

RÉUNION ANNUELLE  
DU GROUPE FRANÇAIS  
**DE NEURO-GASTROENTÉROLOGIE**



2&3 MAI  
**2024**  
ANNECY  
LES PENSIÈRES  
VEYRIER-DU-LAC

# Caractérisation du potentiel anti-hyperalgique du probiotique de nouvelle génération *Faecalibacterium*

**Camille Pérault**

2<sup>ème</sup> année de Master Biologie Santé  
Neuro-Dol UMR1107/Université Clermont-Auvergne



**GFNG**  
Groupe Français de  
Neuro-Gastroentérologie



①

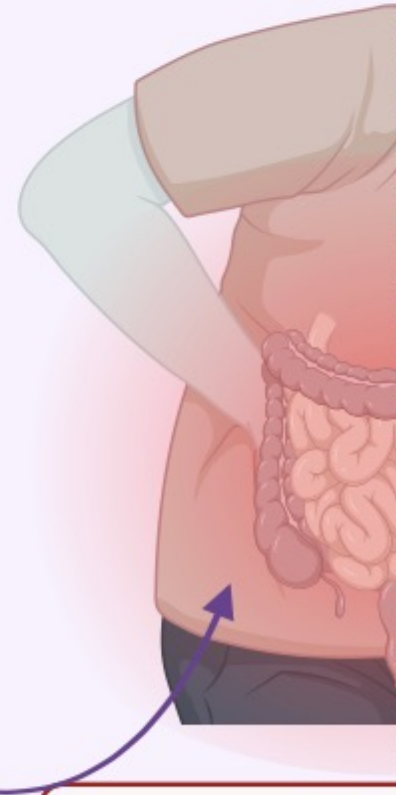
**Contexte pathologique**

SII et MICI

## Syndrome de l'intestin irritable (SII)

### Symptômes

- Ballonnements
- Troubles du transit



## Syndrome de l'intestin irritable (SII)

### Symptômes

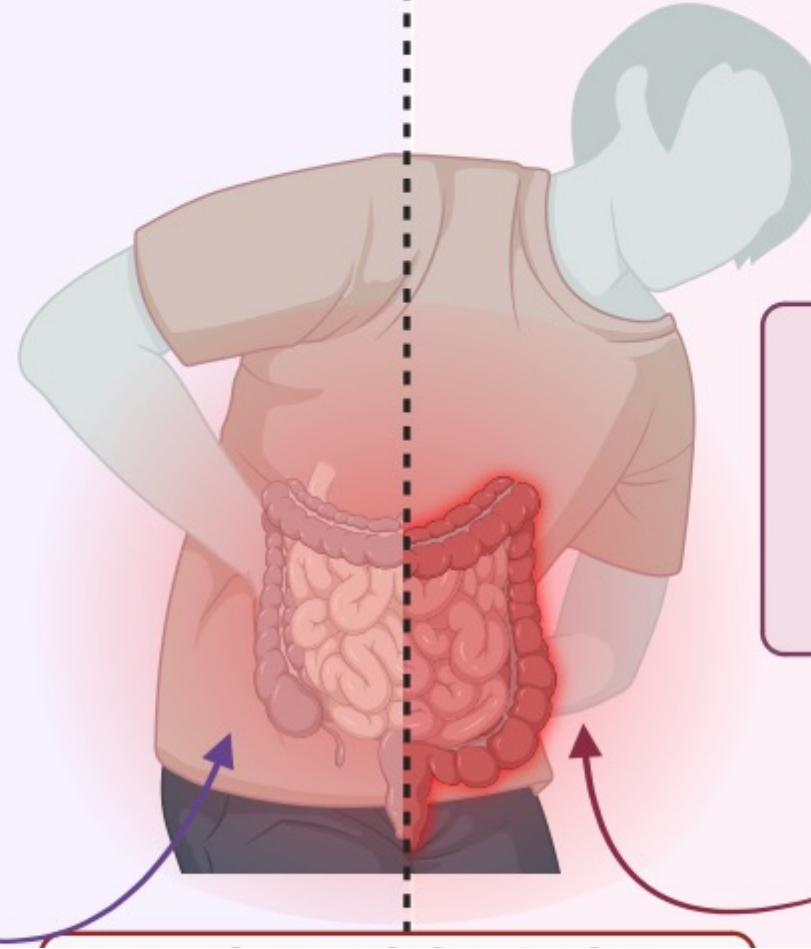
- Ballonnements
- Troubles du transit

## Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

Maladie de Crohn  
Rectocolite Hémorragique

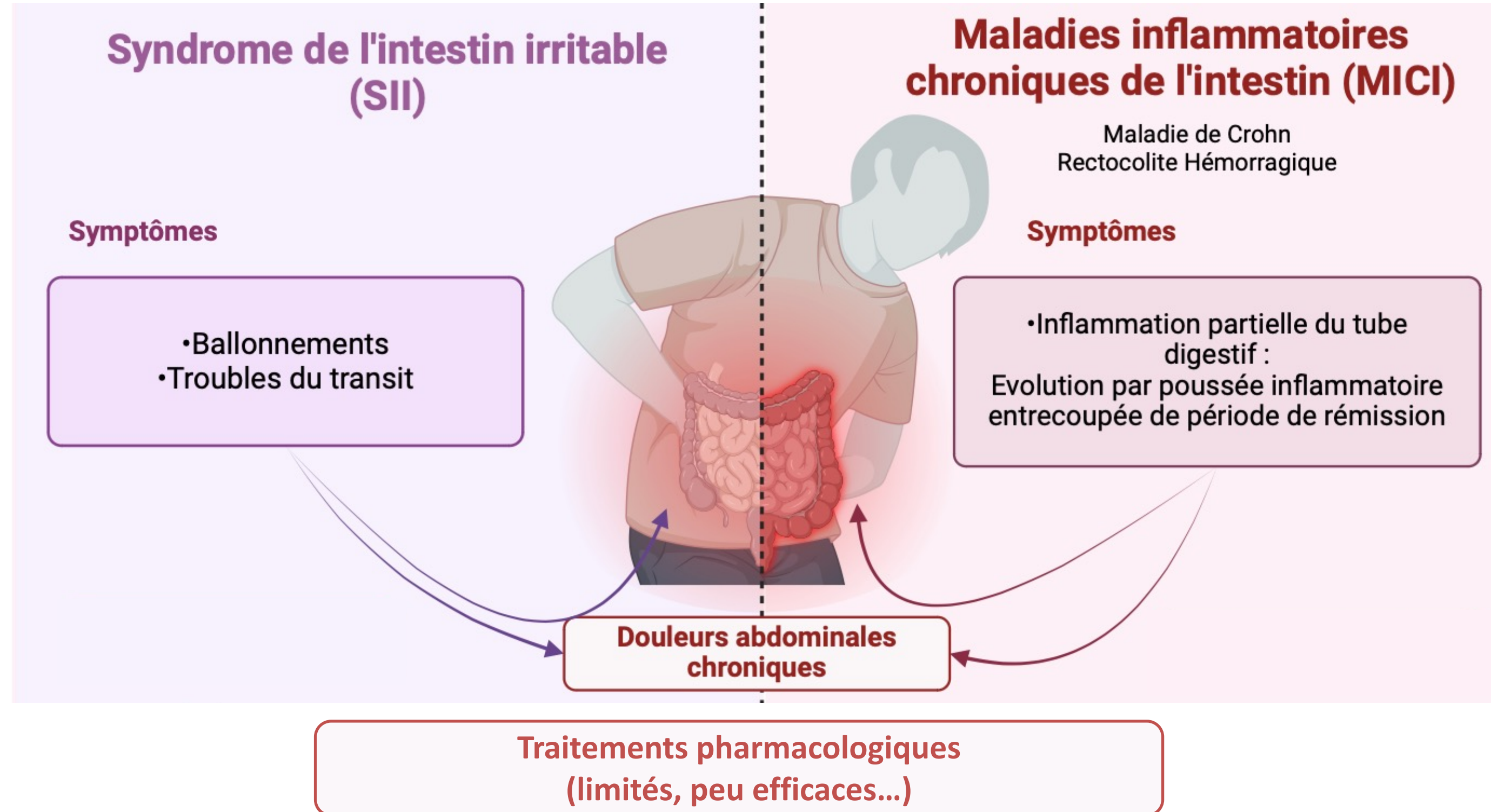
### Symptômes

- Inflammation partielle du tube digestif :  
Evolution par poussée inflammatoire entrecoupée de période de rémission



①  
Contexte pathologique

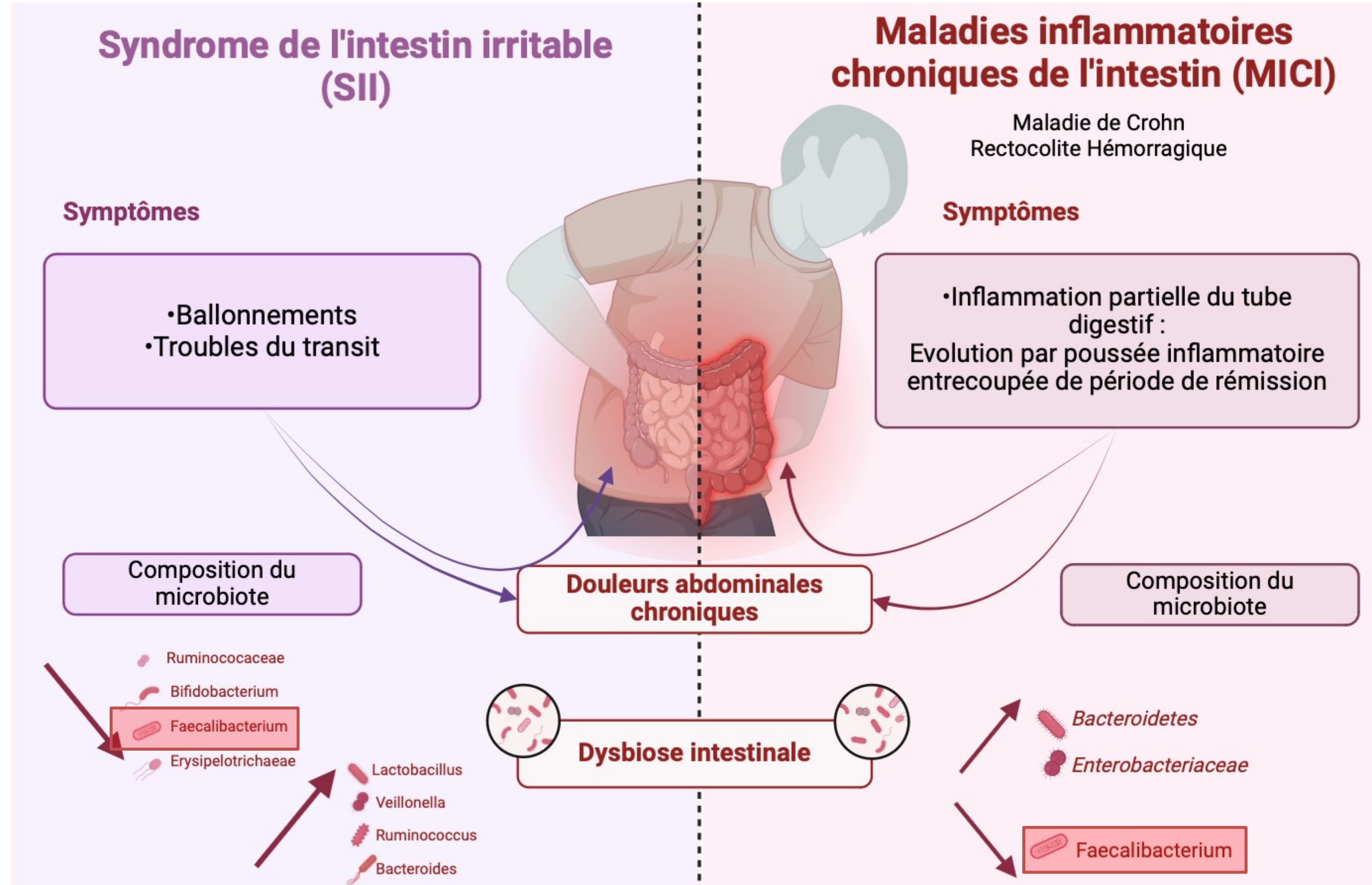
SII et MICI





①  
Contexte pathologique

SII et MICI



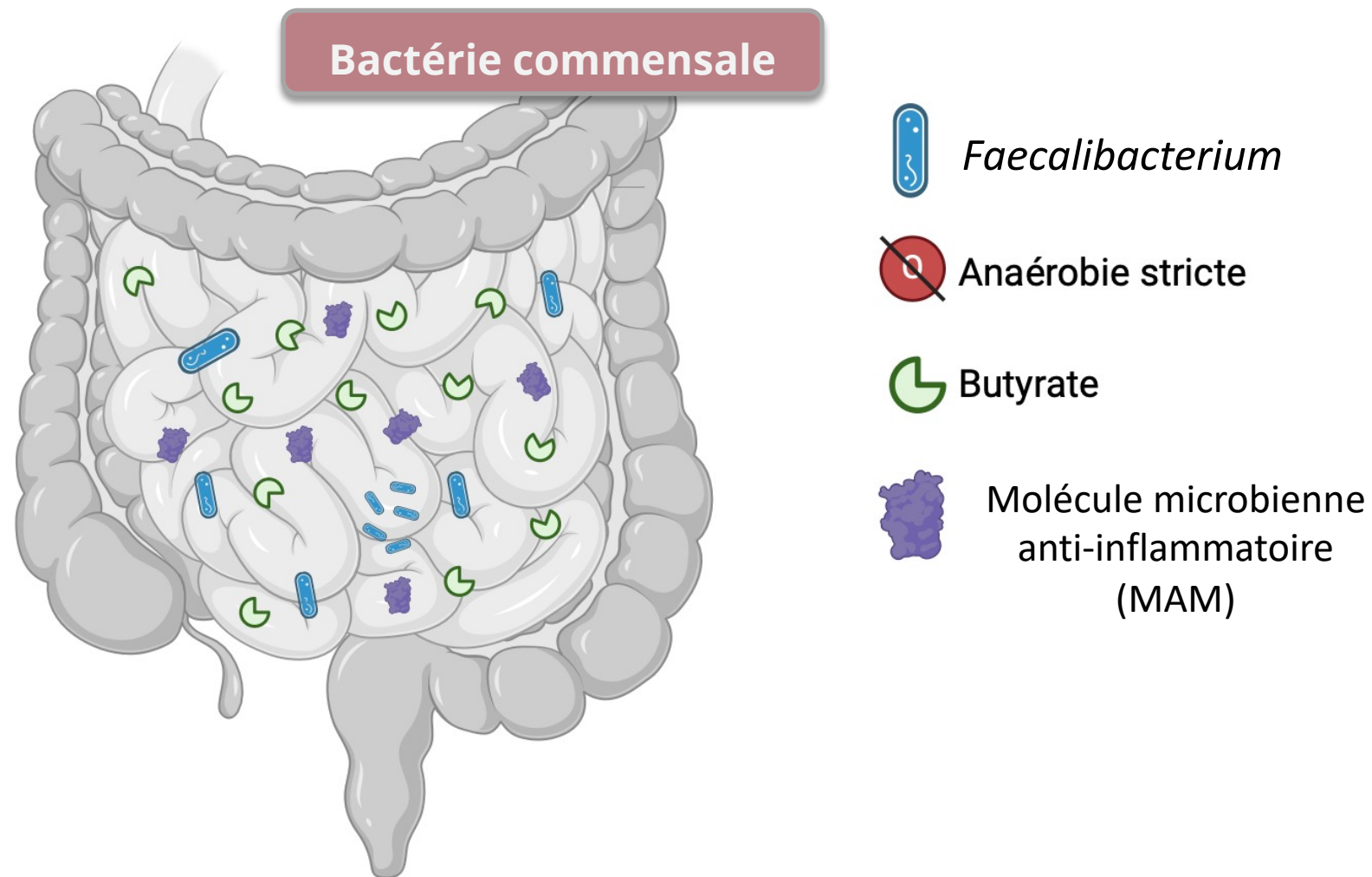


①  
Contexte pathologique

SII et MICI

*Faecalibacterium*

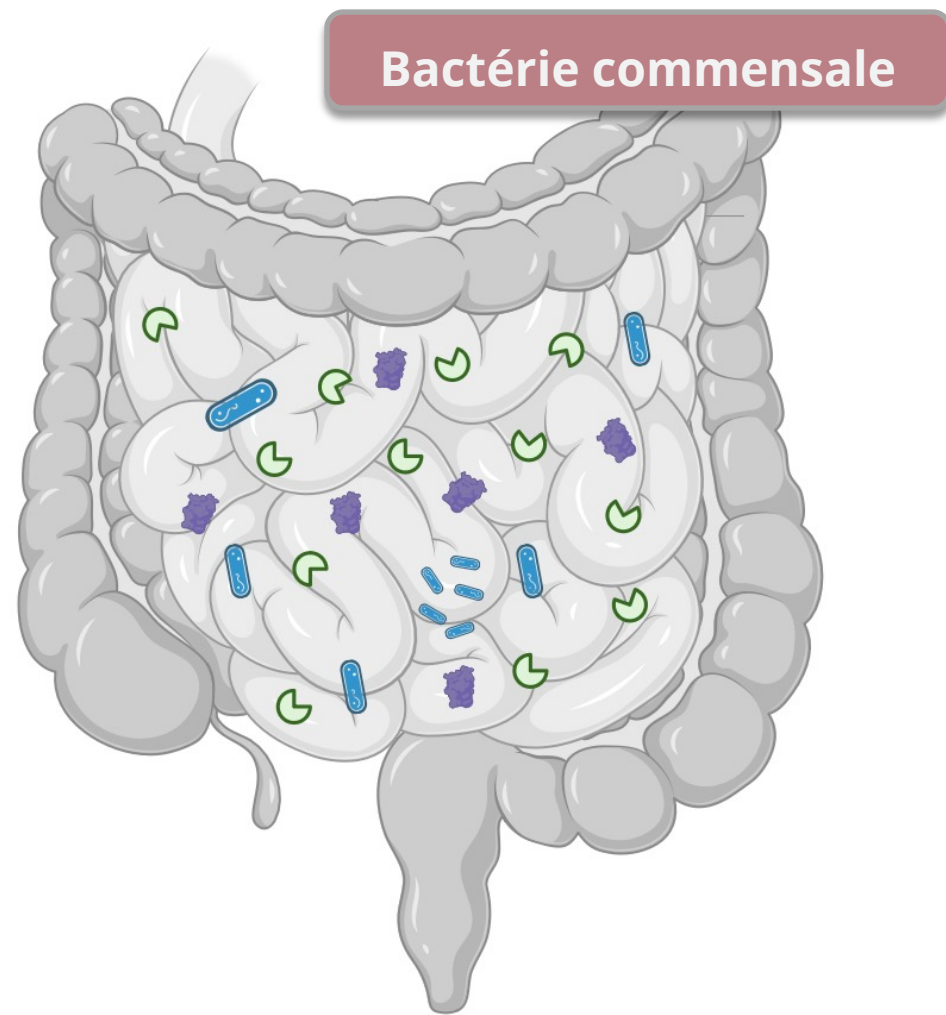
***Faecalibacterium* - phylogénie**







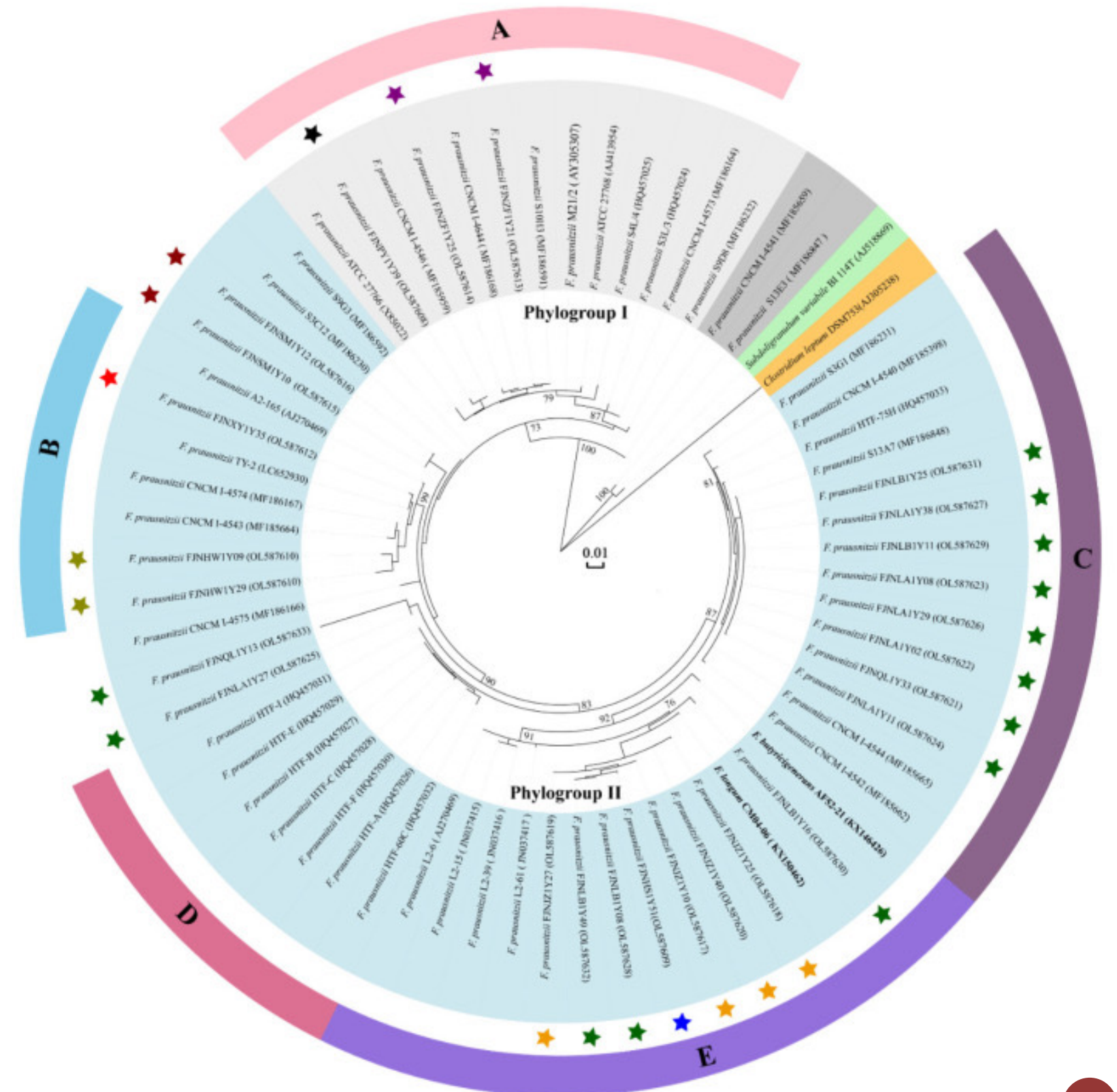
**Genre *Faecalibacterium* = très grande diversité phylogénétique**



***Faecalibacterium* - phylogénie**

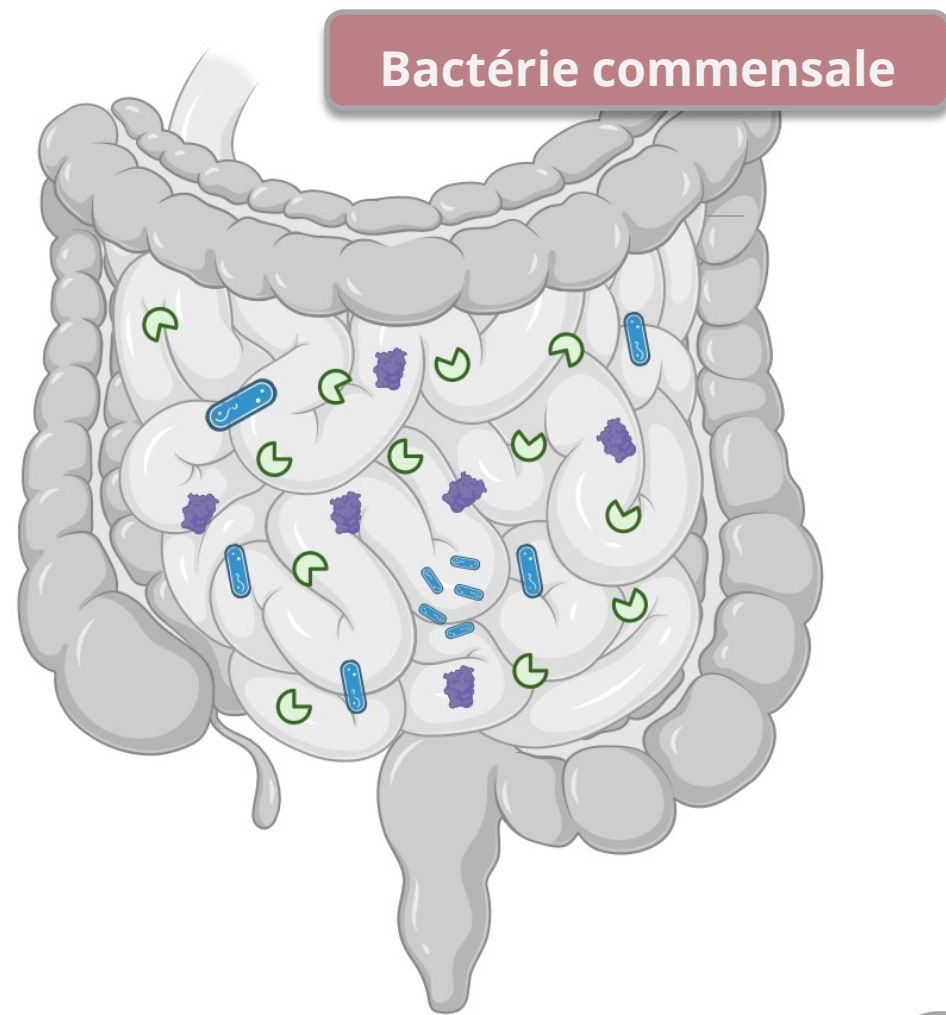


-  *Faecalibacterium*
-  Anaérobie stricte
-  Butyrate
-  Molécule microbienne anti-inflammatoire (MAM)

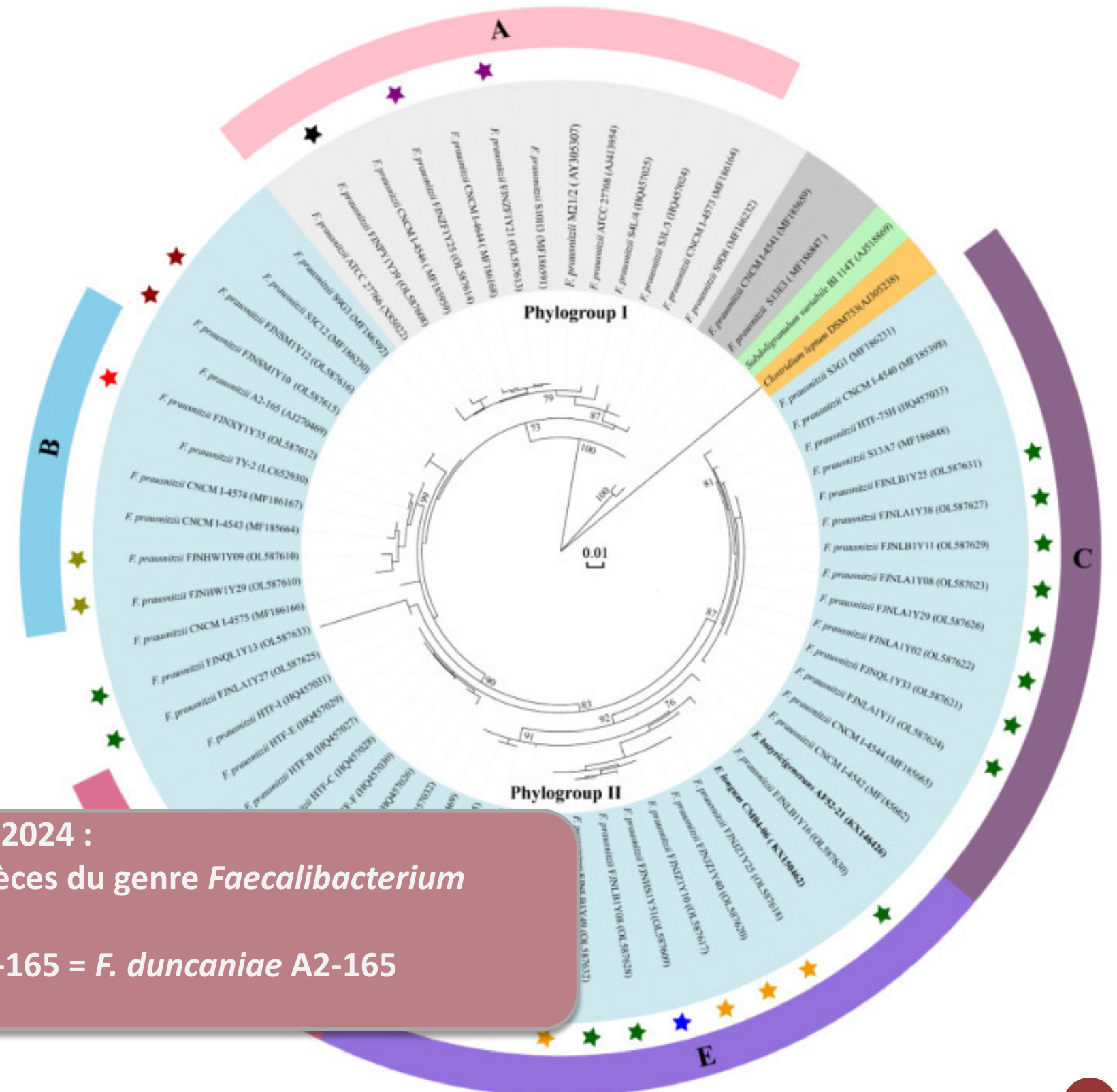




### *Faecalibacterium* - phylogénie



- Faecalibacterium*
- Anaérobie stricte
- Butyrate
- Molécule microbienne anti-inflammatoire (MAM)



**2024 :**  
 Re-classification des espèces du genre *Faecalibacterium*  
 Ex : *F. prausnitzii* A2-165 = *F. duncaniae* A2-165

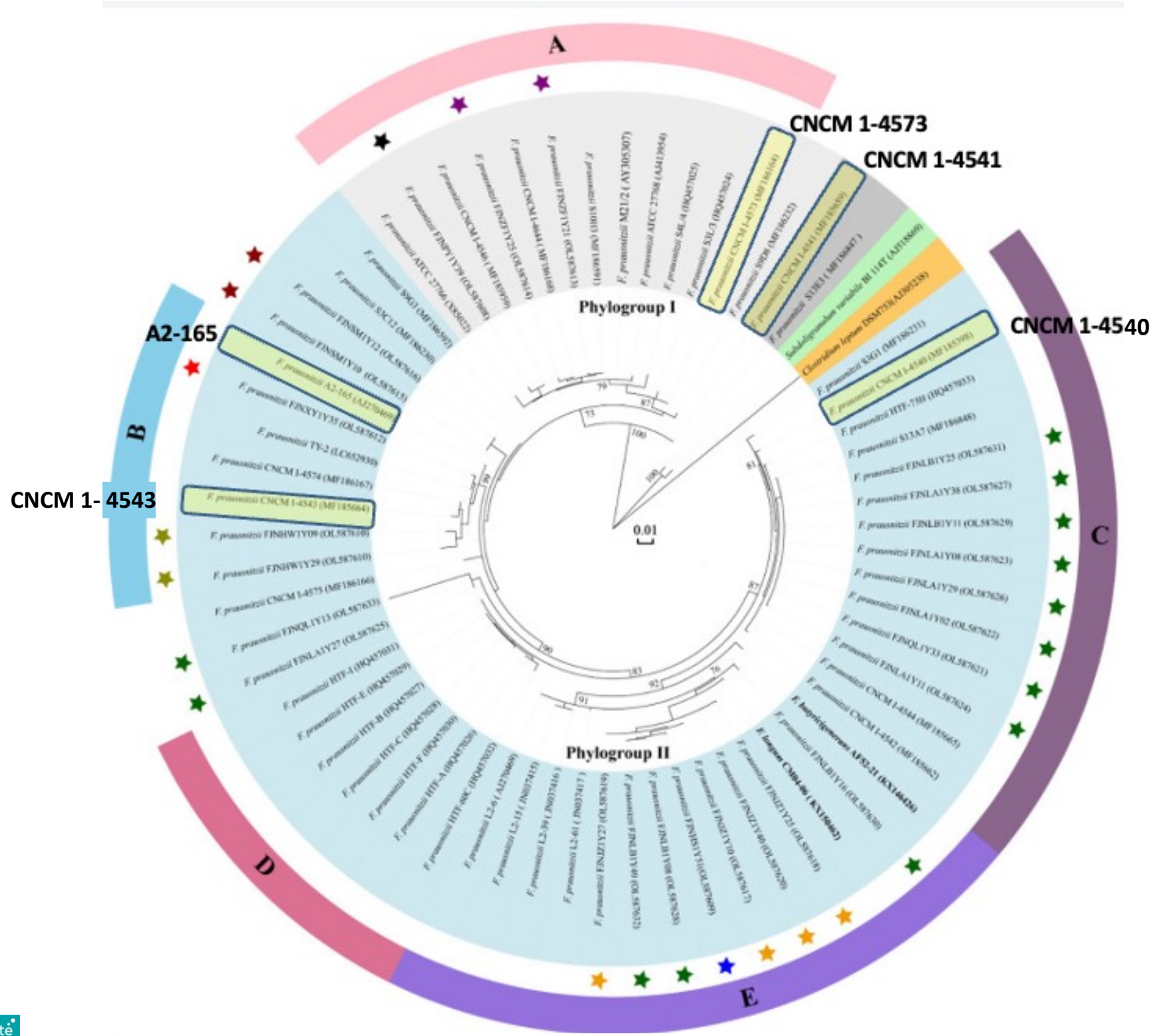
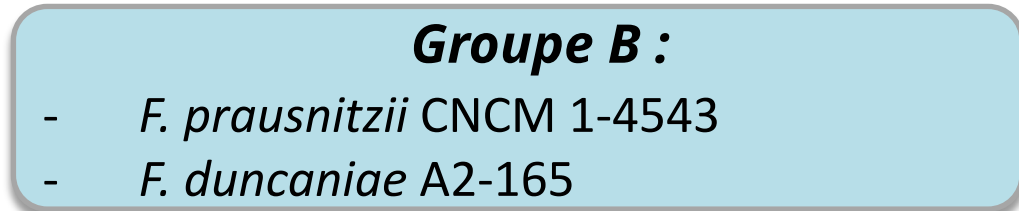
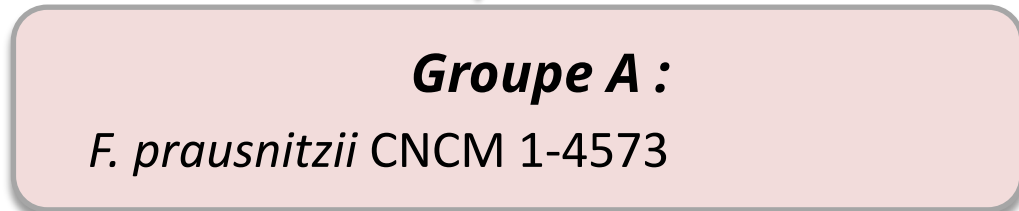
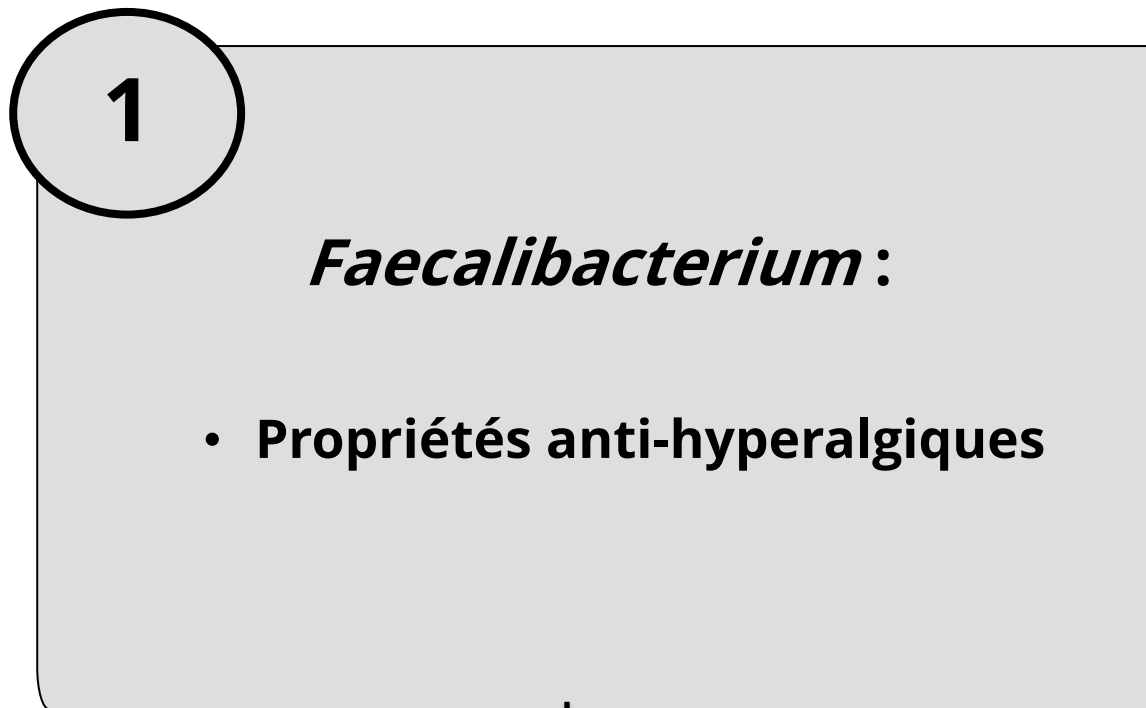


1

***Faecalibacterium* :**

- Propriétés anti-hyperalgiques





①

Contexte pathologique

SII et MICI

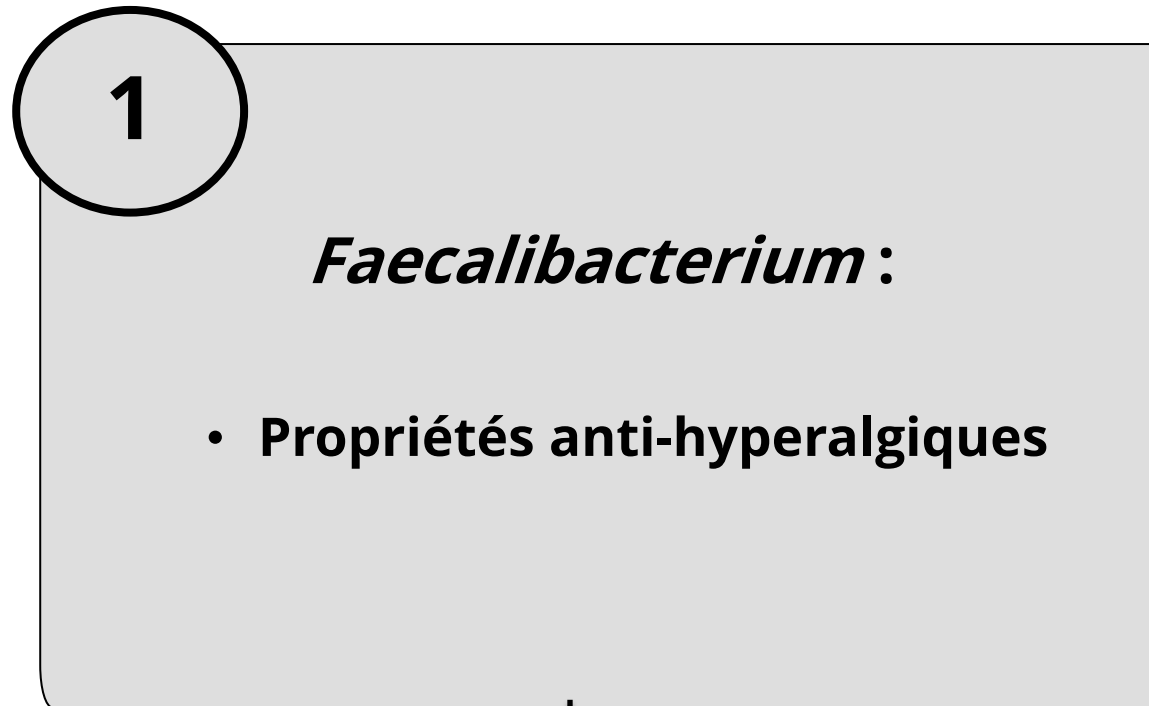
Faecalibacterium



②

But de l'étude

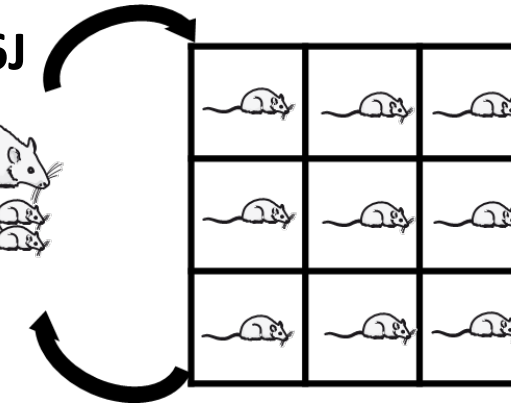
Propriétés anti-hyperalgiques



Modèle de séparation néonatale maternel

**Modèle de séparation néonatale maternel**

Souris C57Bl/6J



Stress chronique

Séparation 3h/jour  
du 2<sup>ème</sup> au 14<sup>ème</sup> jour post-natal



①  
Contexte  
pathologique

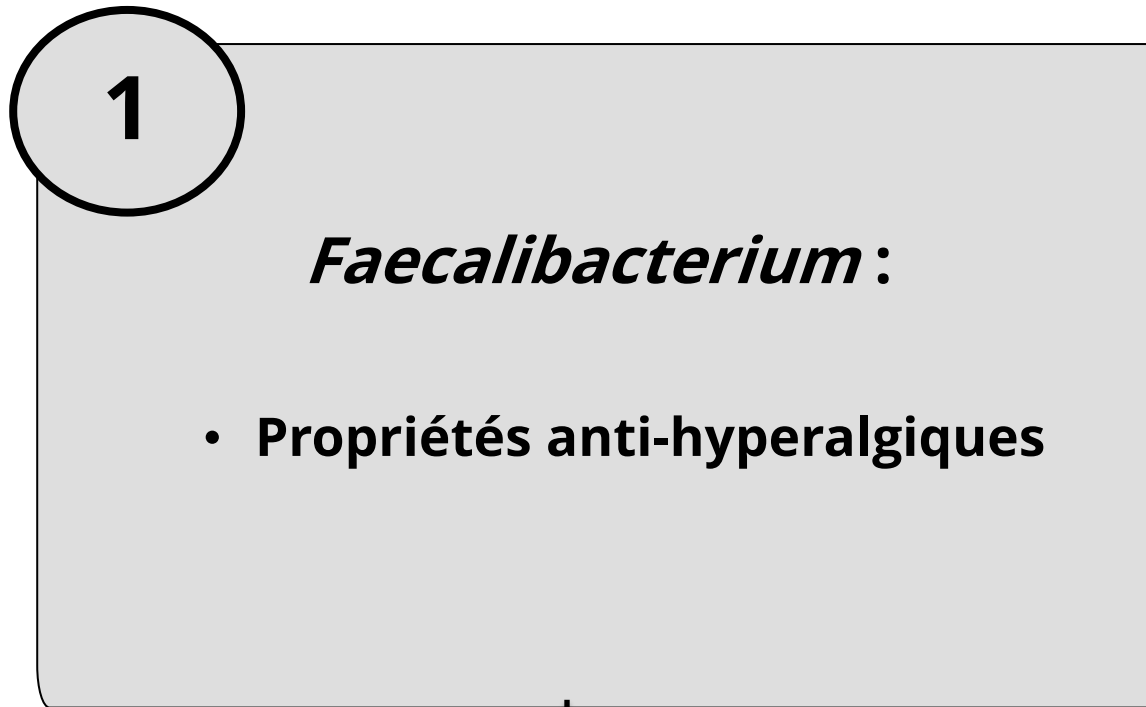
SII et MICI

Faecalibacterium



②  
But de l'étude

Propriétés anti-  
hyperalgiques

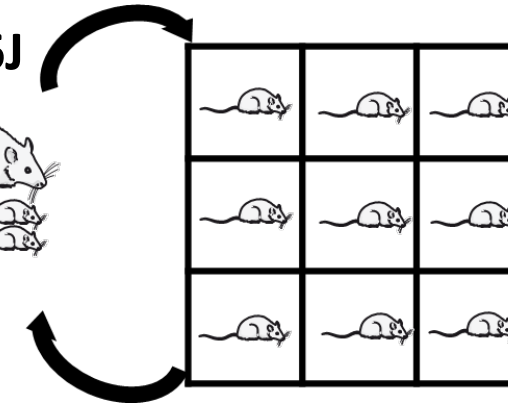


Modèle de séparation  
néonatale maternel

Modèle d'hypersensibilité  
colique

### Modèle de séparation néonatale maternel

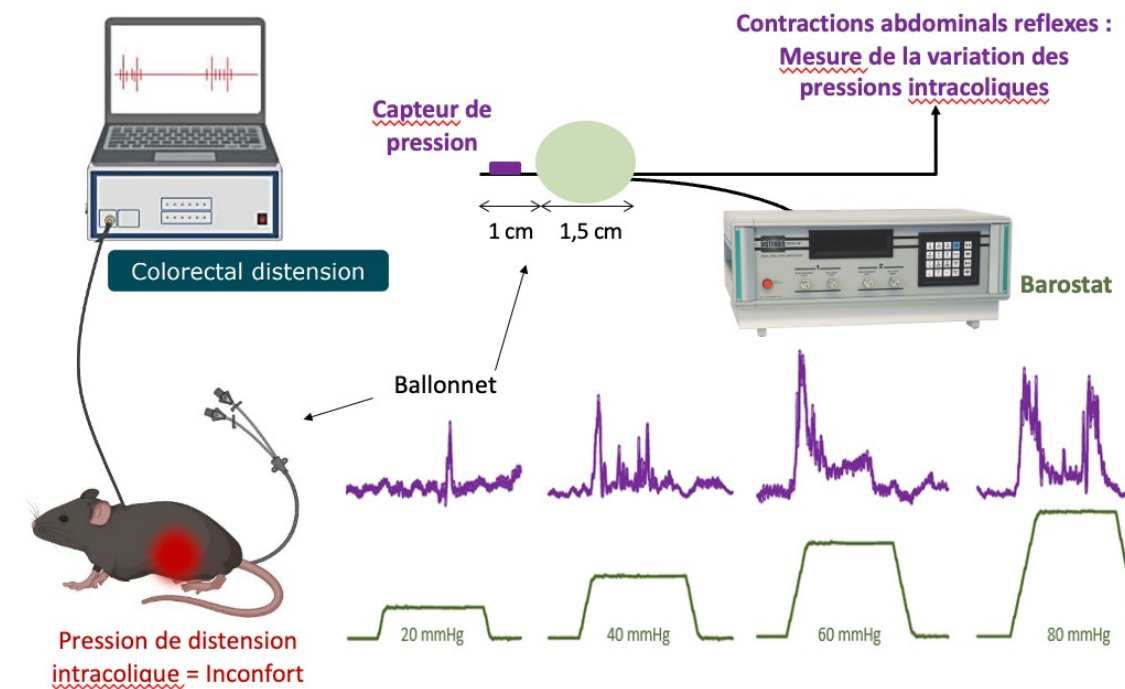
Souris  
C57Bl/6J



Stress chronique

Séparation 3h/jour  
du 2<sup>ème</sup> au 14<sup>ème</sup> jour post-natal

### Distension colorectale



①  
Contexte pathologique

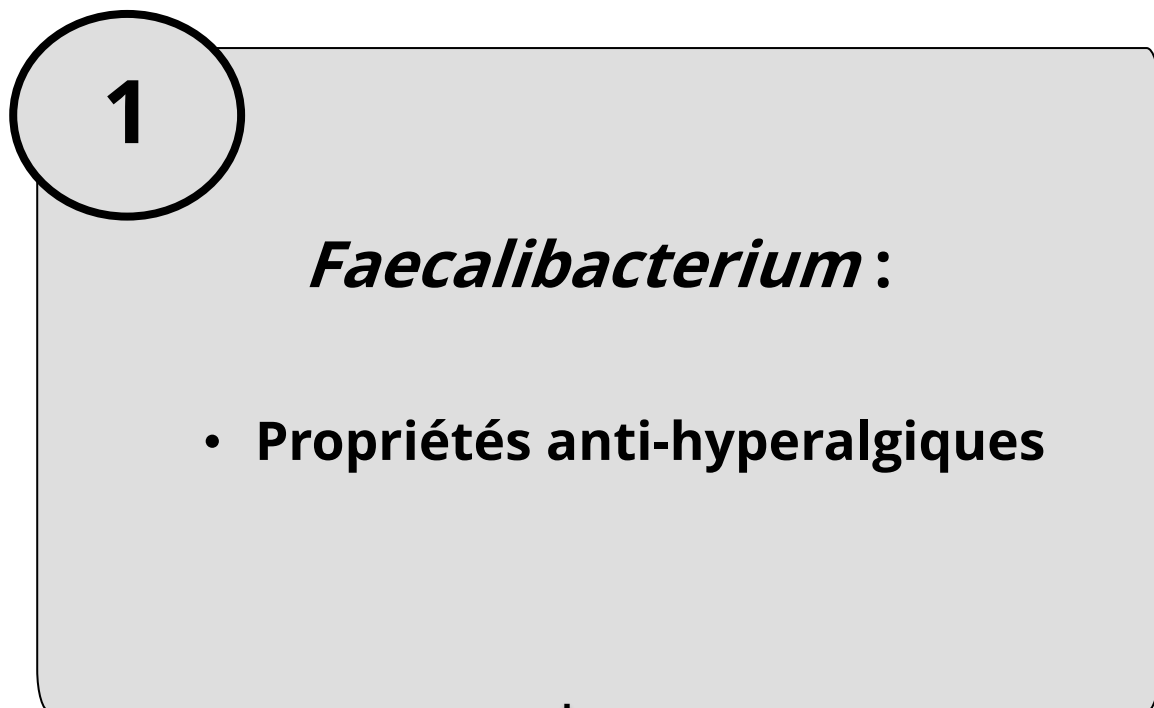
SII et MICI

Faecalibacterium



②  
But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques

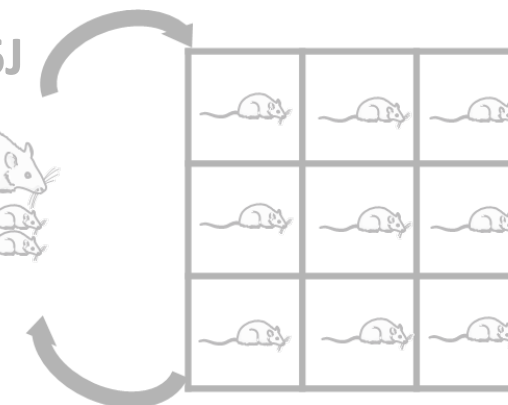


Modèle de séparation néonatale maternel

Modèle d'hypersensibilité colique

*Modèle de séparation néonatale maternel*

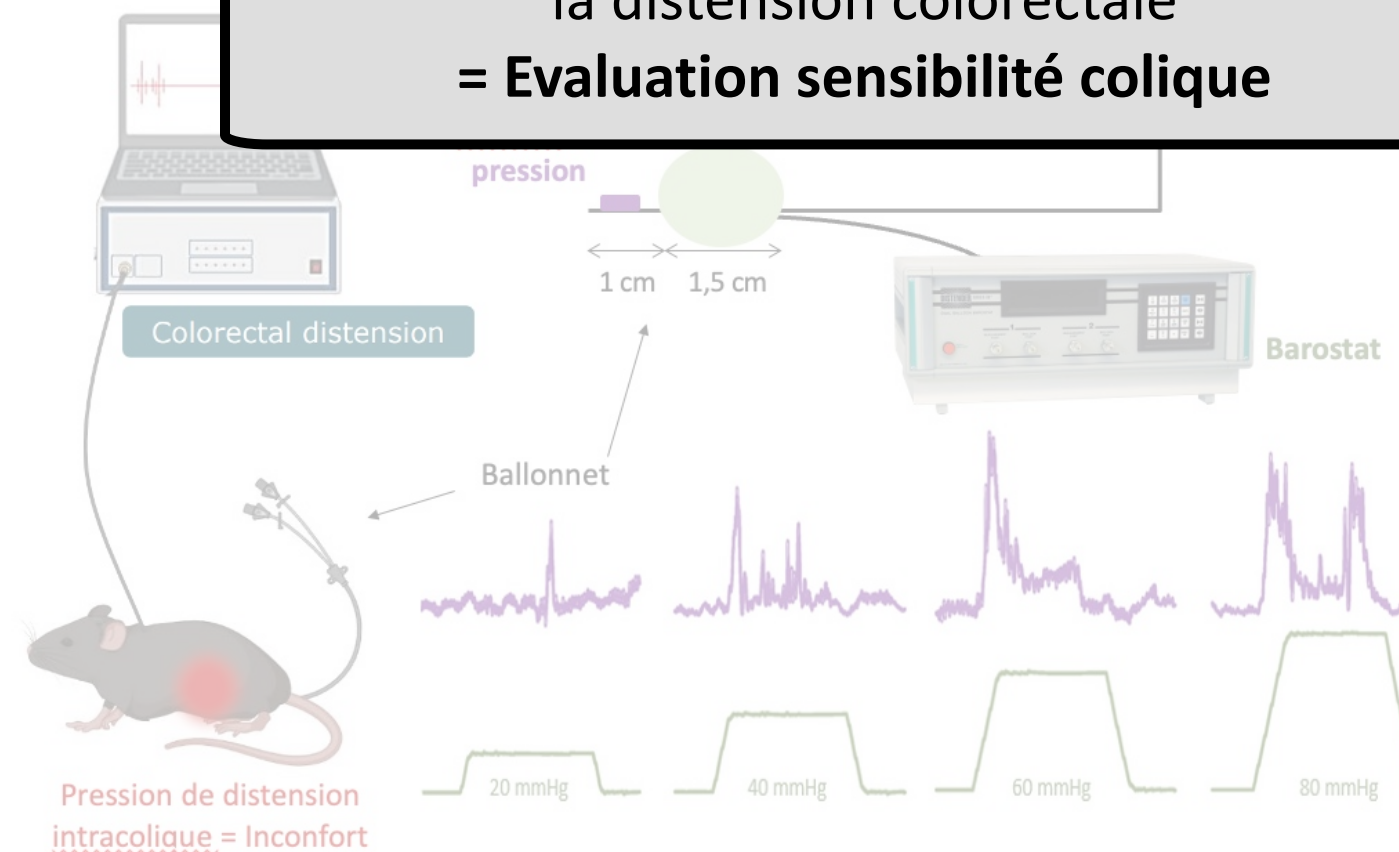
Souris C57Bl/6J



Stress chronique

Séparation 3h/jour  
du 2<sup>ème</sup> au 14<sup>ème</sup> jour post-natal

Variation de pression intracolique en réponse à la distension colorectale  
= Evaluation sensibilité colique





①

Contexte pathologique

SII et MICI

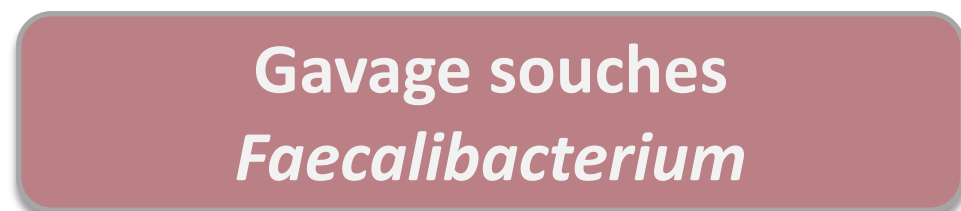
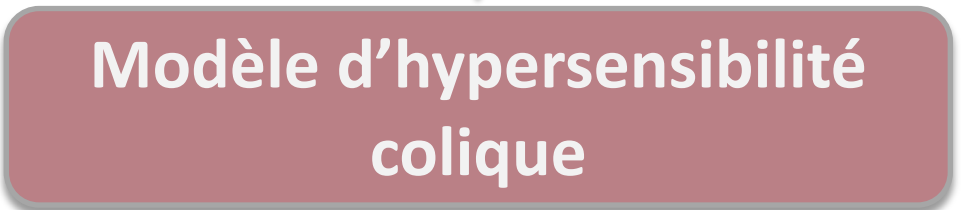
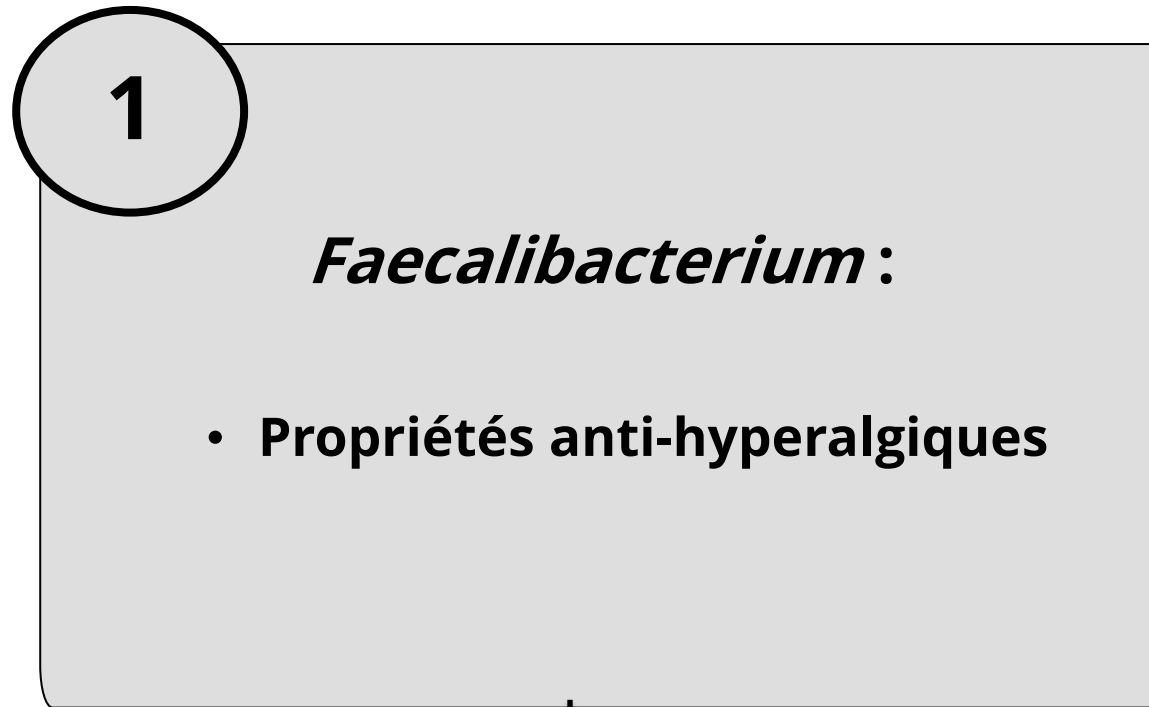
*Faecalibacterium*



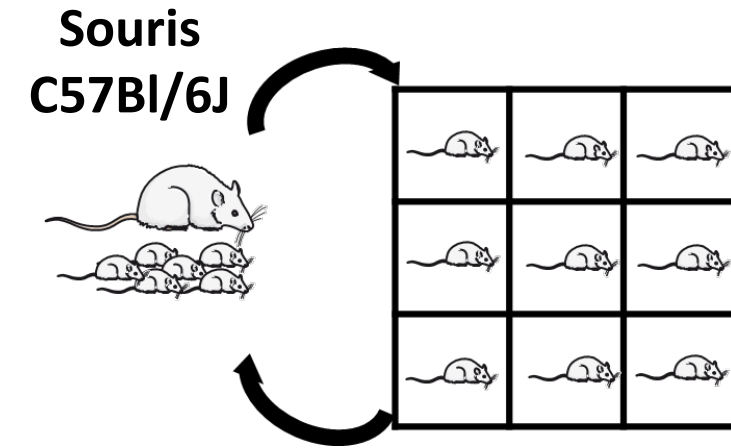
②

But de l'étude

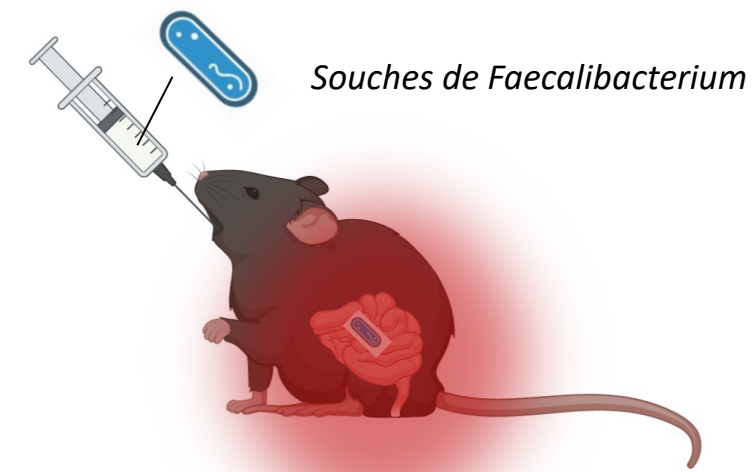
Propriétés anti-hyperalgiques



**Modèle de séparation néonatale maternel**



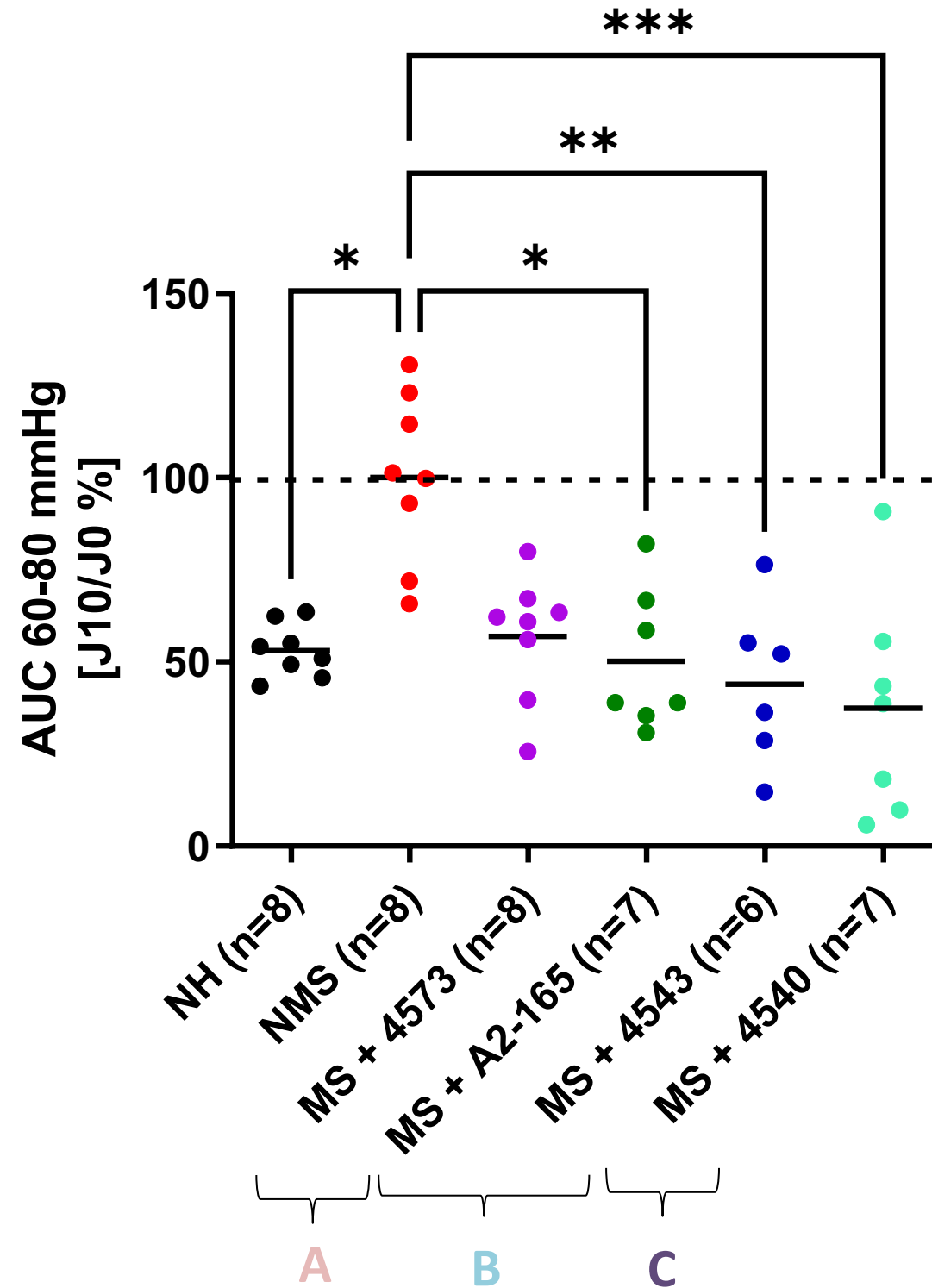
Séparation 3h/jour  
du 2<sup>ème</sup> au 14<sup>ème</sup> jour post-natal





# But de l'étude : *Faecalibacterium* et propriétés anti-hyperalgiques

## Résultats



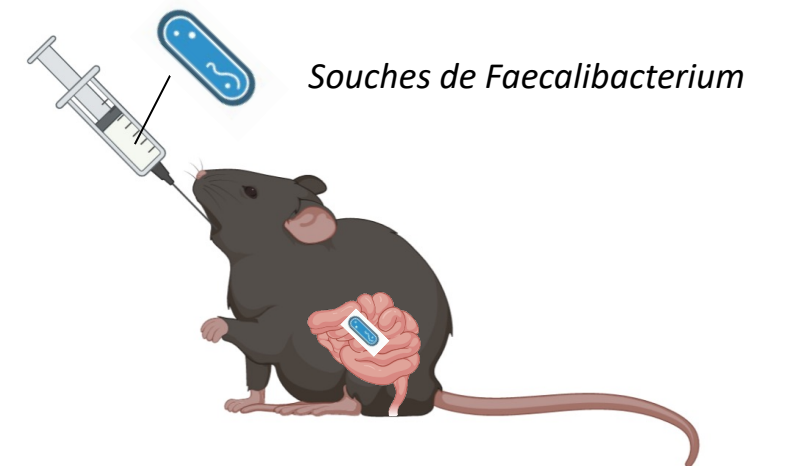
+

Sensibilité colique

-

- L'administration de **différentes souches de *Faecalibacterium***
  - Modèle NMS souris

= propriétés **anti-hyperalgiques *in vivo***

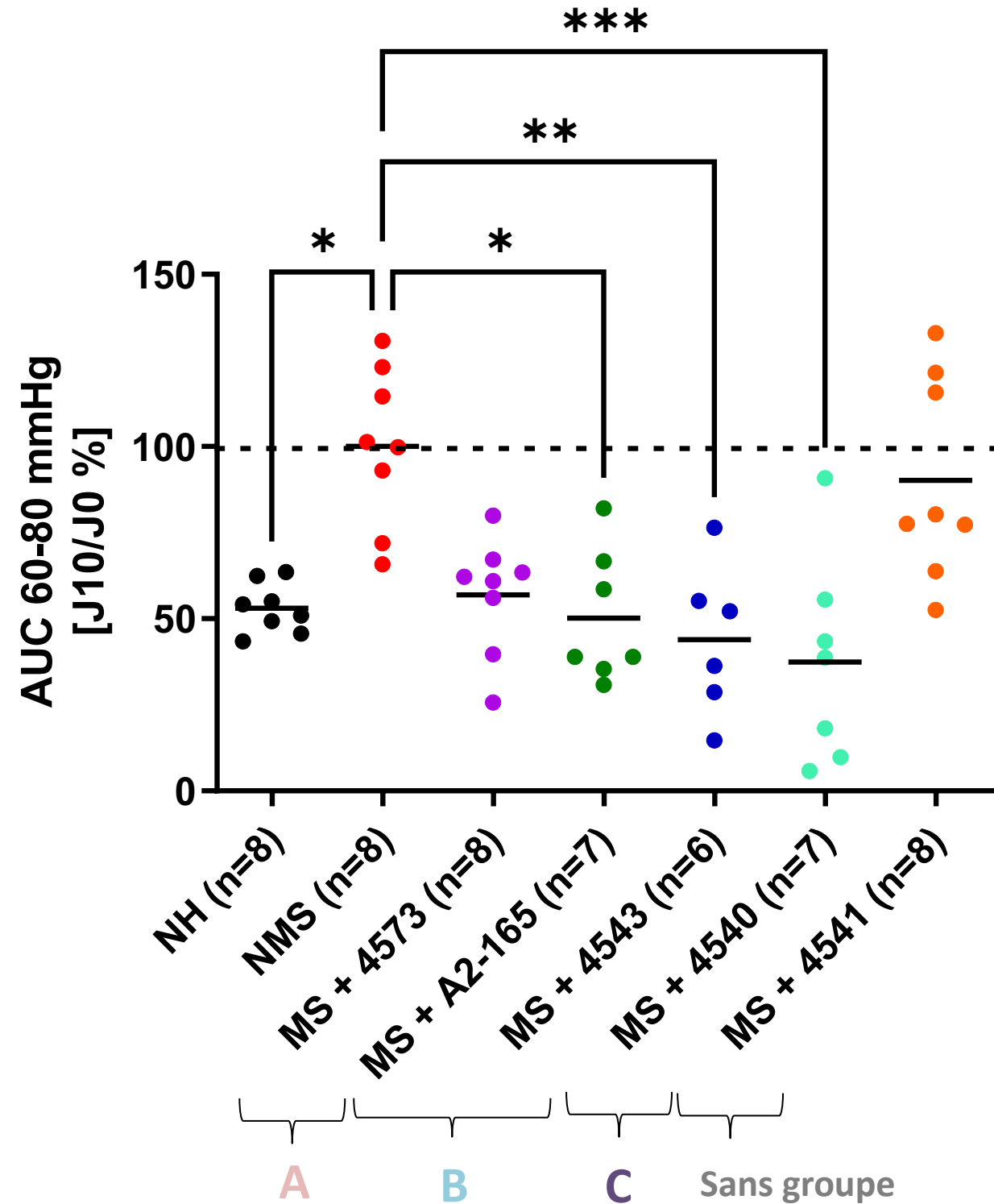






# But de l'étude : *Faecalibacterium* et propriétés anti-hyperalgiques

## Résultats



+

Sensibilité colique

-

- L'administration de **différentes souches de *Faecalibacterium***
  - Modèle NMS souris

= propriétés **anti-hyperalgiques *in vivo***





## Hypothèse

Effet anti-hyperalgique expliqué par  
un effet neuromodulateur des  
différentes souches ?





# But de l'étude : *Faecalibacterium* et propriétés neuromodulatrices

## *Faecalibacterium* :

- Propriétés anti-hyperalgiques *in vivo*
- Propriétés neuromodulatrices ?

### Groupe A :

- *F. prausnitzii* CNCM 1-4644
- *F. prausnitzii* M21/2
- *F. prausnitzii* CNCM 1-4573

### Groupe B :

- *F. prausnitzii* CNCM 1-4574
- *F. duncaniae* A2-165

### Groupe C :

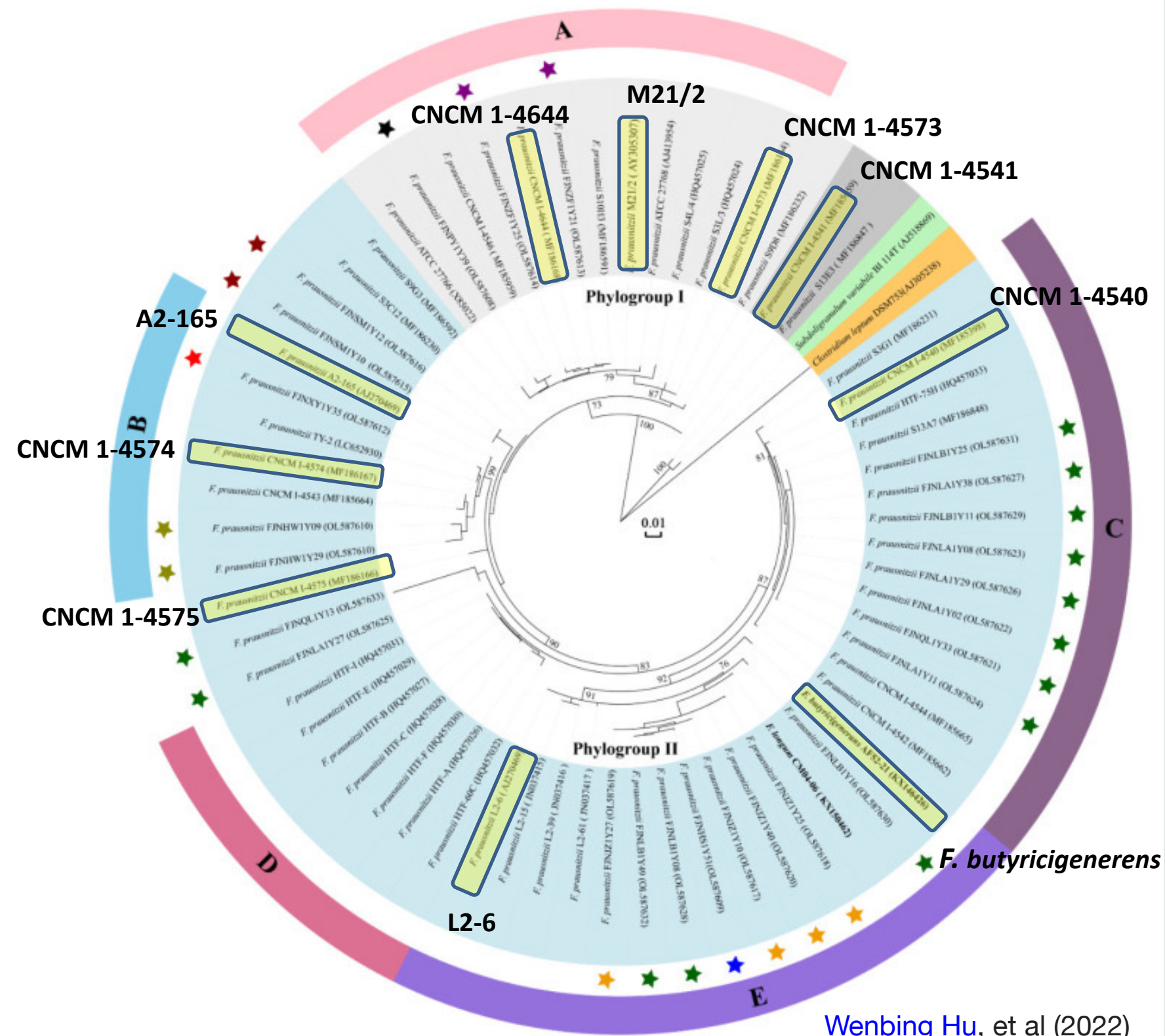
- *F. prausnitzii* CNCM 1-4540

### Groupe E :

- *F. butyricigenereus*
- *F. prausnitzii* L2-6

### Sans groupe

- *F. prausnitzii* CNCM 1-4541
- *F. prausnitzii* CNCM 1-4575



Wenbing Hu, et al (2022)

①

Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium



②

But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques

Propriétés neuromodulatrices

***Faecalibacterium* :**

- Propriétés anti-hyperalgiques *in vivo*
- **Propriétés neuromodulatrices ?**

**Groupe A :**

- *F. prausnitzii* CNCM 1-4644
- *F. prausnitzii* M21/2
- *F. prausnitzii* CNCM 1-4573

**Groupe B :**

- *F. prausnitzii* CNCM 1-4574
- *F. duncaniae* A2-165

**Groupe C :**

- *F. prausnitzii* CNCM 1-4540

**Groupe E :**

- *F. butyricigenereus*
- *F. prausnitzii* L2-6

**Sans groupe**

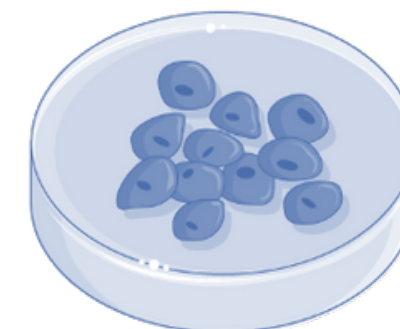
- *F. prausnitzii* CNCM 1-4541
- *F. prausnitzii* CNCM 1-4575

**Objectif**

Identifier les différentes souches bactériennes qui portent les activités neuromodulatrices

Imagerie calcique à haut débit

ND7/23  
Lignée neuronale immortalisée

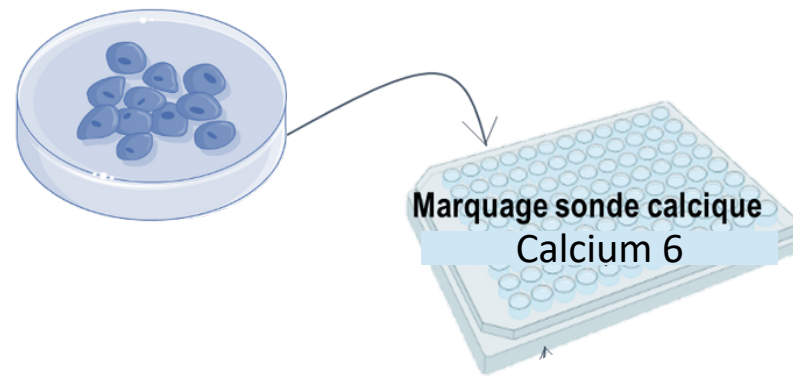






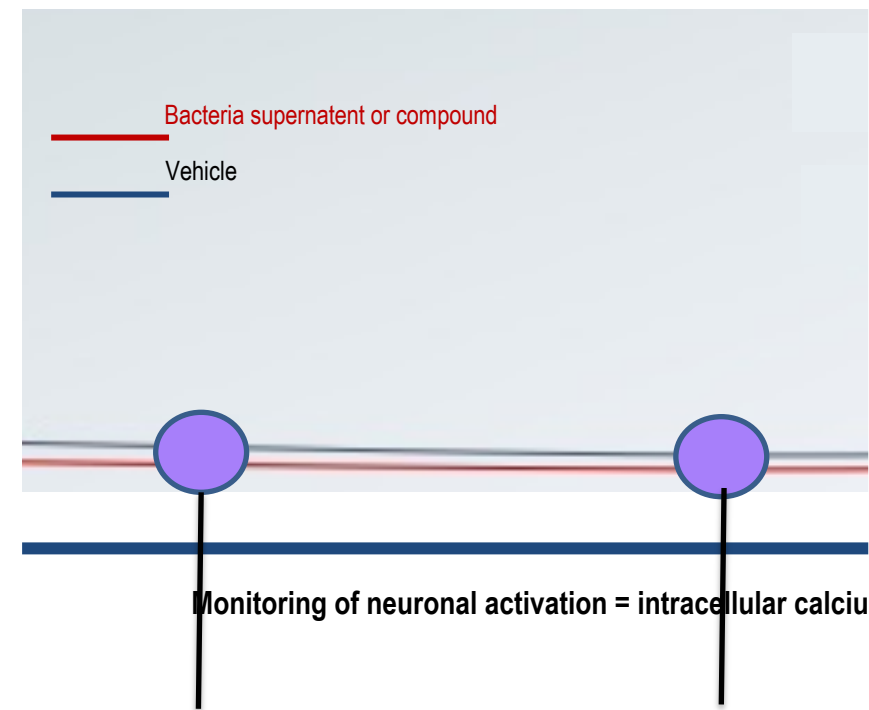
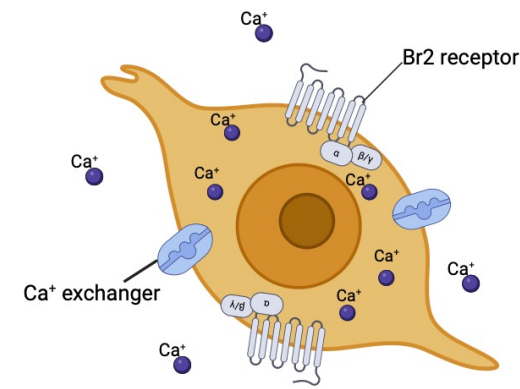
## Imagerie calcique à haut débit

ND7/23  
Lignée neuronale immortalisée



### Fractions bactérienne :

- Fractions solubles
- Fractions insolubles
- Surnageant de culture



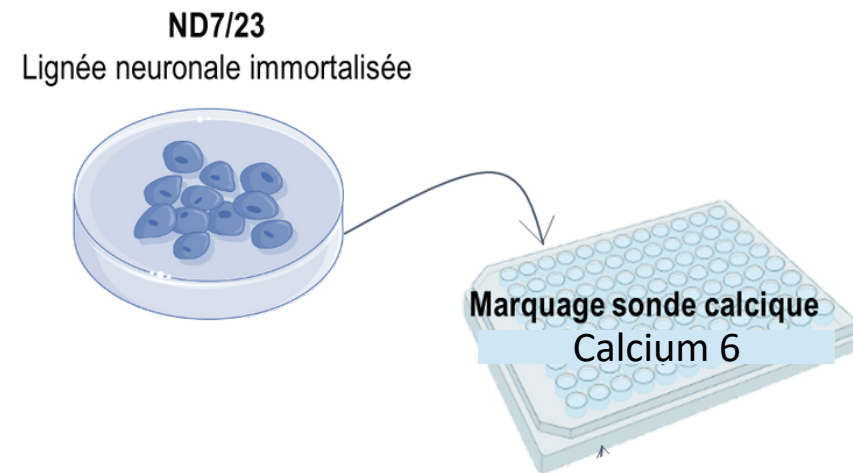
Ajout de la sonde calcique

Ajout des fractions bactériennes

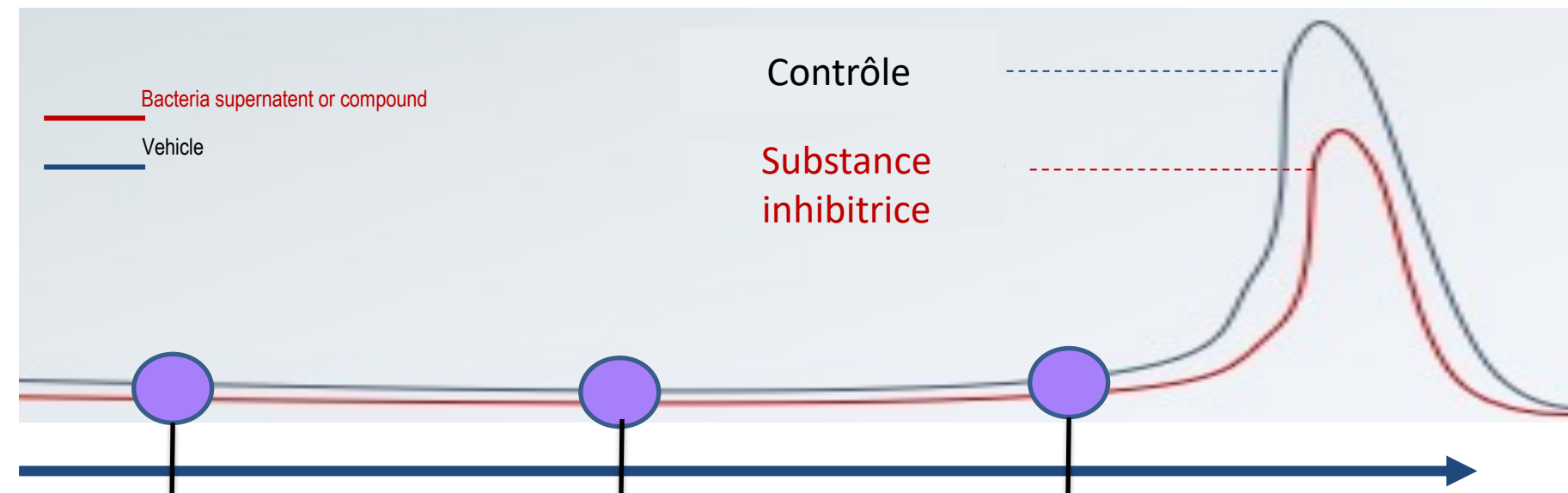


# But de l'étude : *Faecalibacterium* et propriétés neuromodulatrices

## Imagerie calcique à haut débit



- Fractions bactérienne :**
- Fractions solubles
  - Fractions insolubles
  - Surnageant de culture



Monitoring of neuronal activation = intracellular calcium

Ajout de la sonde calcique

Ajout des fractions bactériennes

Stimulation Bradykinine 40nM

+  
Activité neuronale

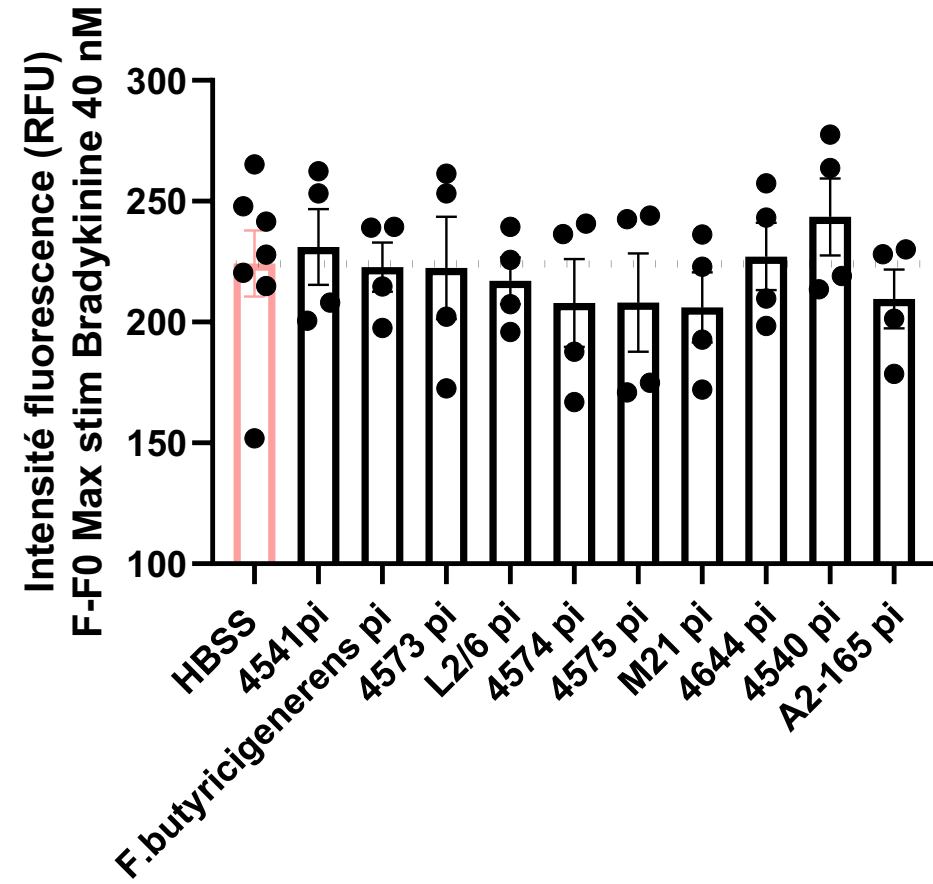




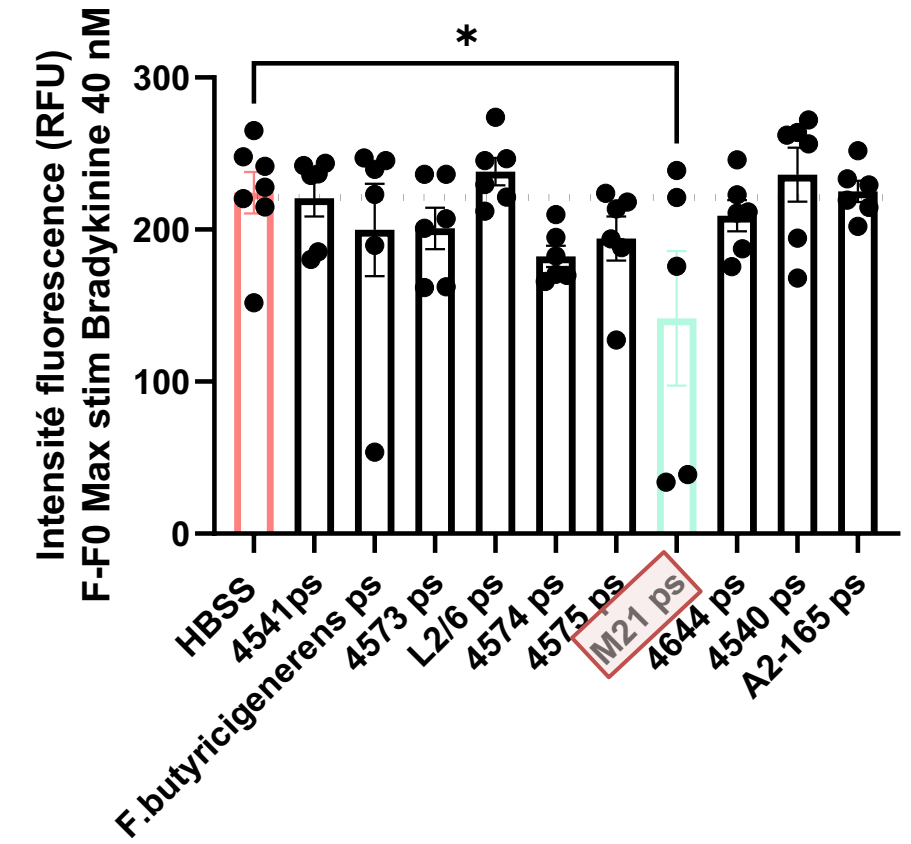
# But de l'étude : *Faecalibacterium* et propriétés neuromodulatrices

## Résultats

### Protéines insolubles



### Protéines solubles



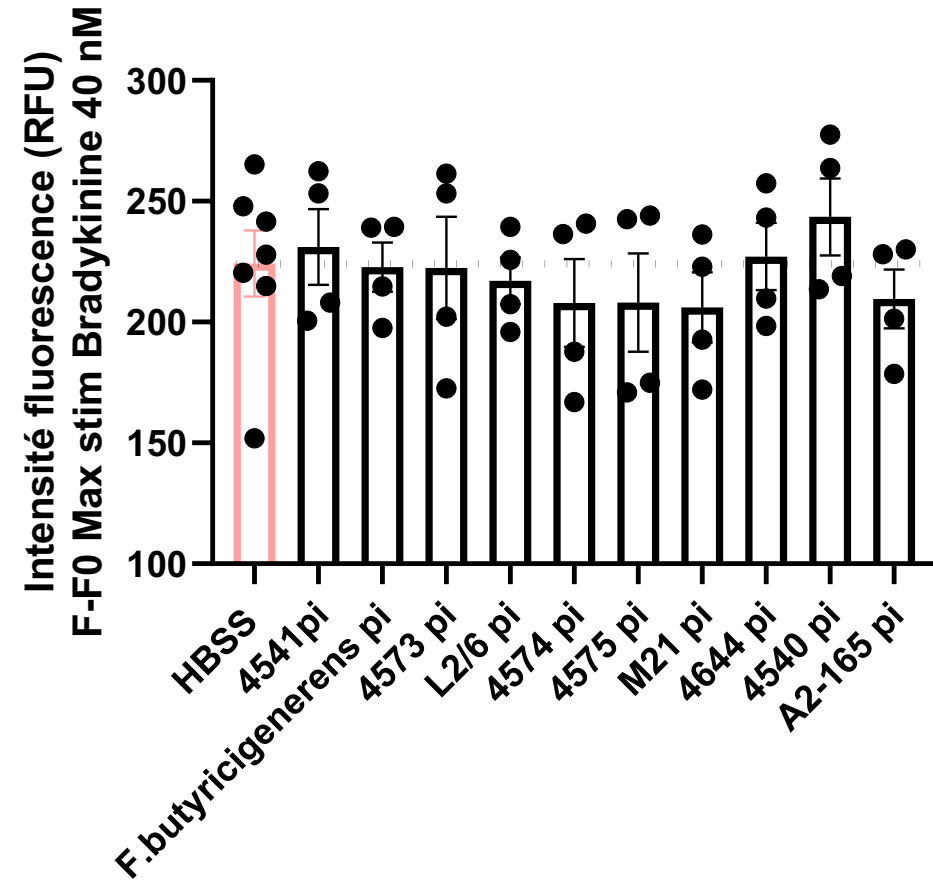
Activation neuronale



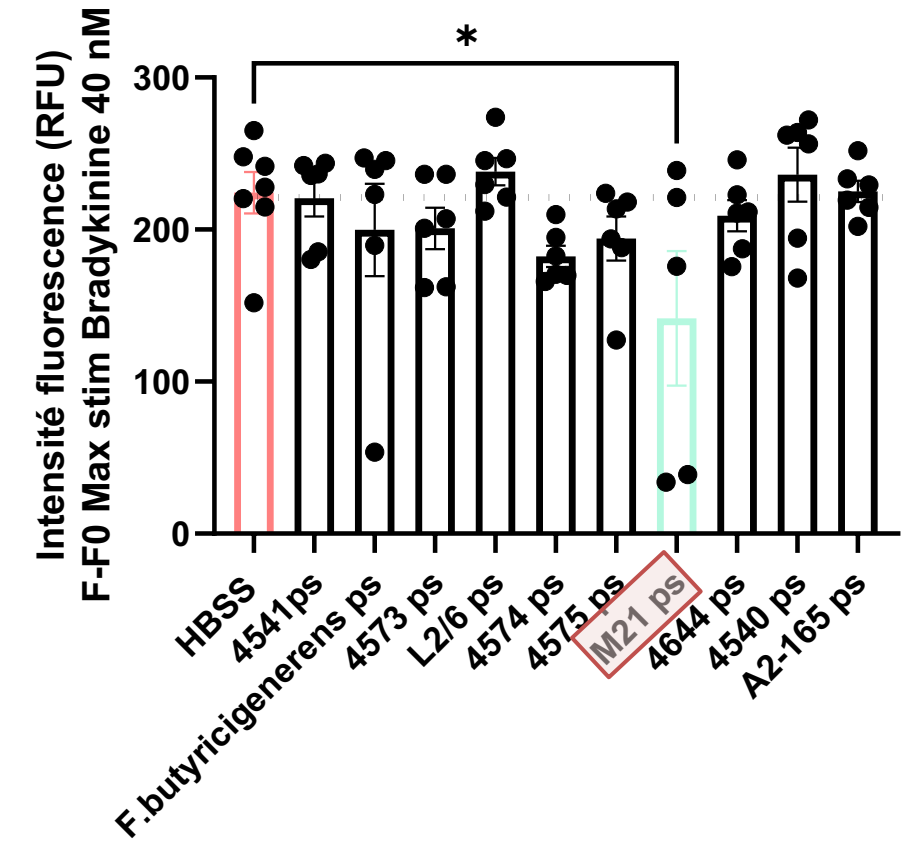
# But de l'étude : *Faecalibacterium* et propriétés neuromodulatrices

## Résultats

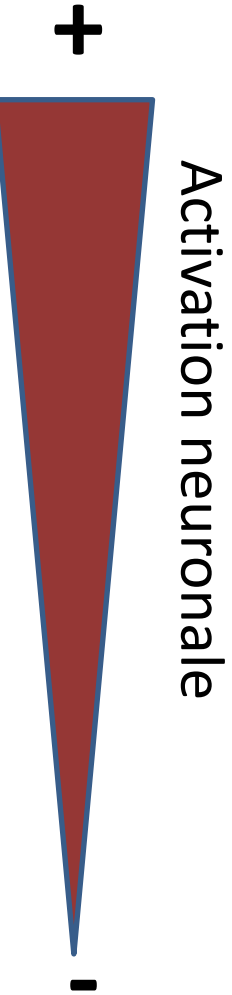
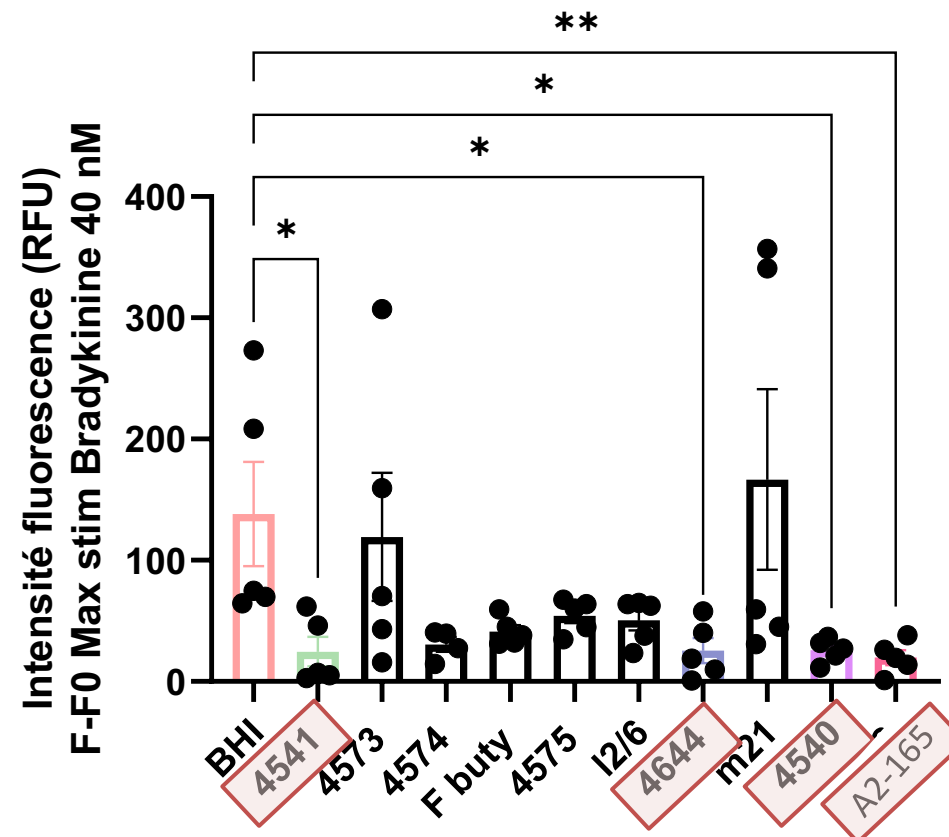
### Protéines insolubles



### Protéines solubles



### Surnageant de culture





①

Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium

②

But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques

Propriétés neuromodulatrices

Résultats

③

Conclusion



*Souches de Faecalibacterium*

	Souches	Bactérie vivante
A	4573	✓
	4644	
	M21	
B	4574	✓
	A2-165	✓
	4540	✓
E	F.buty	
	L2-6	
Aucun	4541	✗
	4575	

**Propriétés anti-hyperalgiques :**

① Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium

② But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques


Propriétés neuromodulatrices

Résultats

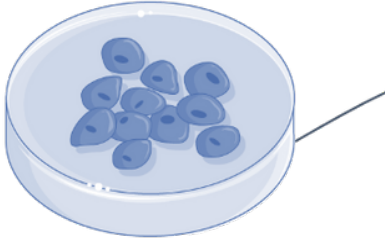
③ Conclusion



Souches de Faecalibacterium



ND7/23  
Lignée neuronale immortalisée



Souches	Propriétés anti-hyperalgiques :			Propriétés neuromodulatrices :		
	Bactérie vivante	Protéines solubles	Protéines insolubles	Bactérie vivante	Protéines solubles	Protéines insolubles
A	4573	✓	✗	✗	✗	✗
	4644	■	✗	✗	✗	✗
	M21	■	✓	✗	✗	✗
B	4574	✓	✗	✗	✗	✗
	A2-165	✓	✗	✗	✗	✗
C	4540	✓	✗	✗	✗	✗
E	F.buty	■	✗	✗	✗	✗
	L2-6	■	✗	✗	✗	✗
Aucun	4541	✗	✗	✗	✗	✗
	4575	■	✗	✗	✗	✗

①

## Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium

②

## But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques

Propriétés neuromodulatrices

Résultats

③

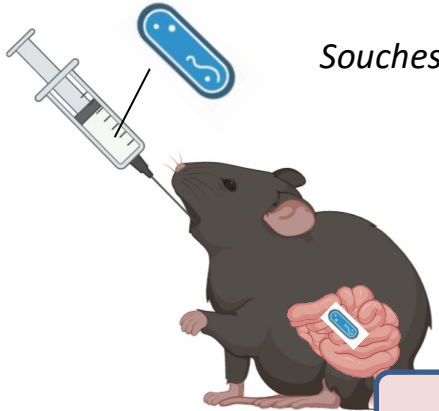
## Conclusion



NEURO-DOL

## Conclusion

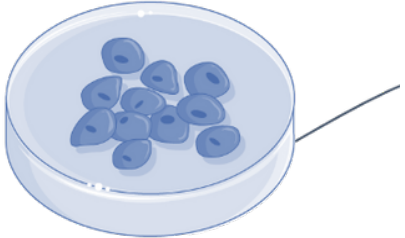
*Souches de Faecalibacterium*



*Propriétés anti-hyperalgiques :*

*Propriétés neuromodulatrices :*

ND7/23  
Lignée neuronale immortalisée



Souches	Propriétés neuromodulatrices :			
	Bactérie vivante	Protéines solubles	Protéines insolubles	Surnageant de culture
A	4573	✓	✗	✗
	4644	✗	✗	✓
	M21	✗	✓	✗
B	4574	✓	✗	✗
	A2-165	✓	✗	✓
C	4540	✓	✗	✓
E	F.buty	✗	✗	✗
	L2-6	✗	✗	✗
Aucun	4541	✗	✗	✓
	4575	✗	✗	✗



① Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium

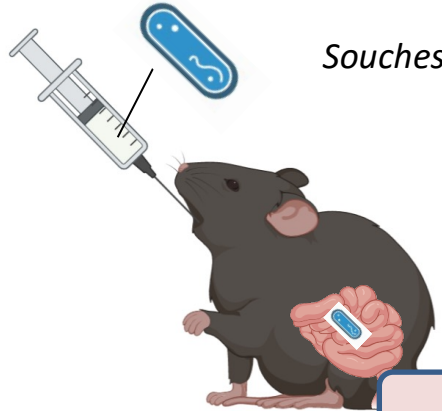
② But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques

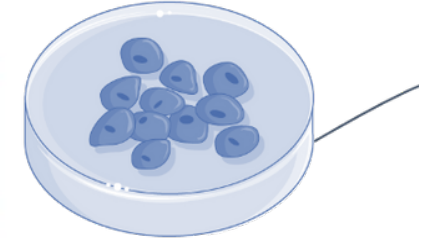
Propriétés neuromodulatrices

Résultats

③ Conclusion

*Souches de Faecalibacterium*



**ND7/23**  
Lignée neuronale immortalisée

	Souches	Propriétés anti-hyperalgiques :		Propriétés neuromodulatrice :		
		Bactérie vivante	Protéines solubles	Protéines insolubles	Surnageant de culture	
A	4573	✓	✗	✗	✗	
	4644	✗	✗	✗	✓	
	M21		✓	✗	✗	
B	4574	✓	✗	✗	✗	
	A2-165	✓	✗	✗	✓	
	4540	✓	✗	✗	✓	
E	F.buty		✗	✗	✗	
	L2-6		✗	✗	✗	
Aucun	4541	✗	✗	✗	✓	
	4575		✗	✗	✗	

①

Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium

②

But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques

Propriétés neuromodulatrices

Résultats

③

Conclusion

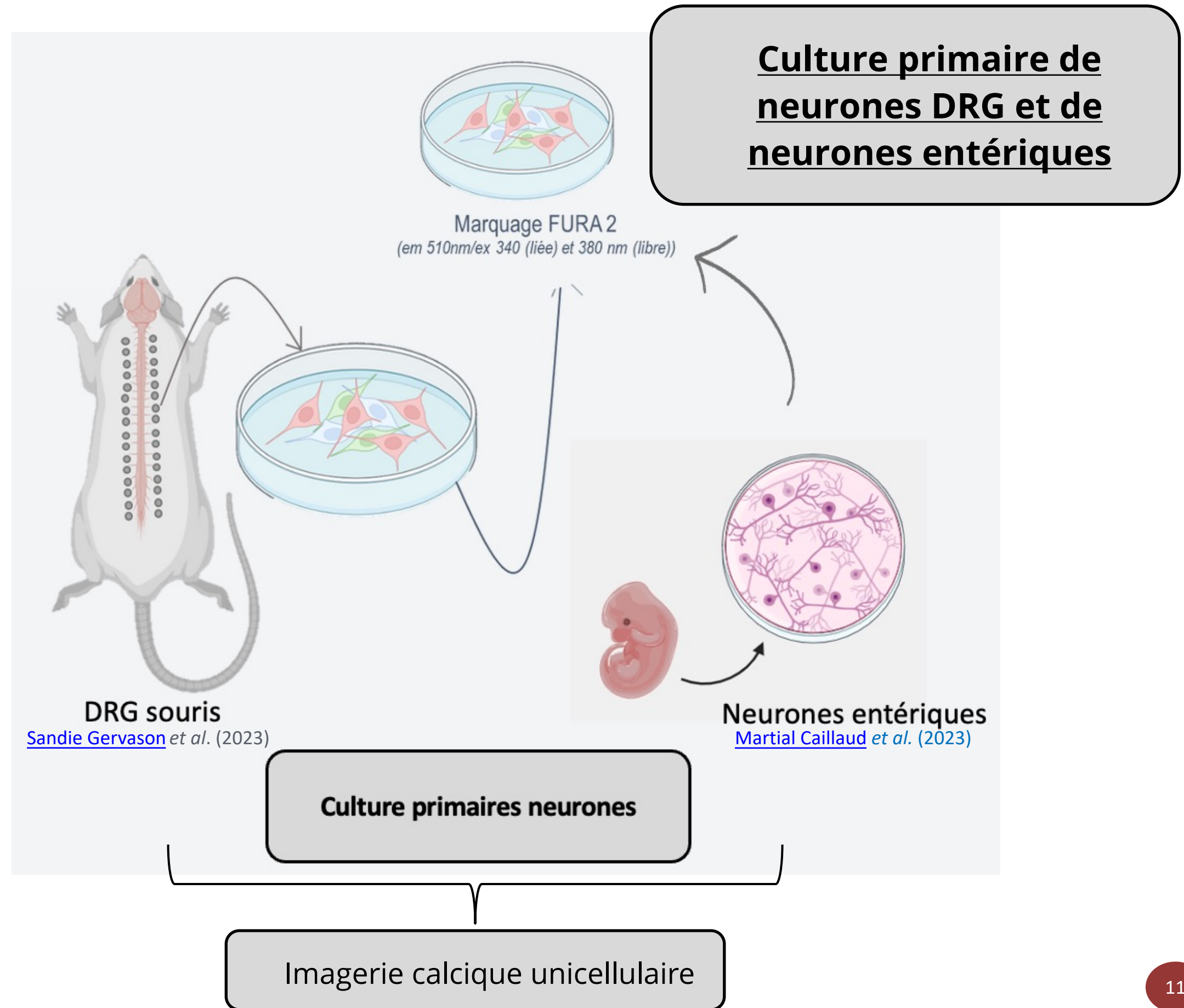
④

Perspectives



Utilisation des fractions sélectionnées

Souches	Bactérie vivante	Surnageant de culture
4573	✓	✗
4644	✓	✓
M21	✗	✗
4574	✓	✗
A2-165	✓	✓
4540	✓	✓
F.buty	✗	✗
L2-6	✗	✗
4541	✗	✓
4575	✗	✗





RÉUNION ANNUELLE  
DU GROUPE FRANÇAIS  
**DE NEURO-GASTROENTÉROLOGIE**



2&3 MAI  
**2024**  
ANNECY  
LES PENSIÈRES  
VEYRIER-DU-LAC

Merci pour  
votre écoute



**GFNG**  
Groupe Français de  
Neuro-Gastroentérologie

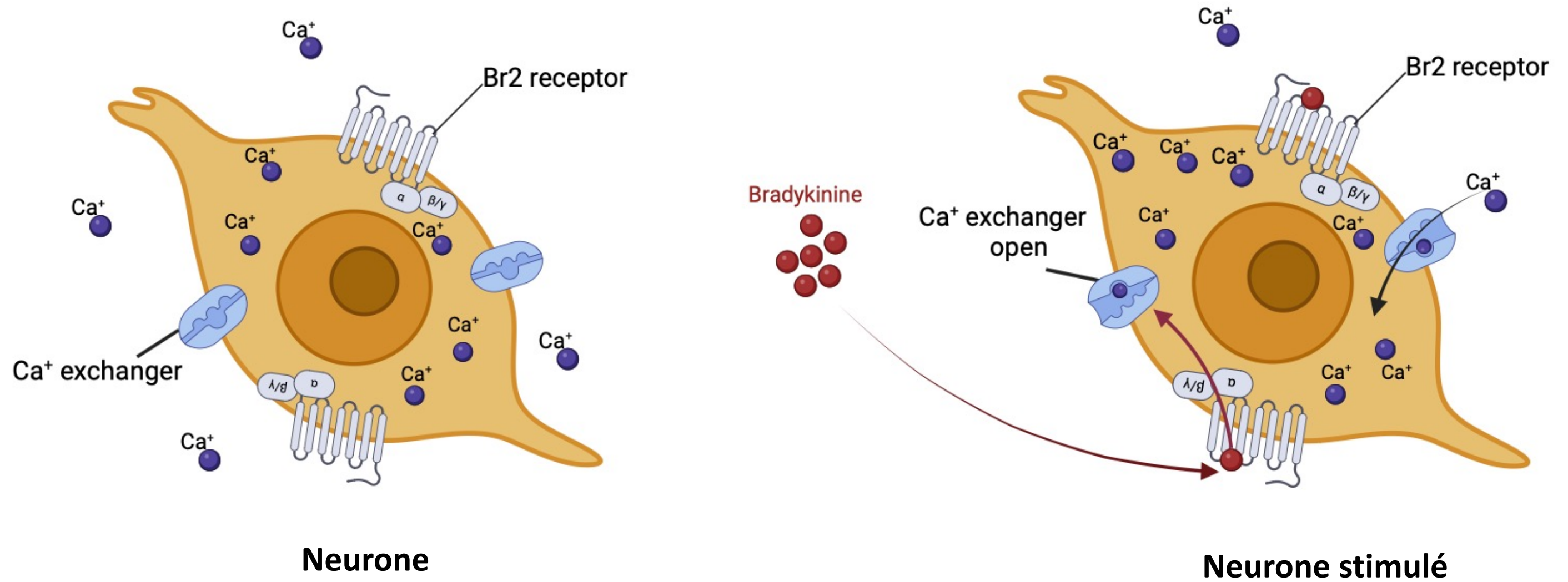




# But de l'étude : *Faecalibacterium* et propriétés neuromodulatrices

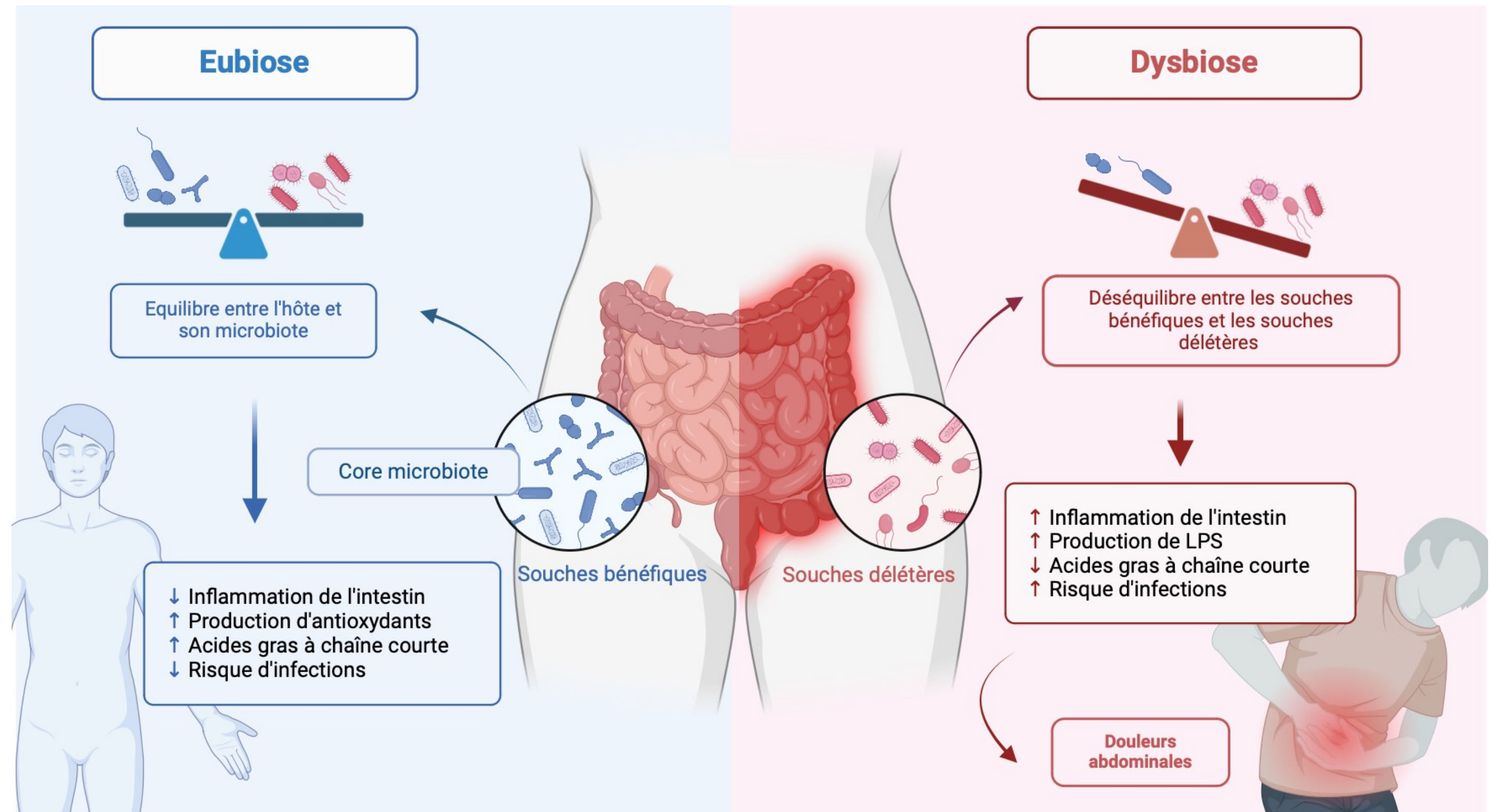
## Imagerie calcique à haut débit

Etude *in vitro* neuronale



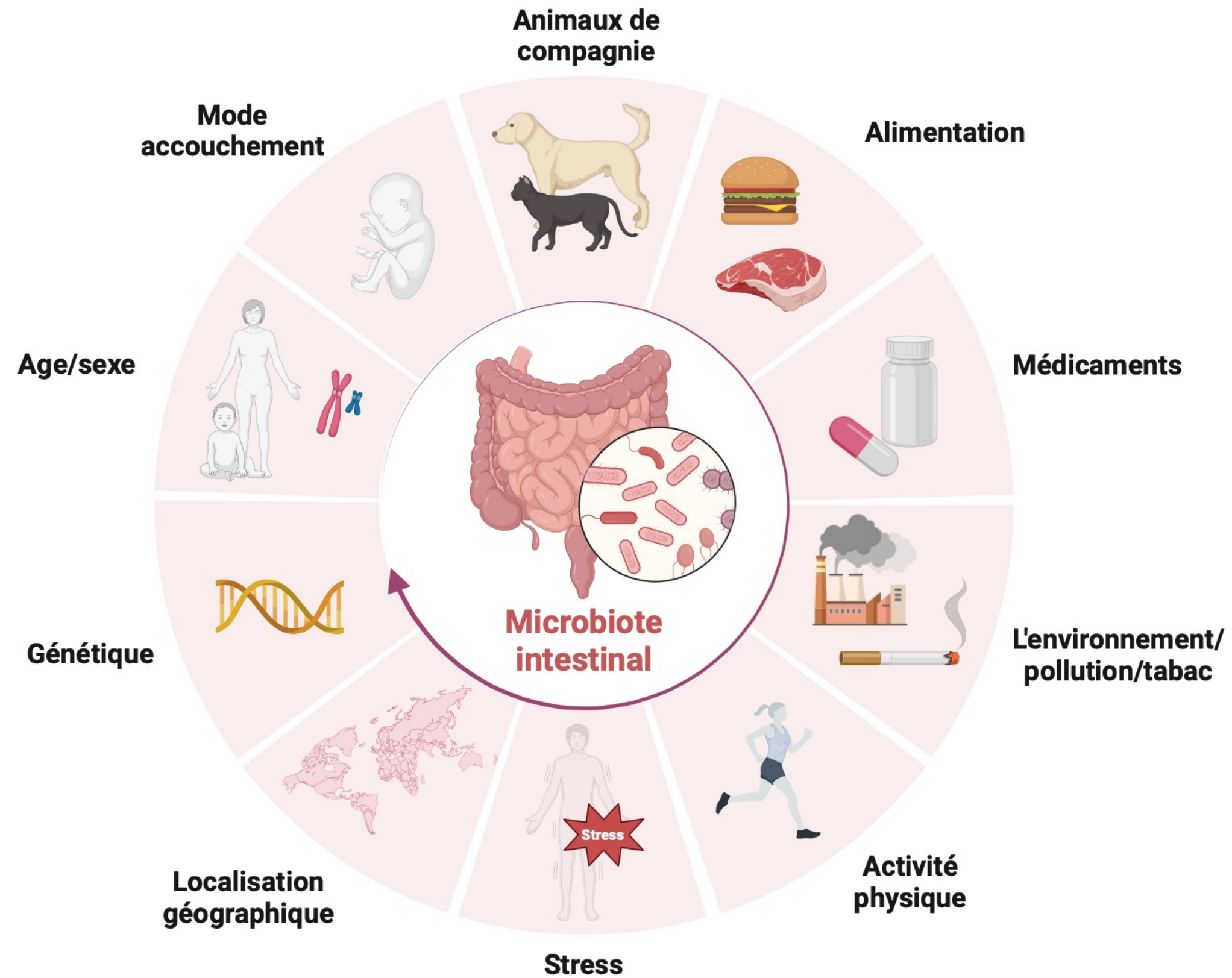
Représentation de l'activité neuronale

## Eubiose et dysbiose



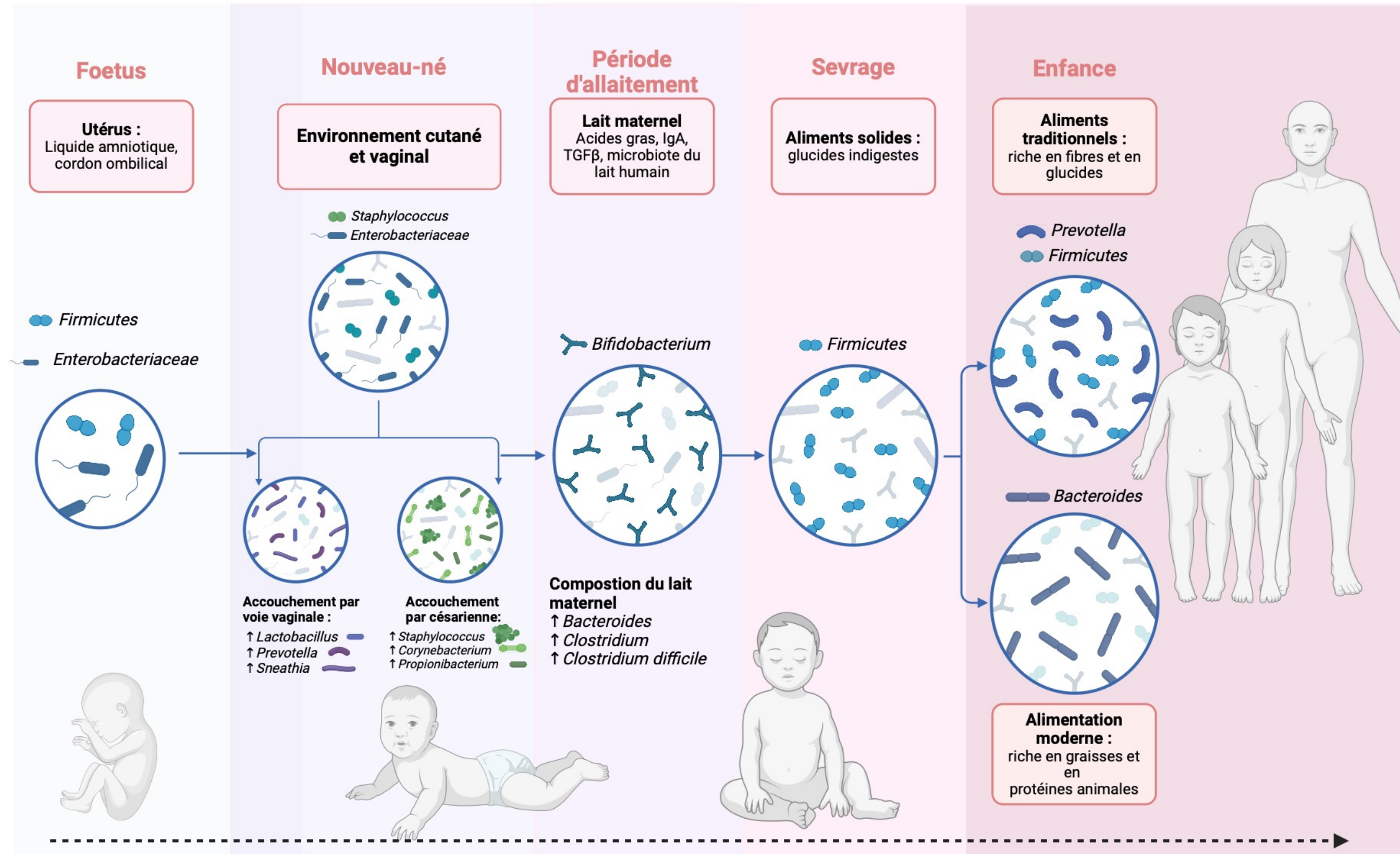


## Facteurs influençant le microbiote



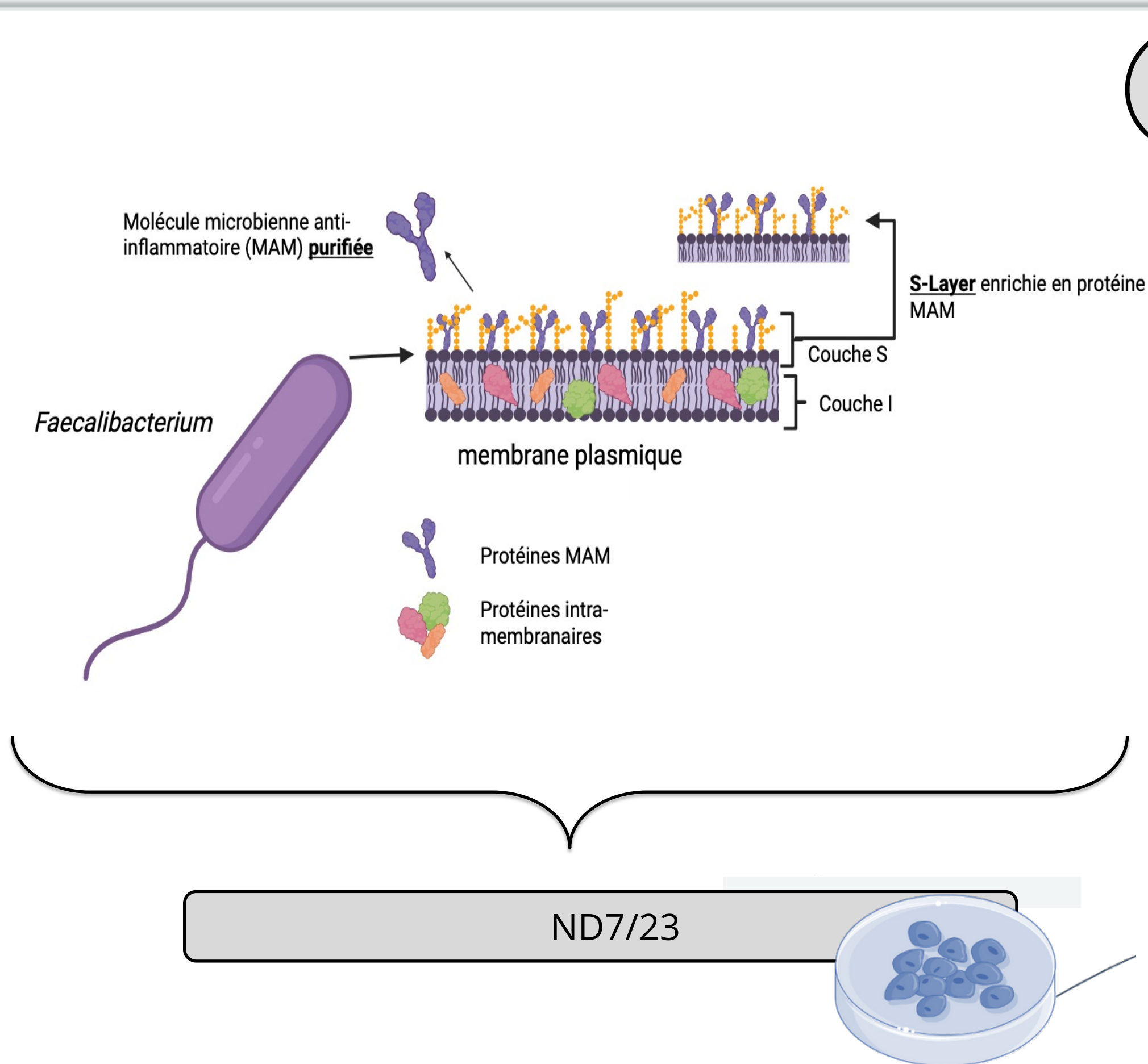


## Facteur de la naissance





# But de l'étude : Protéine MAM et propriétés neuromodulatrices



2

## Protéine MAM :

- Propriétés neuromodulatrices ?

## Différentes fractions :

- Purification de S-Layer (A2-165; M21; 4541)
- Purification de protéines MAM (A2-165)

①  
Contexte pathologique

SII et MICI  
Faecalibacterium

②  
Contexte de l'étude

A2-165  
NMS

③  
But de l'étude

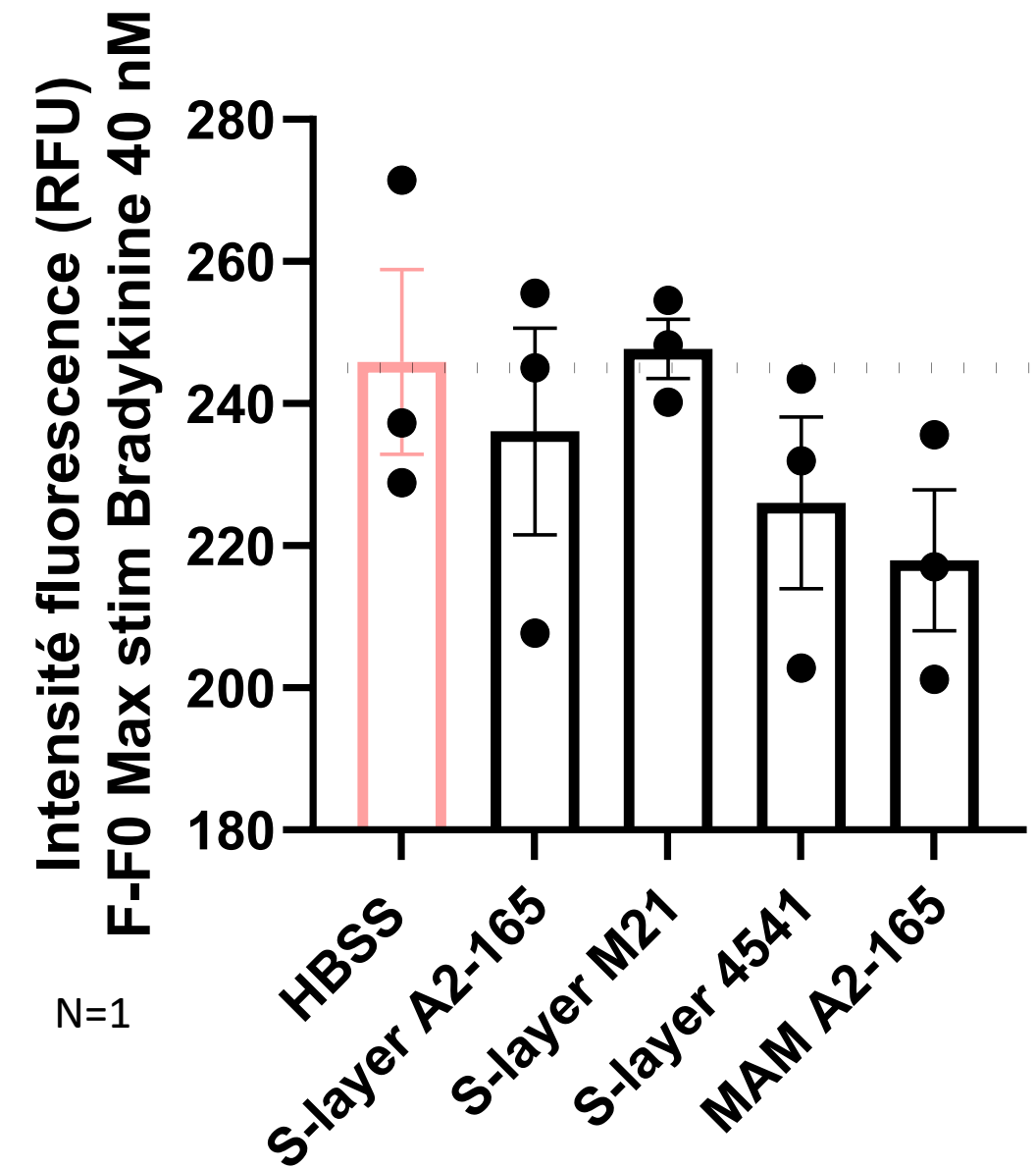
Propriétés anti-hyperlagiques

Propriétés neuromodulatrices-Souches

Protéines MAM

### Résultats

#### Effet des protéines S-layer et MAM sur des ND7/23 stimulées à la bradykinine



N=1

2

### Protéine MAM :

- Propriétés neuromodulatrices ?

Différentes fractions :

- Purification de S-Layer (A2-165; M21; 4541)
- Purification de protéines MAM (A2-165)

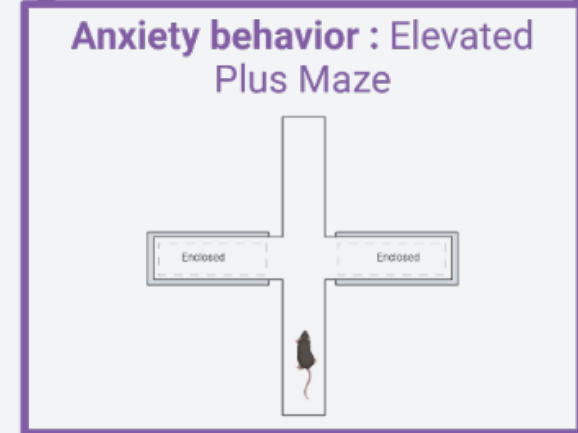
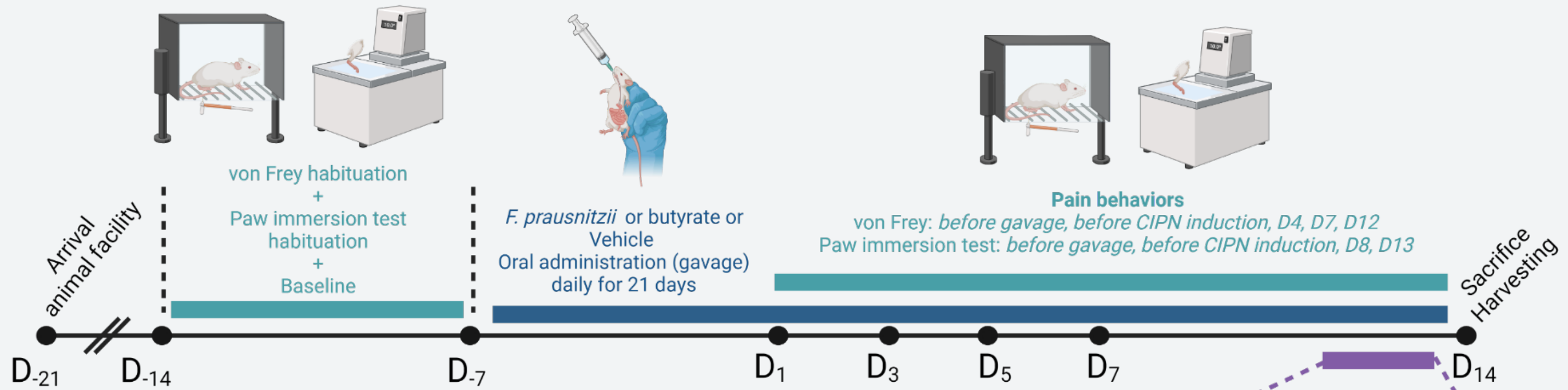






-> Potentiel neuromodulateur de souches bactériennes *In vivo*

2



Modèle hyper-sensibilité extra-intestinale = hypersensibilité mécanique paclitaxel



① Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium

② Contexte de l'étude

A2-165

NMS

③ But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques

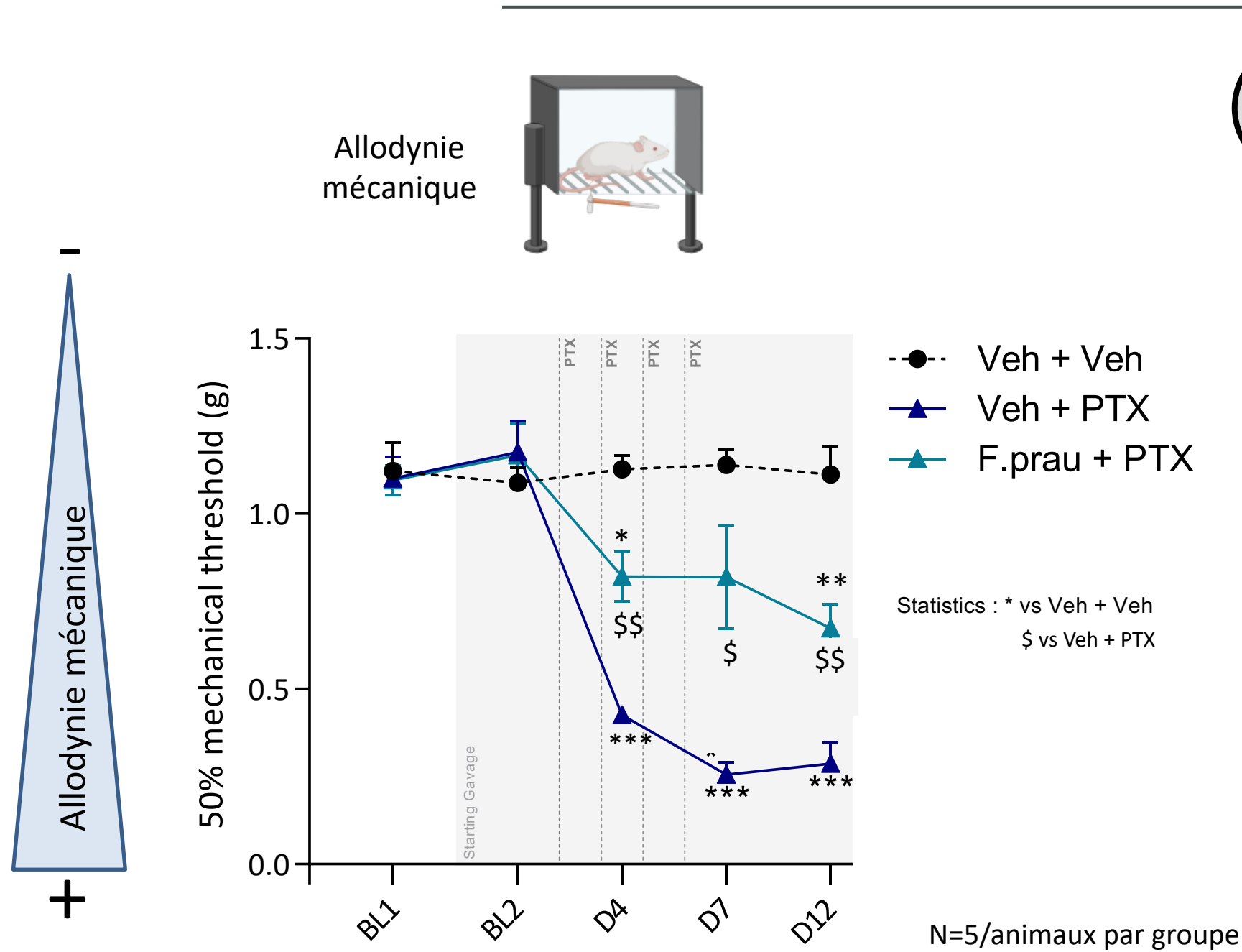
Propriétés neuromodulatrices-Souches

Protéines MAM

④ Conclusion

⑤ Perspectives

### Résultats



2

**Effets A2-165 dans un modèle de douleur périphérique ?**

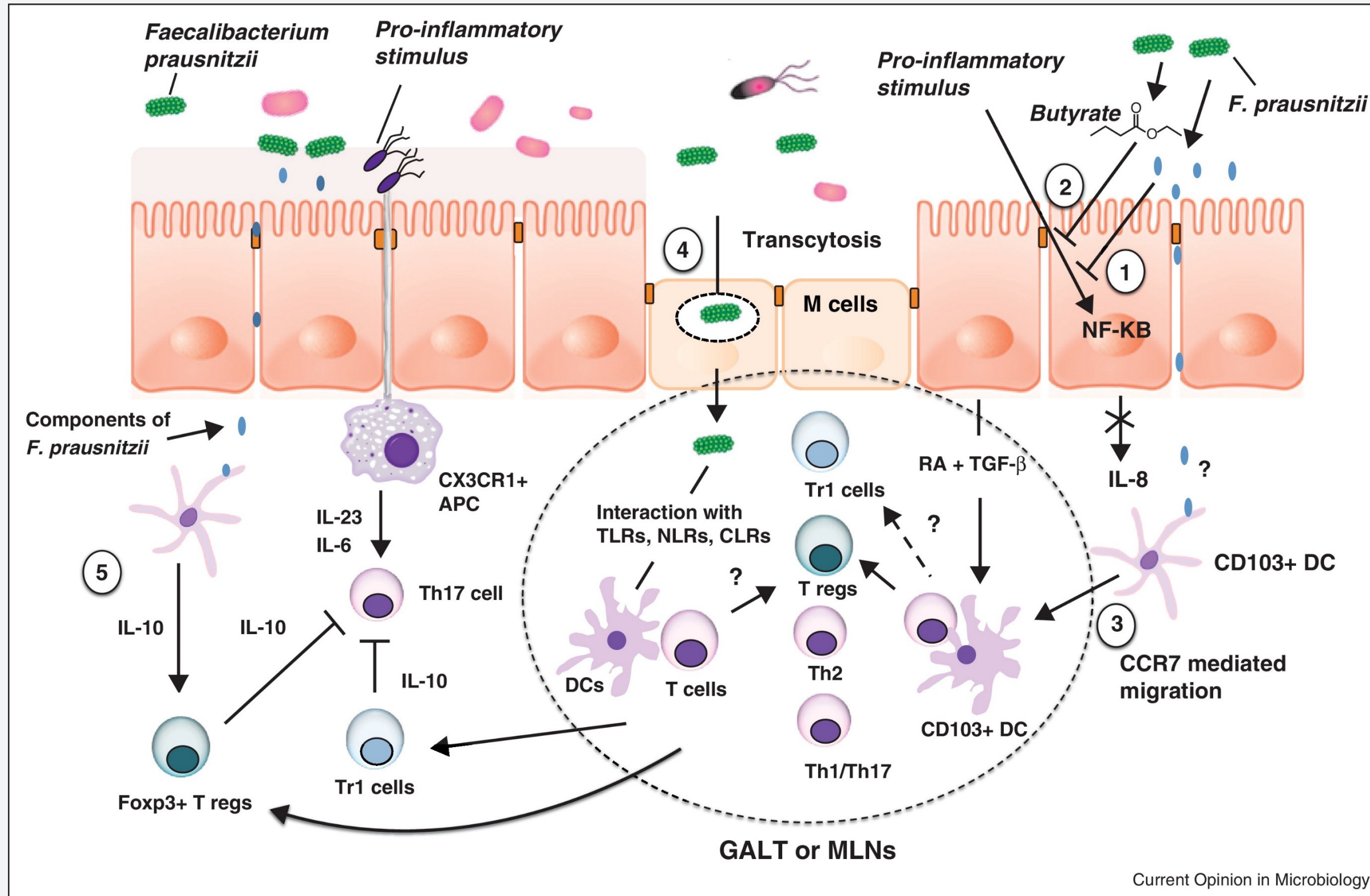
Etude *in vivo* : Modèle de neuropathie périphérique induite au paclitaxel



**Faecalibacterium duncaniae A2-165 : effet anti-hyperalgique dans un modèle de douleur périphérique**

# Faecalibactérium

## Implication du butyrate et de la protéine MAM dans l'inflammation



- 1-2 Inhibition voie NF-KB
- 3-4 Augmentation de la production de TReg
- 5 Augmentation de IL-10

(Miquel et al., 2016)



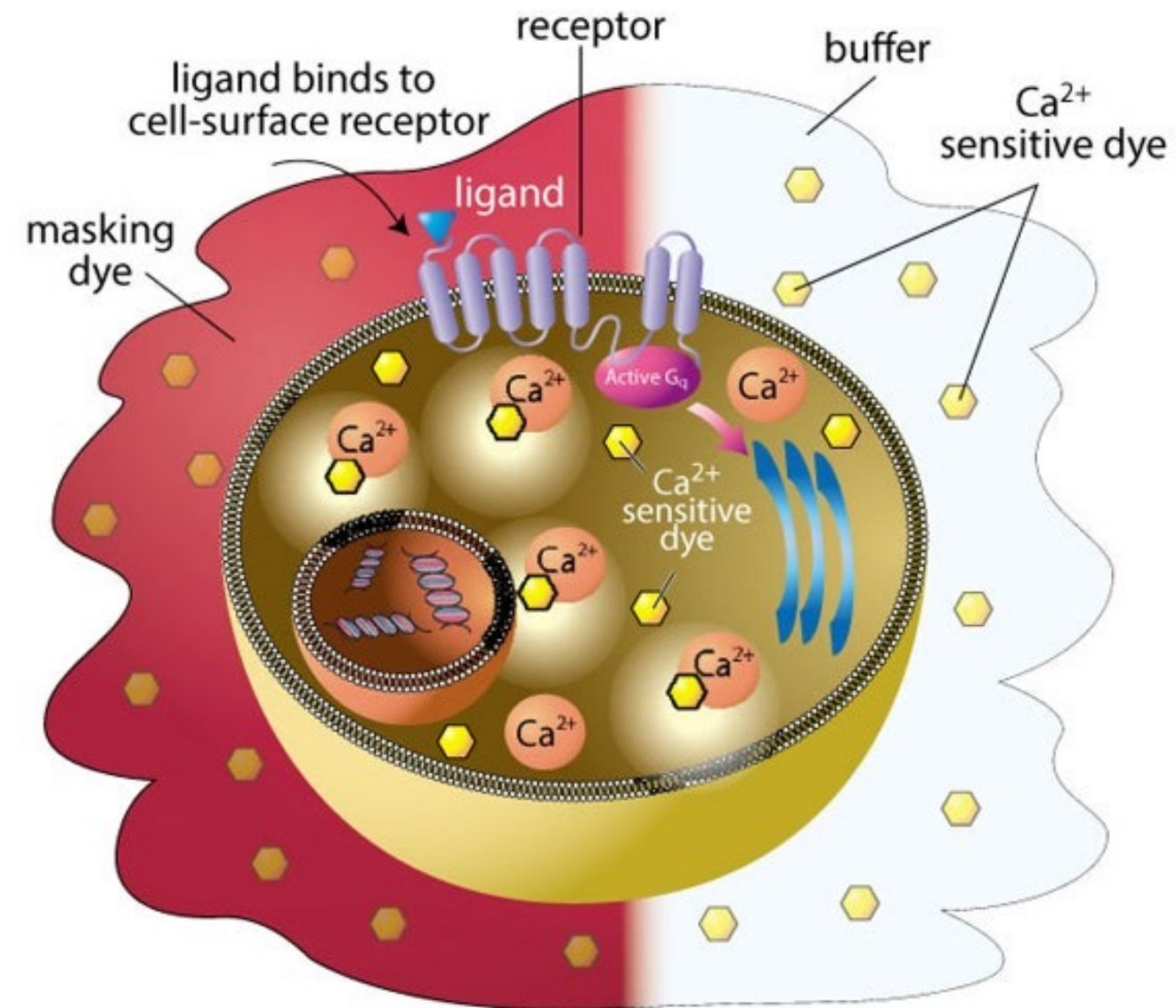
Sonde calcique utilisée  
en imagerie calcique à  
haut débit

## Calcium 6

Significantly reduce fluorescence  
background with one-step protocol

## Calcium 6-QF

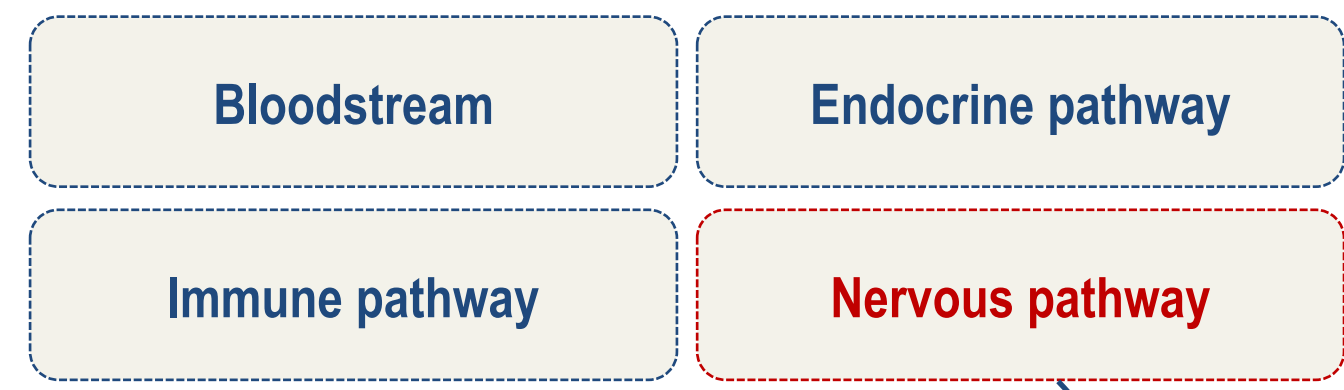
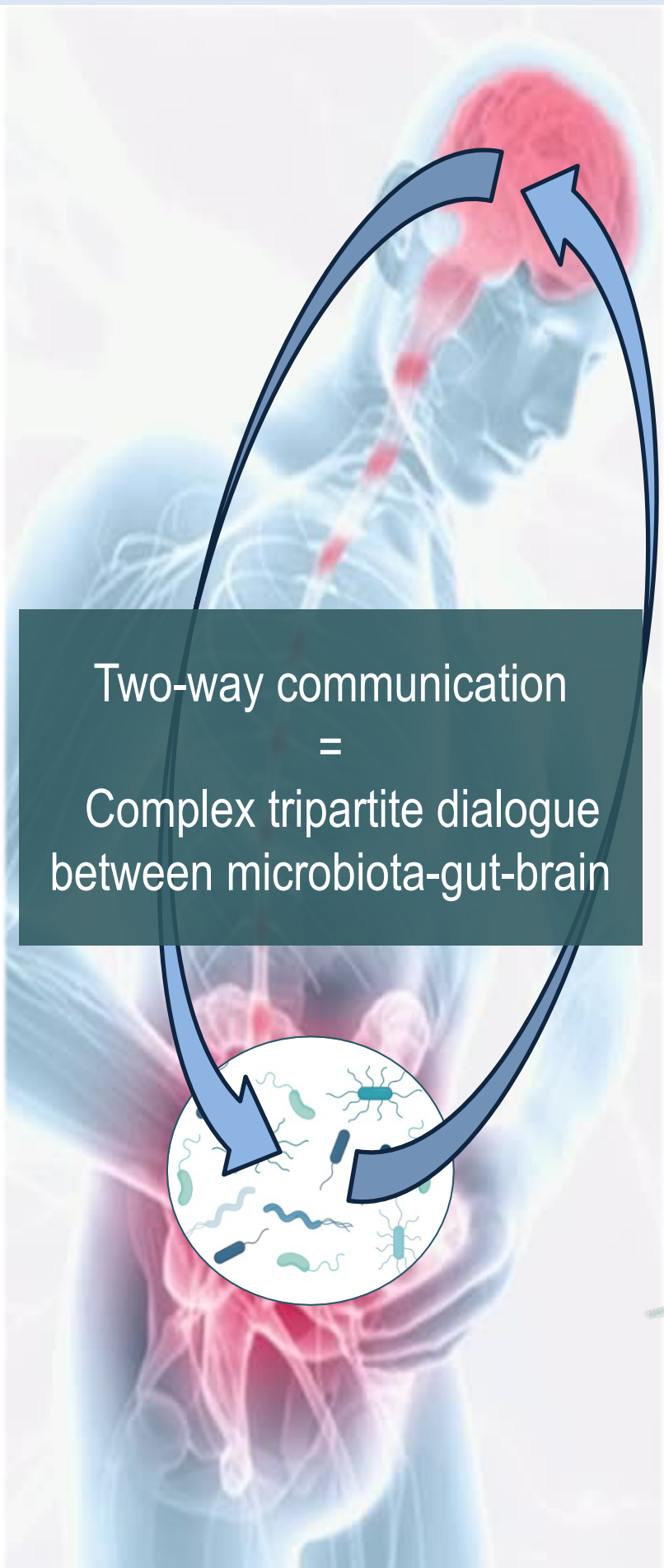
Quench-free option for sensitive  
targets and multiplexing



Increase in cytosolic Ca<sup>2+</sup> can be detected by FLIPR or FlexStation  
microplate readers using calcium-sensitive dye indicators

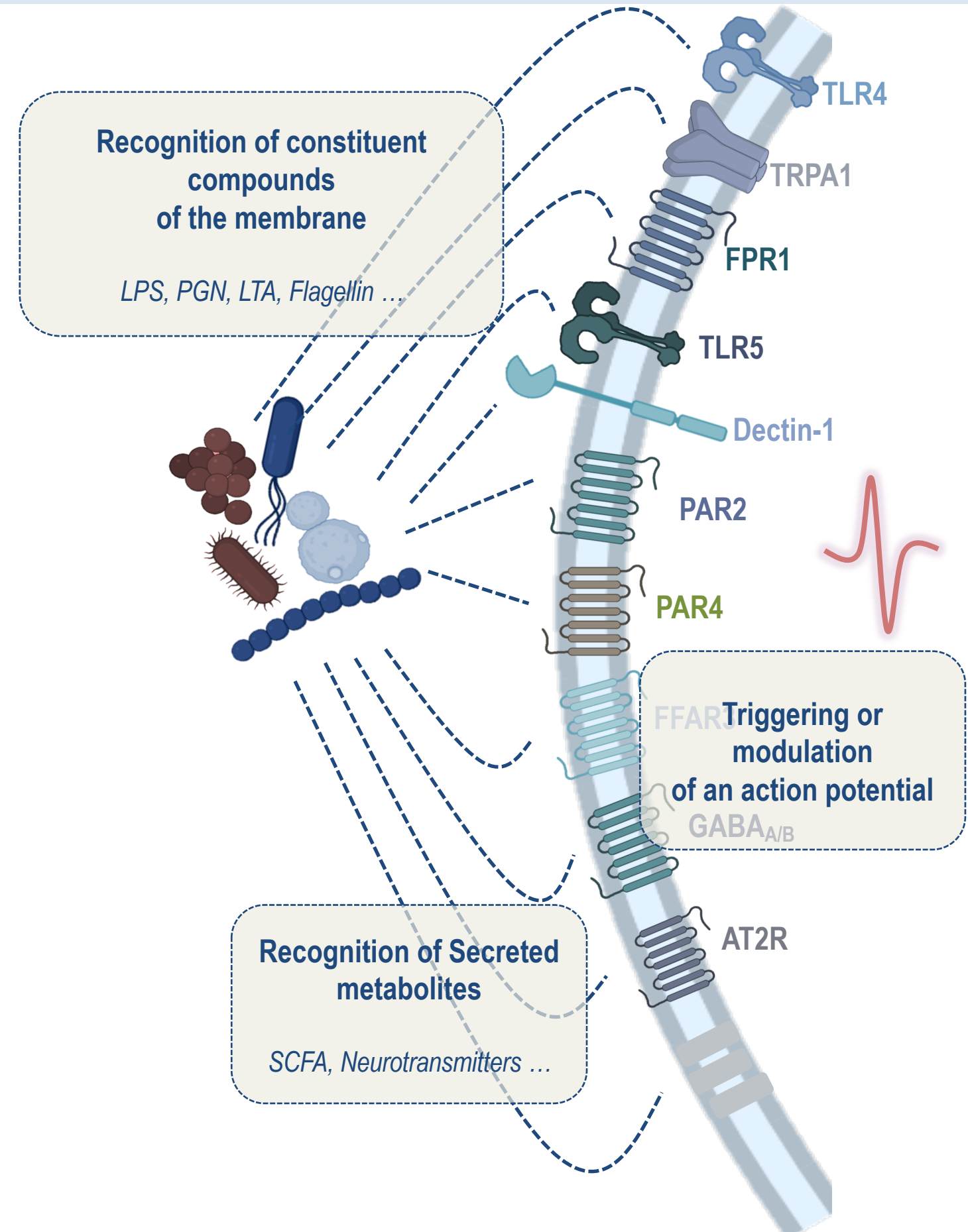
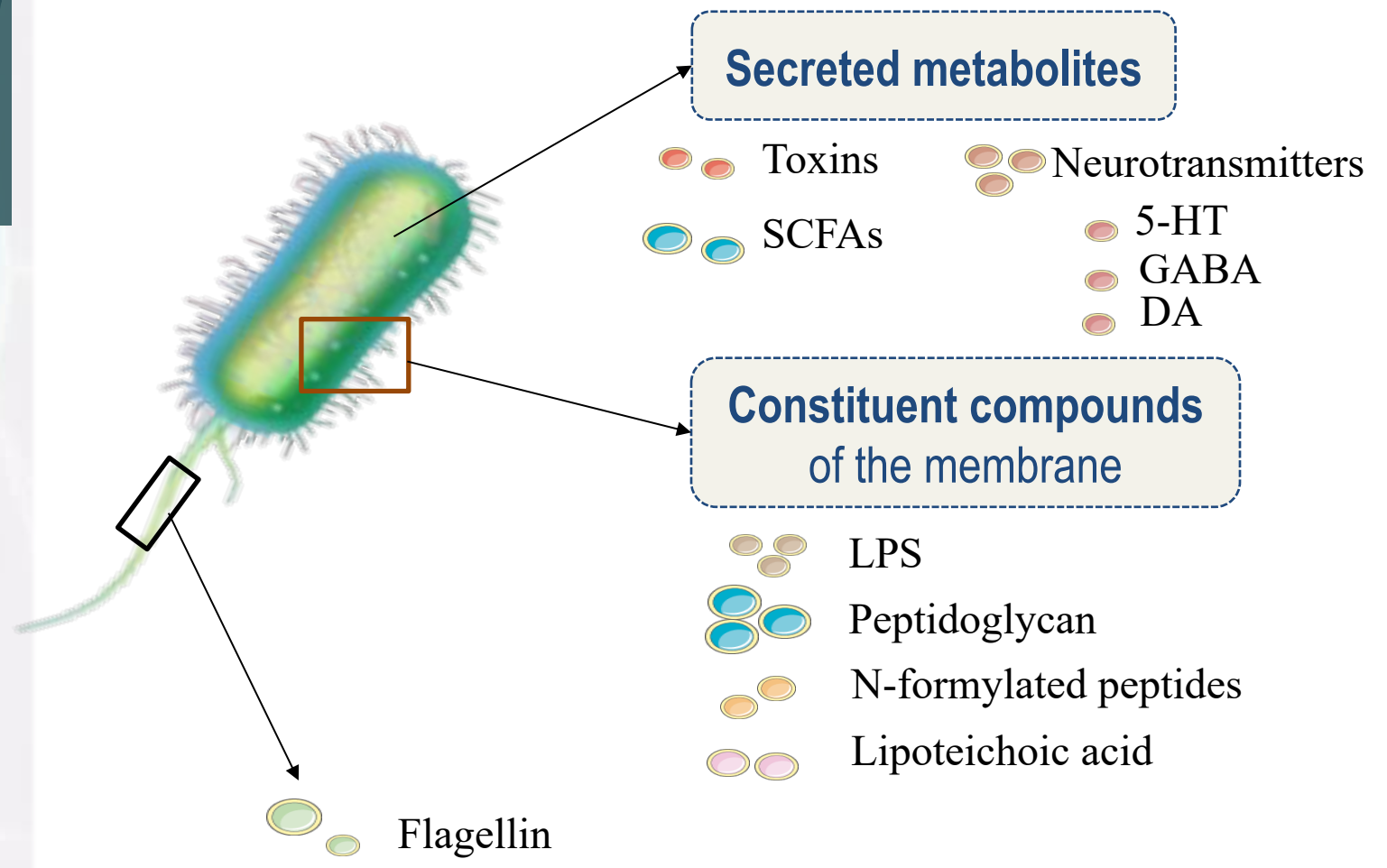
# “Visceral Team”

## Treatments linked to the Microbiota in Chronic Abdominal Pain



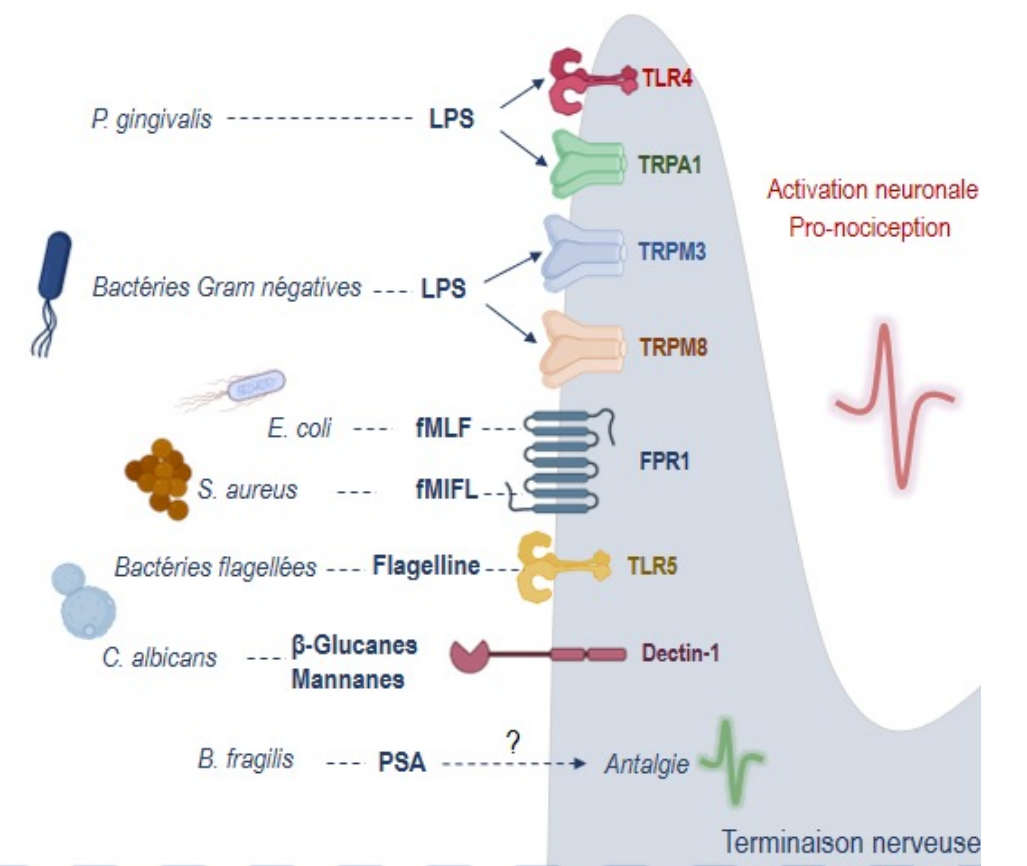
Recognition of microbial patterns or metabolites by cells of the nervous system =

Direct bacteria-neuron interaction: possible





Interaction directe via des motifs constitutifs



Interaction directe via des métabolites sécrétés

