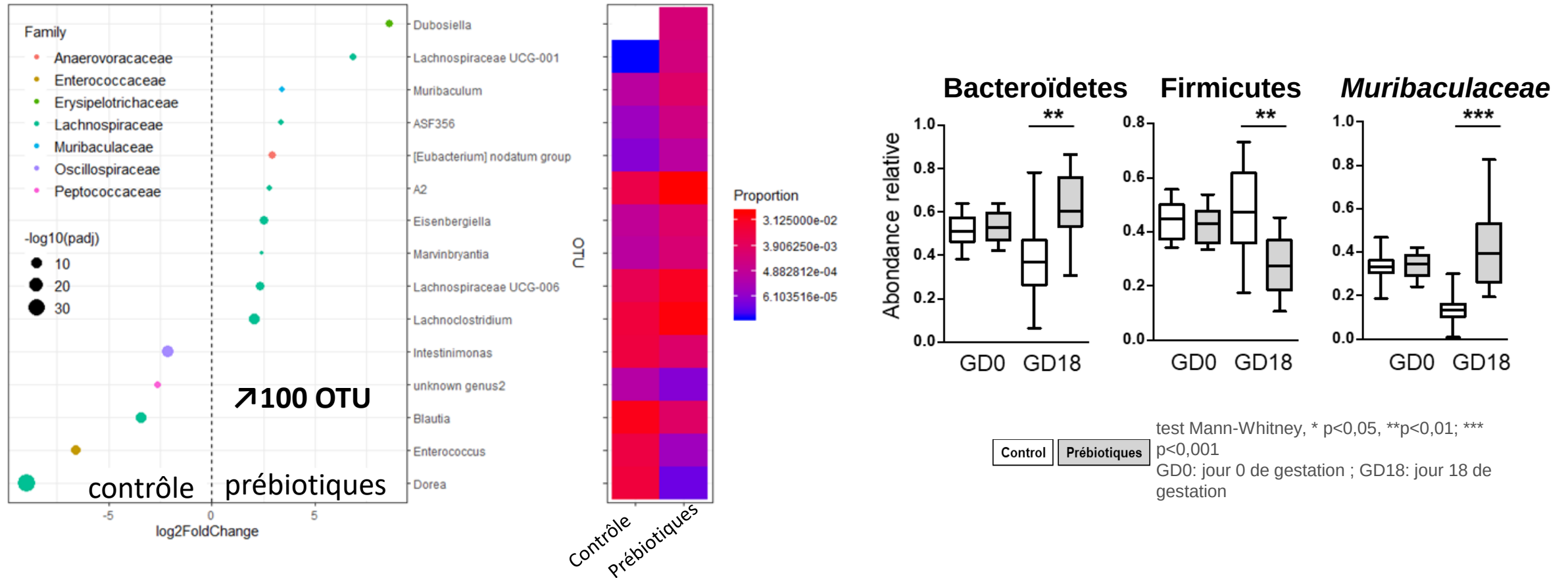
Composition du microbiote fécal par séquençage de l'ARNr 16S au cours de la gestation



Difference significative en terme de β -diversité mais pas d' α -diversité entre les mères contrôles et celles supplémentées en prébiotiques.

Etude du microbiote fécal maternel

Composition du microbiote fécal le 18^{ème} jour de gestation par séquençage de l'ARNr 16S



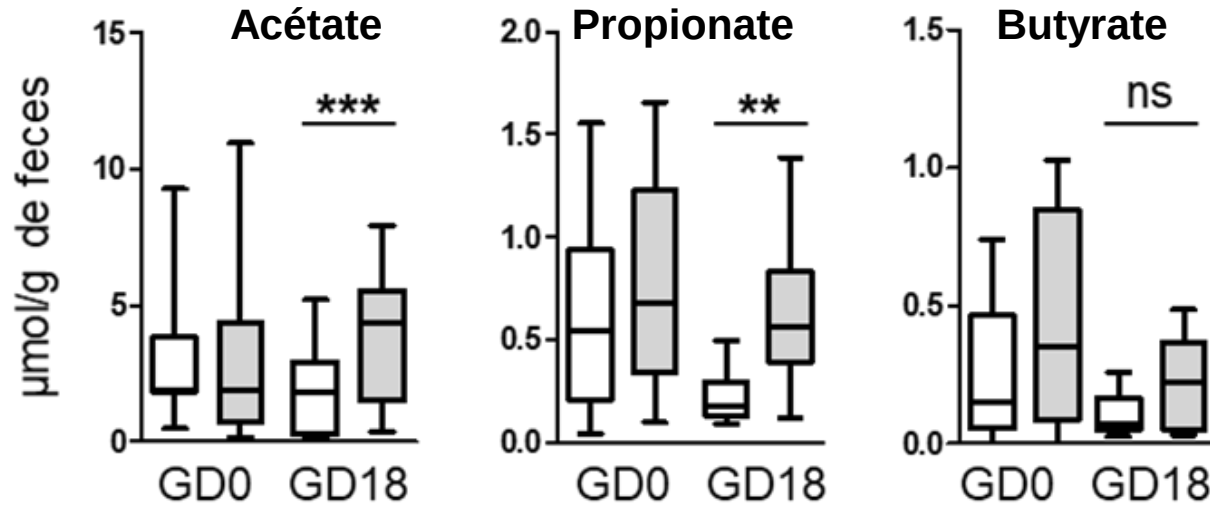
La supplémentation en prébiotiques augmente les Bacteroïdetes et les *Muribaculaceae* au détriment des Firmicutes dans le microbiote fécal

Etude des acides gras à chaines courtes

Quantification des AGCC dans les fécès et le liquide amniotiques par chromatographie en phase gazeuse et par RMN le **18^{ème} jour de gestation**



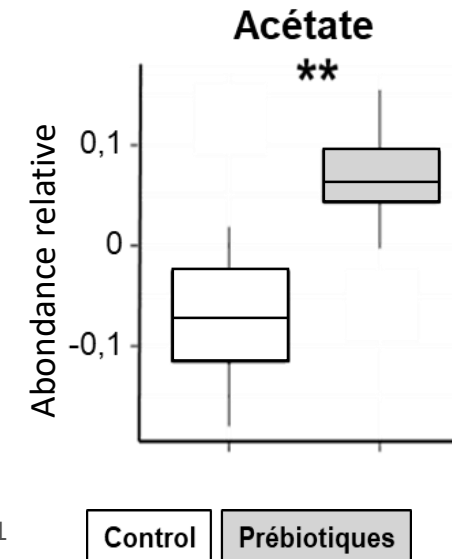
AGCC fécaux



test Mann-Whitney, Wilcoxon test ns: non significatif, ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$
GD0: jour 0 de gestation ; GD18: jour 18 de gestation



AGCC du liquide amniotique



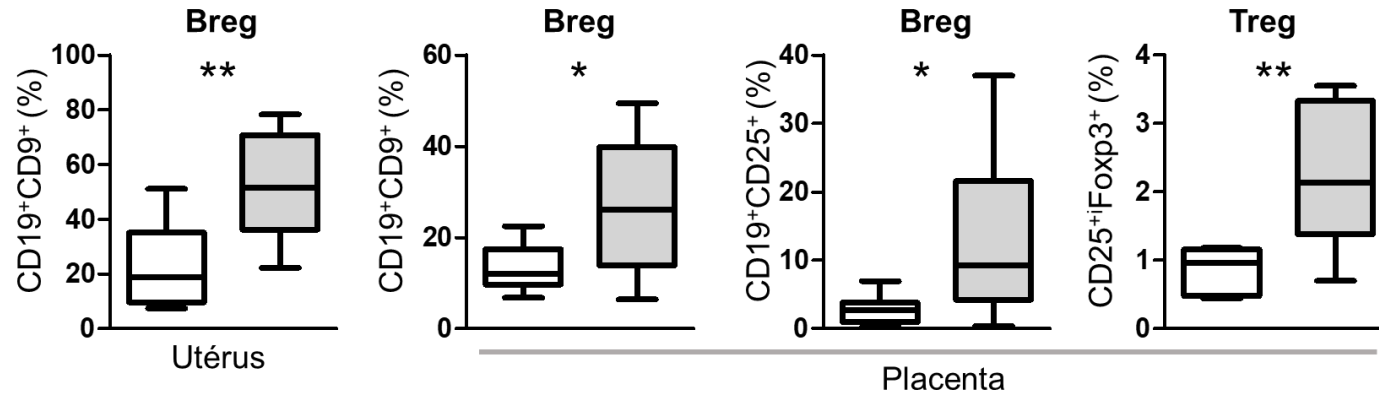
Control Prébiotiques

La supplémentation en prébiotiques augmente la quantité d'acétate et de propionate dans les selles et d'acétate dans le liquide amniotique.

Etude des populations cellulaires immunitaires

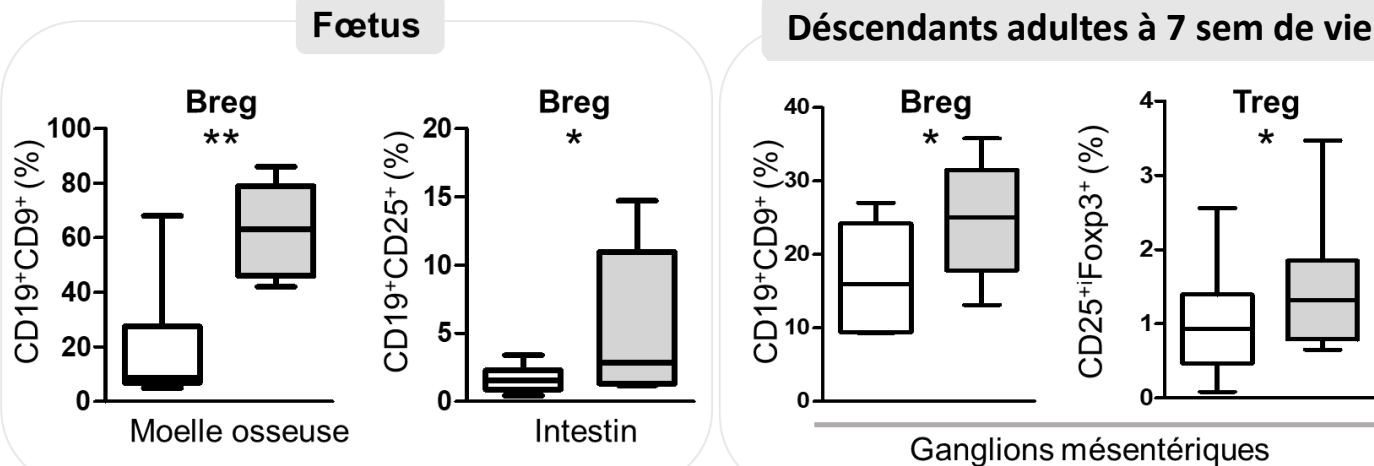
Fréquence des populations cellulaires T et B évaluée par cytométrie en flux dans les tissus foëto-maternels

Souris gestantes



La supplémentation en GOS/inuline pendant la gestation induit un terrain pro-toléroène

- ↗ Treg et Breg dans les tissus maternels
- ↗ Breg dans le foetus
- ↗ Treg et Breg des descendants adultes



Control Prébiotiques

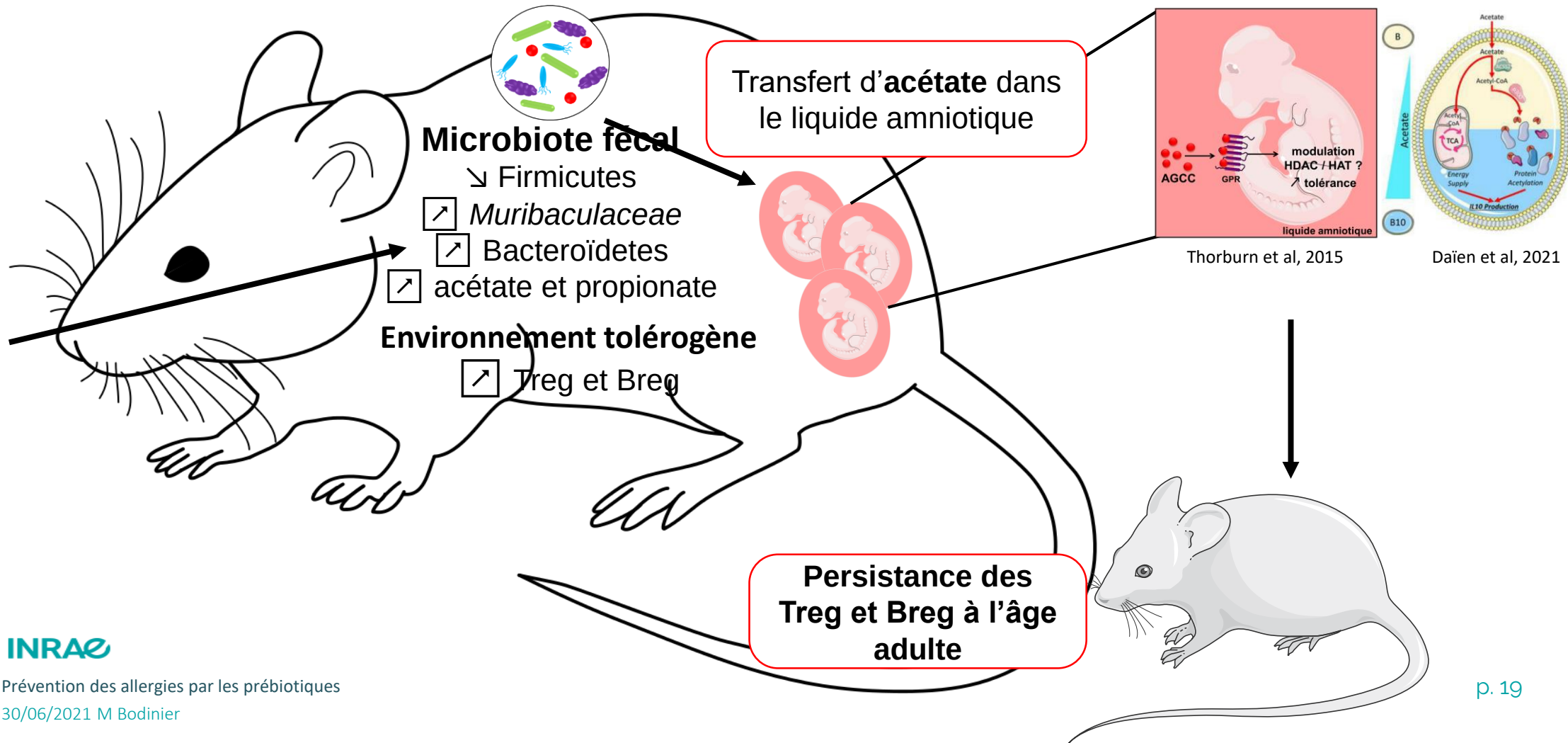
test Mann-Whitney, ns: non significatif, *p<0,05; **p<0,01;

CONCLUSION

Mécanismes d'action des GOS/inuline *in utero* au niveau microbien, métabolique et immun

Brosseau C.,* Selle A.,* *et al.*, *Frontiers in Immunol.* 14 July 2021

GOS/inuline pendant la gestation



INRAE

Prévention des allergies par les prébiotiques
30/06/2021 M Bodinier

Etudes précliniques sur la prévention des allergies par les prébiotiques utilisés chez la mère pendant la gestation

1



AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE
ANR

Caractériser les effets immuns et métaboliques *in utero* sur le fœtus et dans les tissus fœto-maternels

2

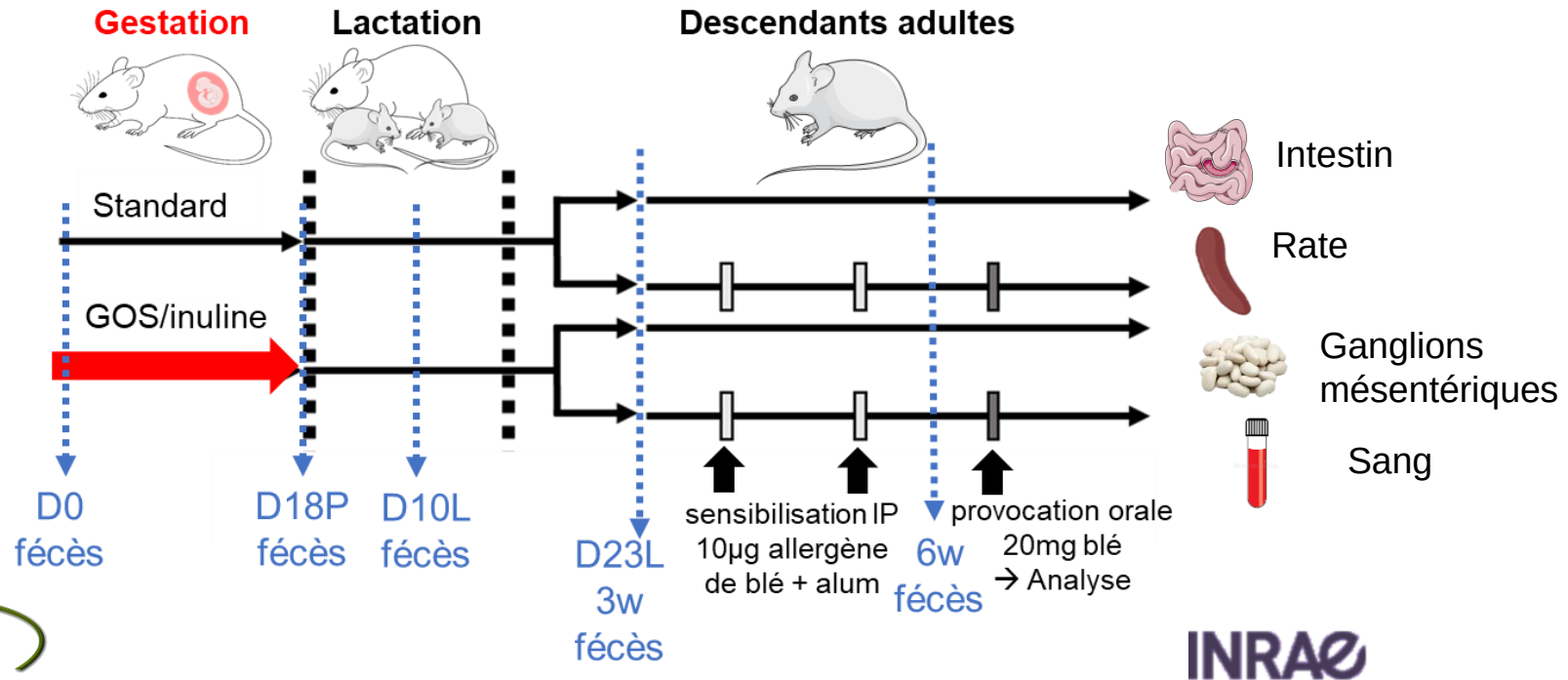


Food for Tomorrow | **Cap Aliment**
Recherche, Formation & Innovation en Pays de la Loire

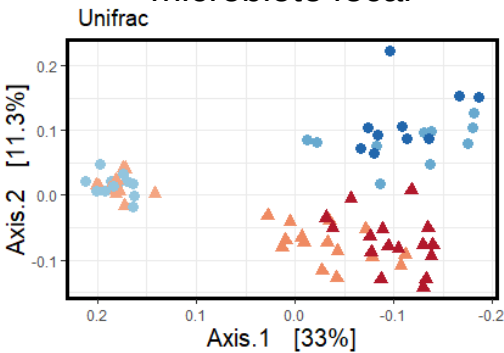
Évaluer l'effet préventif sur l'allergie alimentaire
chez la descendance

Caractériser les effets immuns et microbiens chez
les descendants allergiques

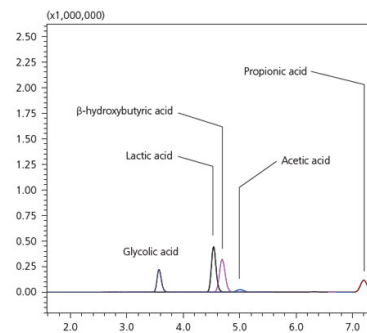
Evaluation de l'effet préventif d'une supplémentation en GOS/inuline pendant la gestation sur la survenue d'une allergie alimentaire



Séquençage 16S du microbiote fécal



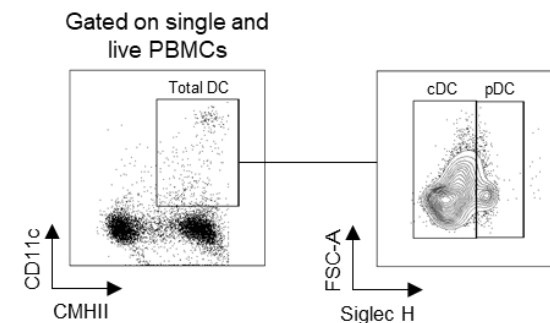
Chromatographie en phase gazeuse des AGCC fécaux



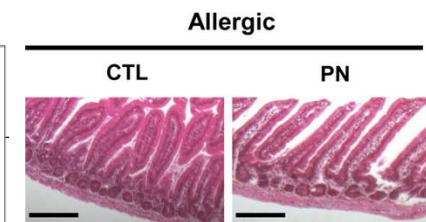
Evaluation des paramètres allergiques



Cytométrie en flux des populations cellulaires

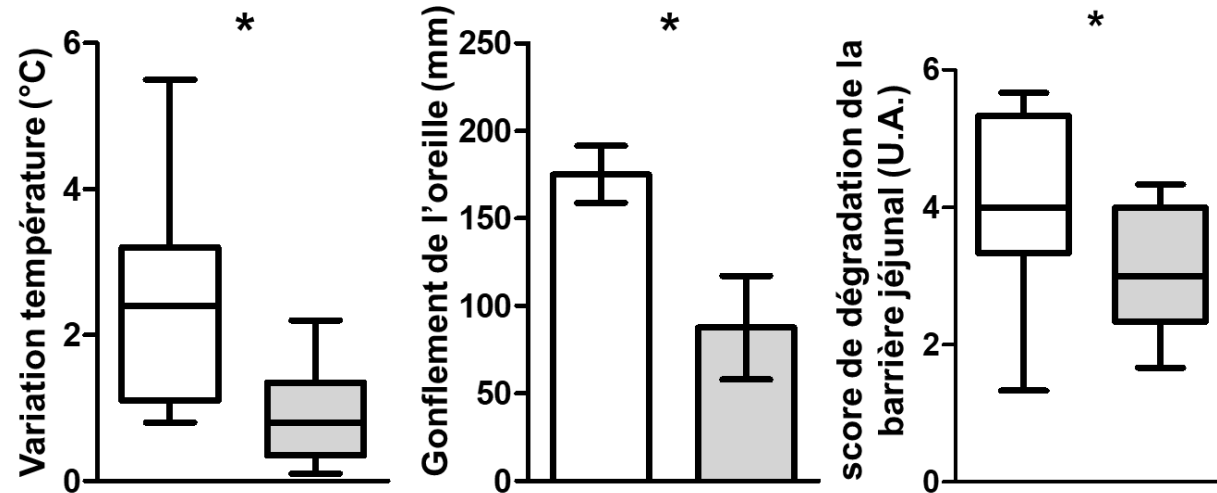
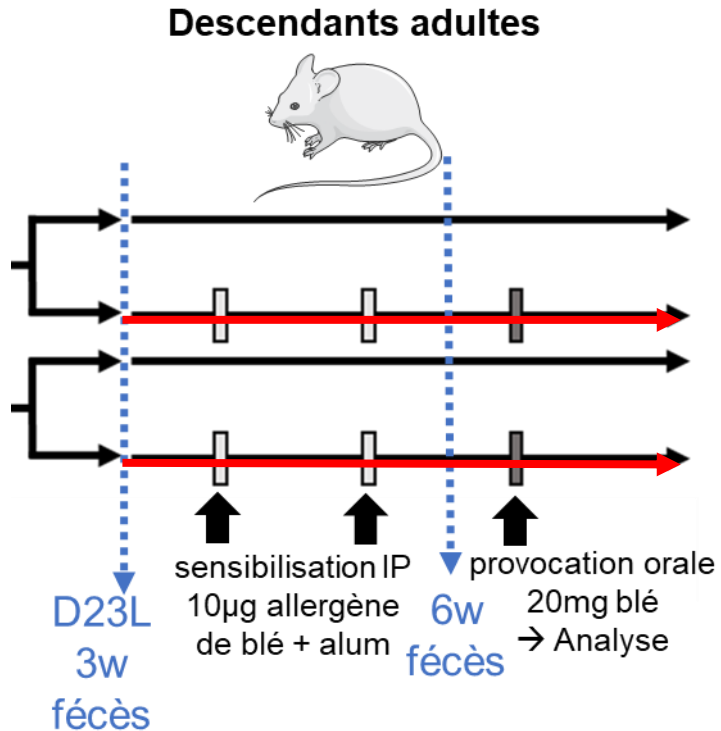


Histologie de l'intestin



Evaluation des paramètres allergiques chez la descendance

Symptômes allergiques suite à une provocation orale avec l'allergène à 6 semaines de vie



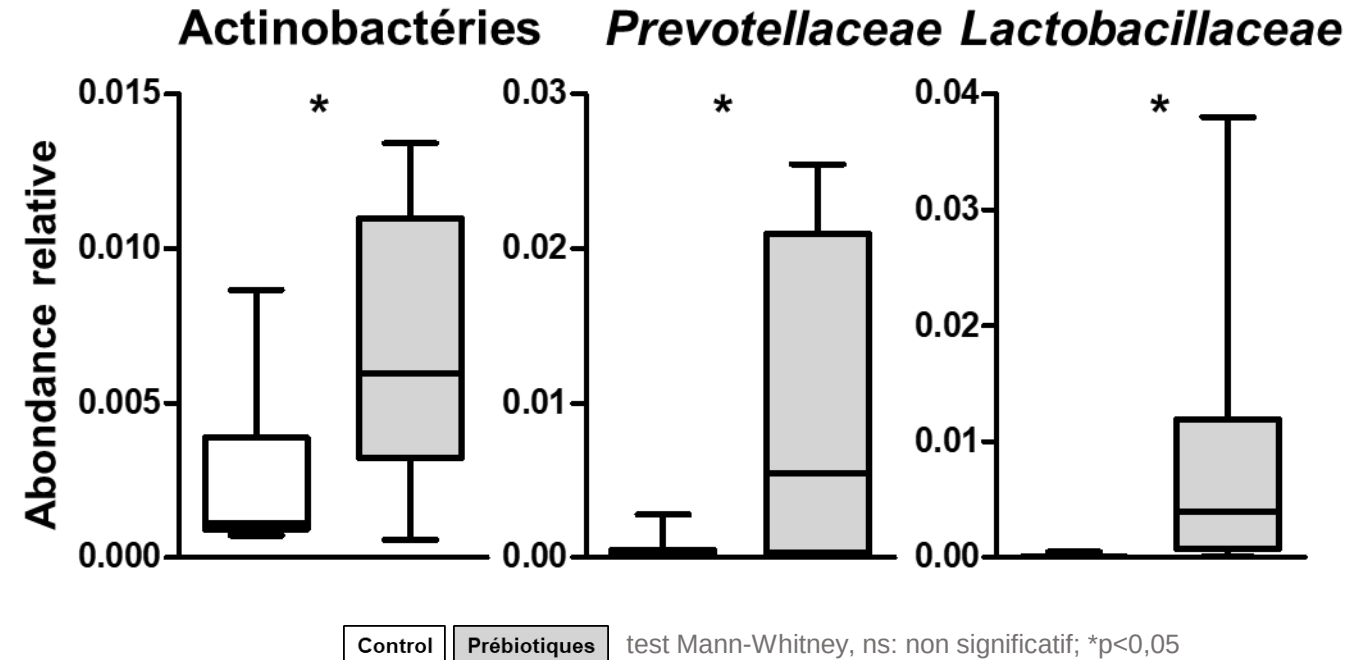
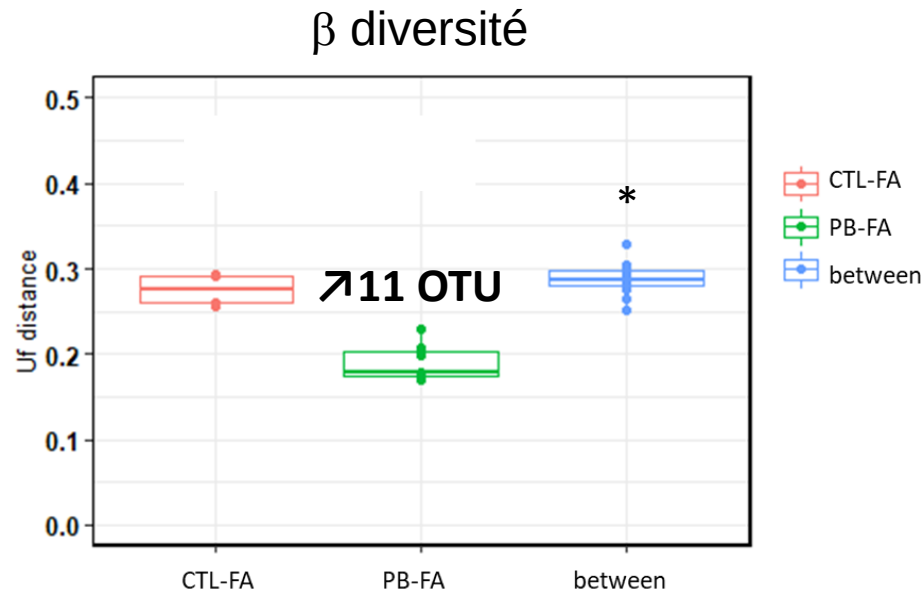
Control Prébiotiques test Mann-Whitney, *p<0,05

La supplémentation en prébiotiques pendant la grossesse protège la descendance de la survenue des symptômes d'allergie alimentaire

Etude du microbiote fécal des **descendants allergiques**



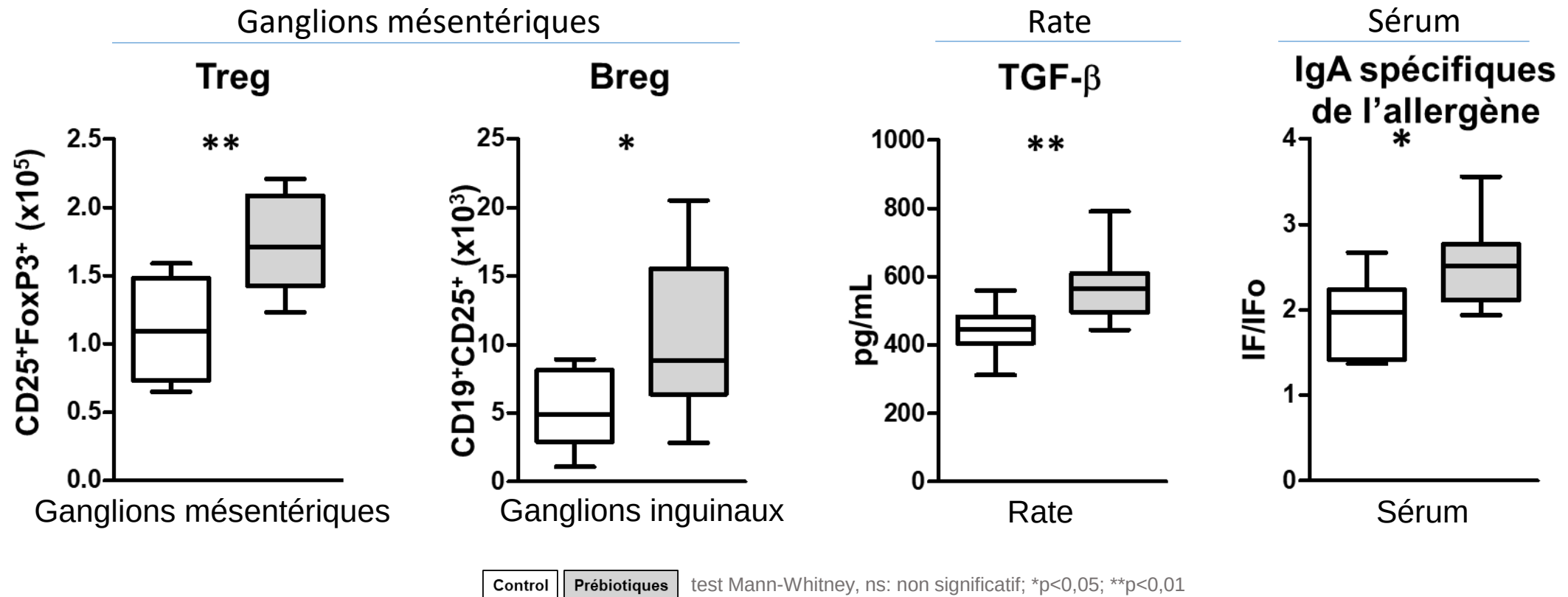
Composition du microbiote fécal à **6 semaines de vie** par séquençage de l'ARNr 16S



Les descendants allergiques possèdent un microbiote fécal différent en fonction de l'alimentation de la mère pendant la grossesse

Etude des biomarqueurs de la tolérance des **descendants allergiques**

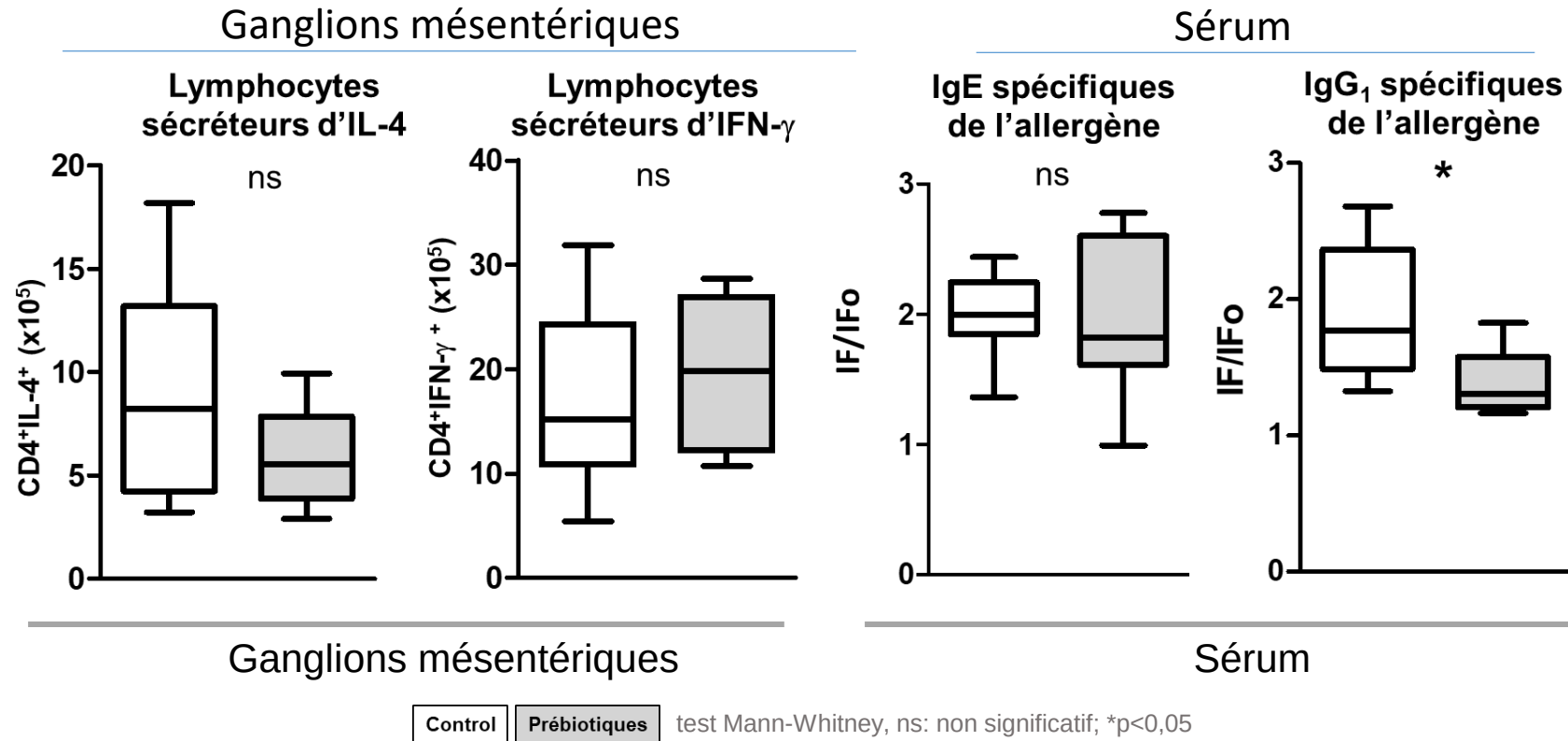
Nombre de cellules T et B par cytométrie en flux, quantification des cytokines sécrétées par les splénocytes et des Ig du sérum par ELISA chez les descendants allergiques à **6 semaines de vie**



La supplémentation en prébiotiques pendant la grossesse induit un environnement pro-tolérologène chez la descendance allergique

Etude des biomarqueurs de l'allergie des **descendants allergiques**

Nombre de cellules Th1/Th2 par cytométrie en flux, quantification des Ig par ELISA chez les descendants allergiques à **6 semaines de vie**



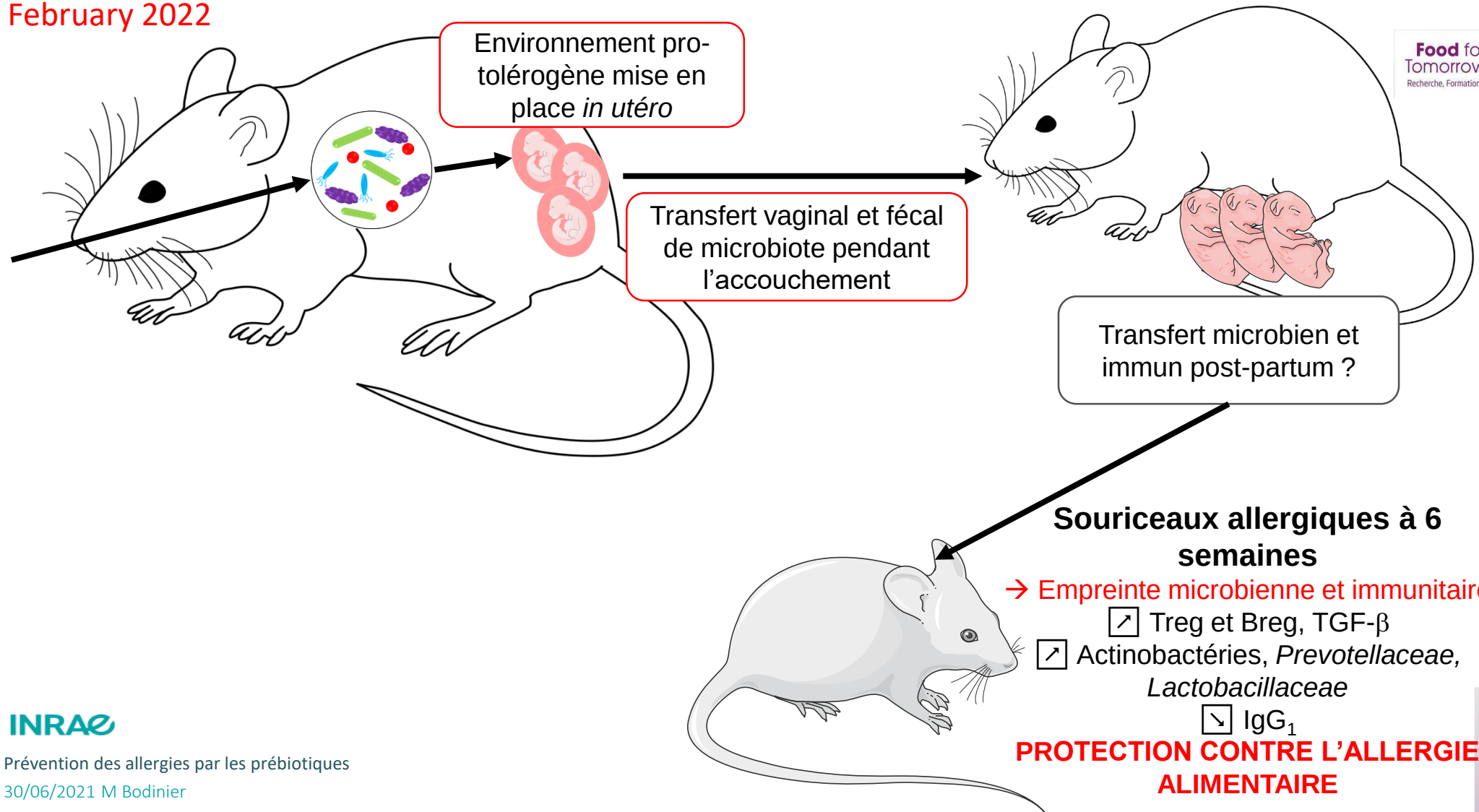
La supplémentation en prébiotiques *in utero* a un impact sur la réponse Th2 uniquement via la diminution des IgG₁ spécifiques de l'allergène chez les descendants allergiques.

CONCLUSION

Effet préventif d'une supplémentation en GOS/inuline pendant la gestation sur la survenue d'une allergie alimentaire

Selle A., Brosseau C., *et al.*, *Frontiers in Immunol.* 04 February 2022

GOS / inuline pendant la gestation



Stratégie de recherche

Objectif: Démontrer qu'une supplémentation en prébiotiques GOS/inuline pendant la grossesse est efficace pour prévenir de l'allergie - approche translationnelle.

- **Modèles précliniques:** évaluer les mécanismes des prébiotiques sur le SI, les barrières et le microbiote et valider leur effet préventif des prébiotiques sur l'allergie alimentaire

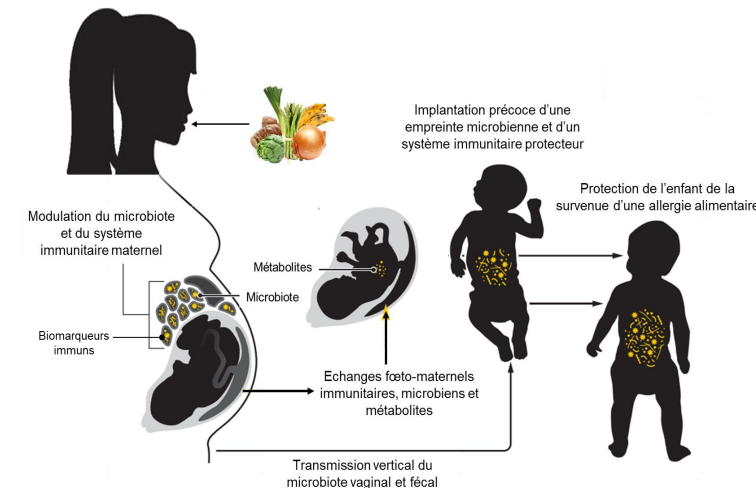


- **Essais cliniques:** valider chez l'homme la prévention des allergies par une supplémentation maternelle en prébiotiques :

- ❖ **PREGRALL, France (S. Barbarot)**

- ❖ **ANR CIMMAP (M. Bodinier)**

EN COURS D'ANALYSE



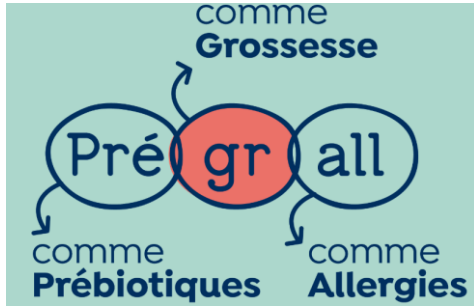
INRAE

Prévention des allergies par les prébiotiques

30/06/2021 M Bodinier

La prévention des allergies par les prébiotiques donnés en anténatal

Etude clinique PREGRALL (2018-2023)



- Supplémentation en prébiotiques GOS/inuline pendant la **grossesse exclusivement** pour prévenir des allergies chez l'enfant futur – PHRC inter-regional de 2015



Objectif clinique : prévalence de la DA à un an

- Essai clinique randomisé en double aveugle – Multicentrique: Hopitaux de Nantes, Tours, Rennes et Toulouse. CIC FEA 1413. CRB Nantes.
- Critère d'Inclusion : 376 femmes enceintes allergiques

INRAE

Prévention des allergies par les prébiotiques

30/06/2021 M Bodinier

Cabridain et al, BMJ open, 2019

Etude clinique PREGALL

Femme allergique

20 semaines
d'aménorrhée

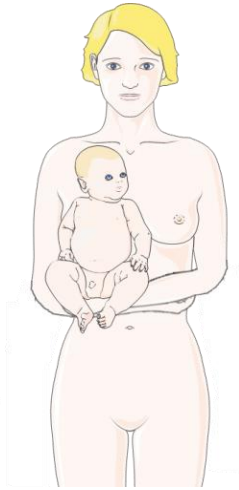
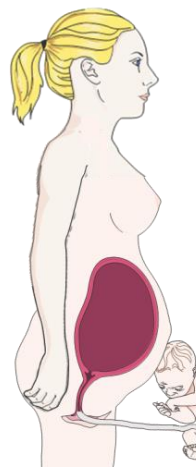
32 semaines
d'aménorrhée

Accouchement

1 mois

2 mois

1 an



Enfant allergique ?????

N=188

CONTRÔLE

N=188

PREBIOTIQUES



INRAE

Prévention des allergies par les prébiotiques
30/06/2021 M Bodinier



Biocollection
CIMMAP sur
128 dyades
mères/enfants

Cimmap

PREGRALL Next : suivi des enfants jusqu'à 5 ans



2 visites de suivi : 3 ans et 5 ans dans tous les centres participants (Nantes, Rennes, Toulouse et Tours)

Pour évaluer :

- La prévalence et la sévérité de la DA
- L'incidence des maladies atopiques
- La qualité de vie des familles
- Le développement staturo-pondéral
- L'incidence des épisodes infectieux avec prise d'ATB
- Pour patients de Nantes seulement et à 5 ans :
 - Tests cutanés: sensibilité aux principaux allergènes
 - Biocollection de selles, d'urine, de sang et de salive chez les enfants: analyse du microbiome, du métabolome, du système immunitaire, du génome et du transcriptome.



- ❖ Il s'appuie sur la biocollection réalisée dans PREGALL sur 120 dyades mères/enfants
- ❖ Compréhension des mécanismes :
 - de survenue de la DA.
 - d'action des prébiotiques (prévention de la DA) *via* l'étude du SI, du microbiote intestinal et du lait maternel.
- ❖ Porté par un consortium national (INRAE-CHU Nantes-Oniris-CRNH Ouest)
- ❖ Coordinatrice : Dr Marie Bodinier (DR2 INRAE, UR 1268 BIA)

Inclusions pour PREGRALL et CIMMAP

- **Le recrutement au CHU de Nantes pour la biocollection CIMMAP est terminé:**



128 femmes enceintes allergiques ont été incluses

- **Le recrutement dans les 4 CHU pour l'essai PREGRALL est terminé:**



376 femmes enceintes allergiques ont été incluses

Fin PREGRALL : avril 2023

Levée d'aveugle : septembre 2023

Conclusion

➤ Etudes précliniques:

- ❖ Effet préventif des allergies alimentaires par les prébiotiques GOS/Inuline donnés à la mère *via* :
 - ✓ le transfert d'un microbiote intestinal protecteur.
 - ✓ l'induction d'un terrain immunologique tolérogène dès le stade fœtal.
- ❖ La supplémentation pendant la grossesse suffit à elle seule pour prévenir de l'allergie.



- Selle A., *et al.*, *Frontiers in Immunol* 04 February 2022
- Brosseau C., *et al.* *Frontiers in Immunol.* 14 July 2021

➤ Etude clinique:

- ❖ Validation ou non en 2023.
- ❖ Mécanismes de survenue des allergies et d'action des prébiotiques.



- Cabridain *et al.*, *BMJ open*, 2019



INRAE

Prévention des allergies par les prébiotiques

30/06/2021 M Bodinier



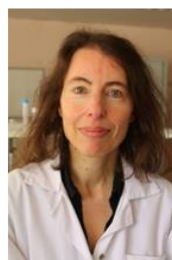
Marie Bodinier
Team leader



Grégory Bouchaud



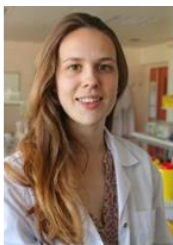
Wieneke Dijk



Sandra Denery



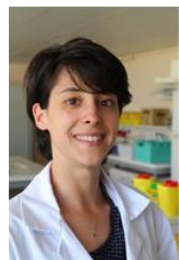
**Marie-Hélène
Ropers**



Laura Linxe



Emilie Perrin



Marion De Carvalho



Amandine Selle



Carole Brosseau



Anaïs Rousseaux



**Barbara Misme-
Aucouturier**

**Merci de votre
attention**

Collaborateurs Français

S. Barbarot (CHU de Nantes)
M. Neunlist (UMR TENS INSERM)
C. Cherbuy (INRAE MICALIS)
V. Cariou (Oniris)

Collaborateurs Australiens

Telethon Kids Institute, University of
Western Australia, AUSTRALIA
B. Strikland, D. Palmer and S. Prescott

