

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^{ème} année de Master Biologie Santé
Neuro-Dol UMR1107/Université Clermont-Auvergne



GFNG
Groupe Français de
Neuro-Gastroentérologie

①

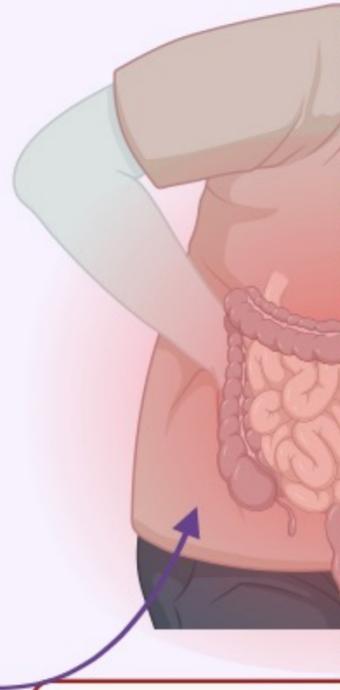
Contexte pathologique

SII et MICI

Syndrome de l'intestin irritable (SII)

Symptômes

- Ballonnements
- Troubles du transit



Syndrome de l'intestin irritable (SII)

Symptômes

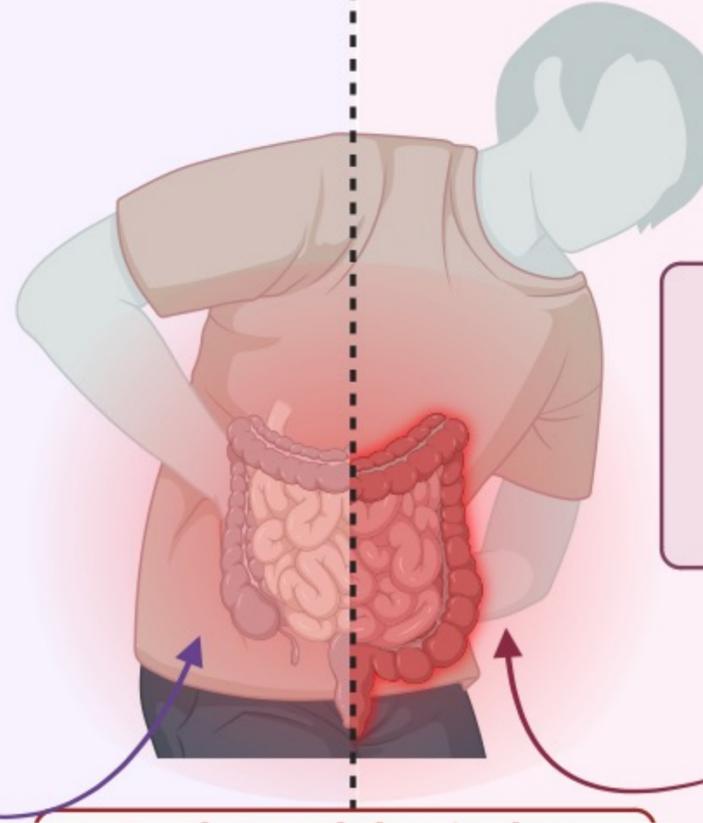
- Ballonnements
- Troubles du transit

Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

Maladie de Crohn
Rectocolite Hémorragique

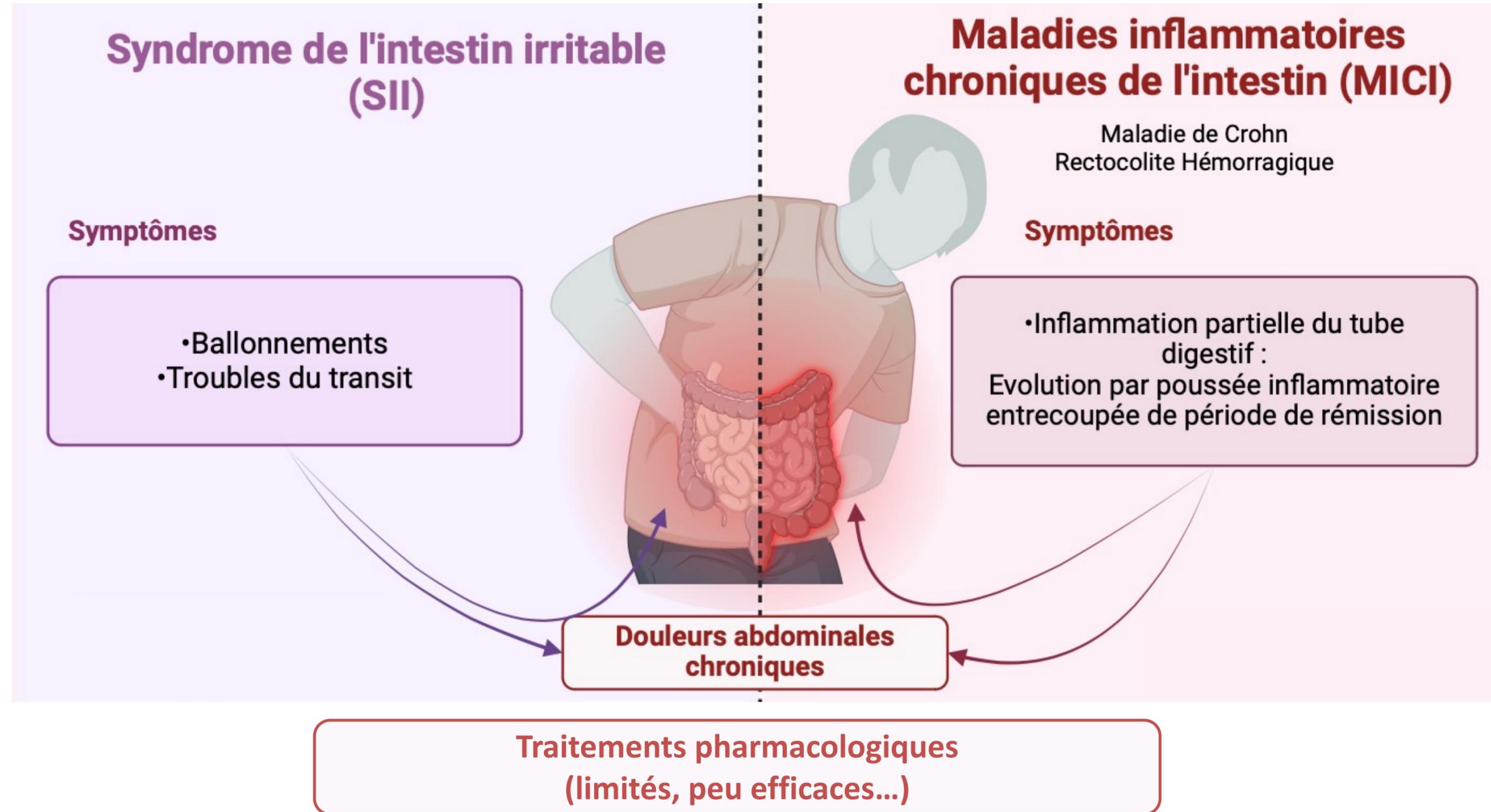
Symptômes

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



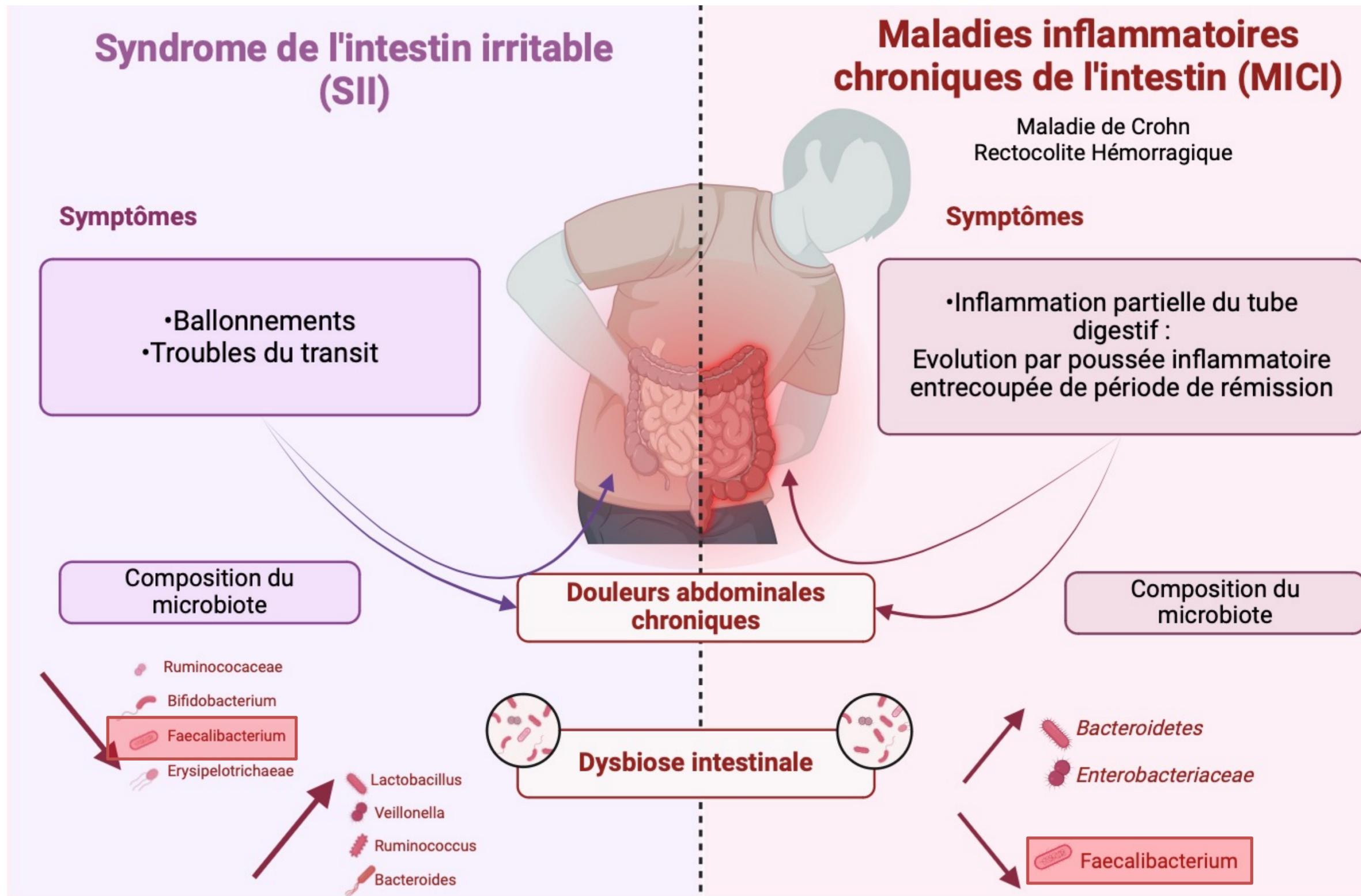
①
Contexte pathologique

SII et MICI



①
Contexte pathologique

SII et MICI

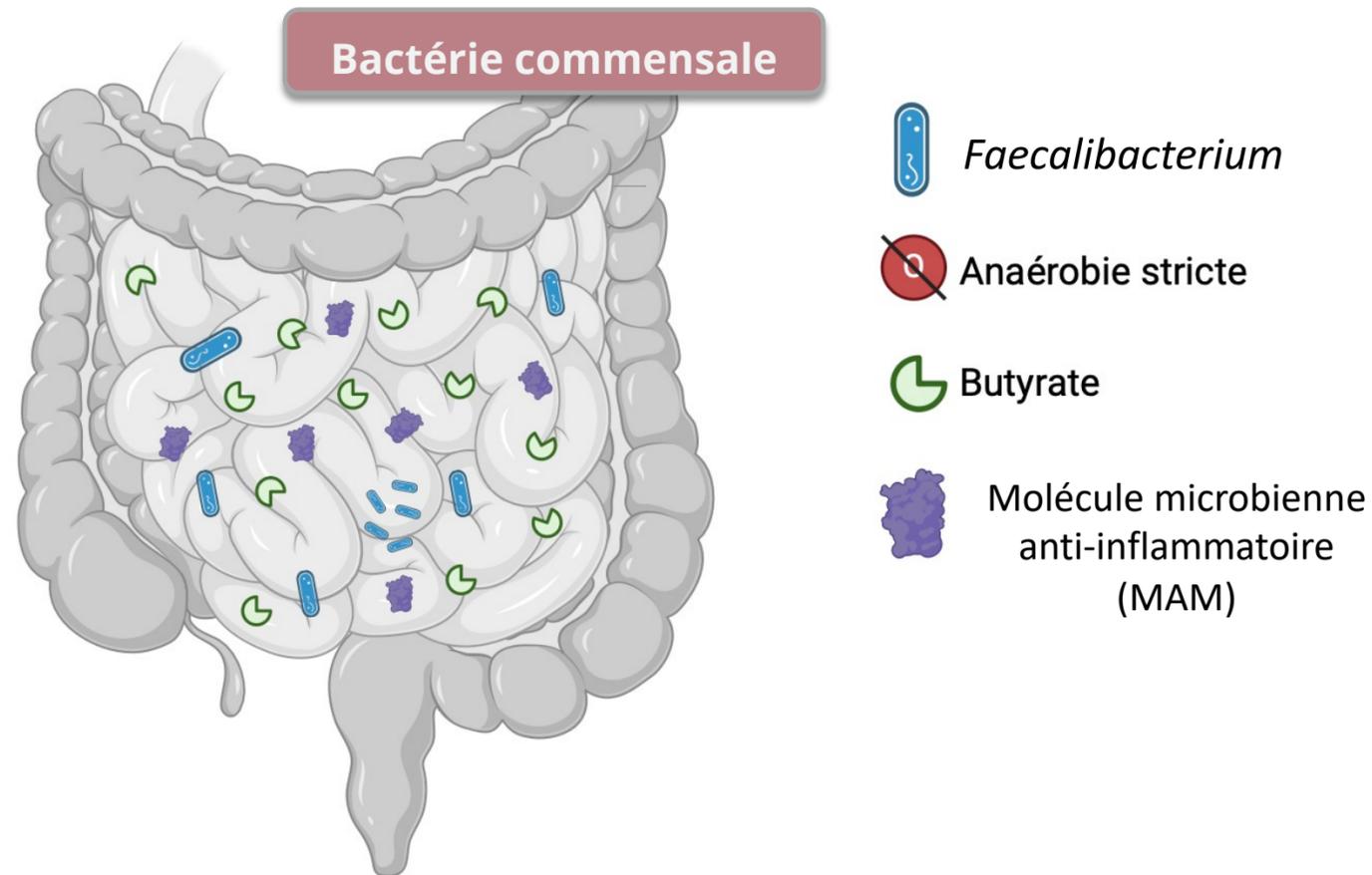


①
Contexte pathologique

SII et MICI

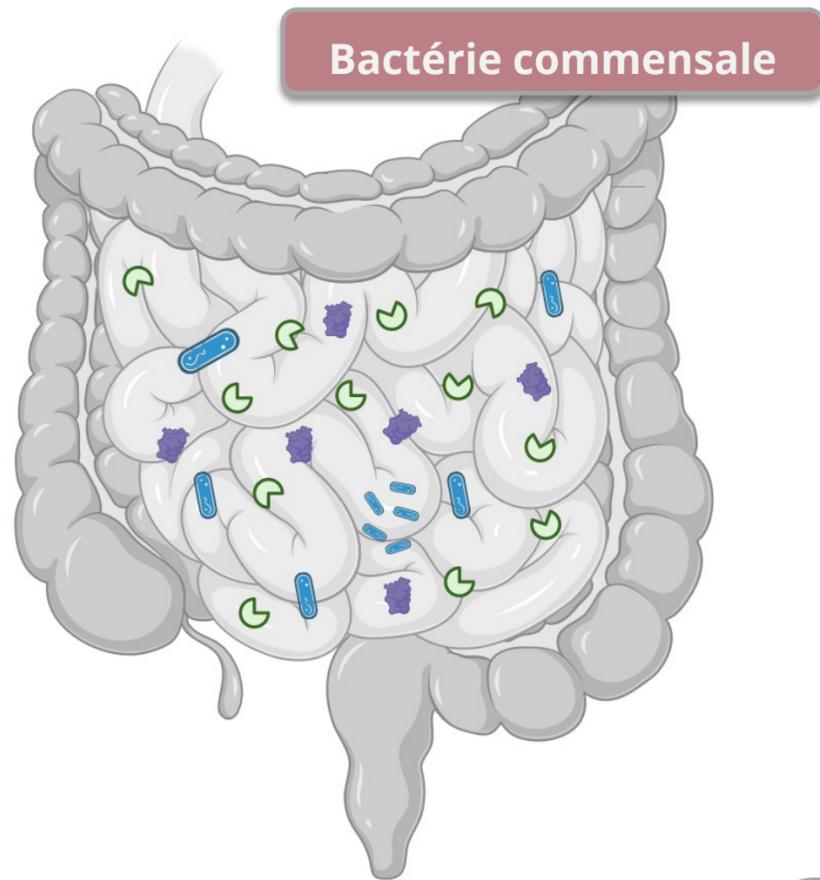
Faecalibacterium

Faecalibacterium - phylogénie

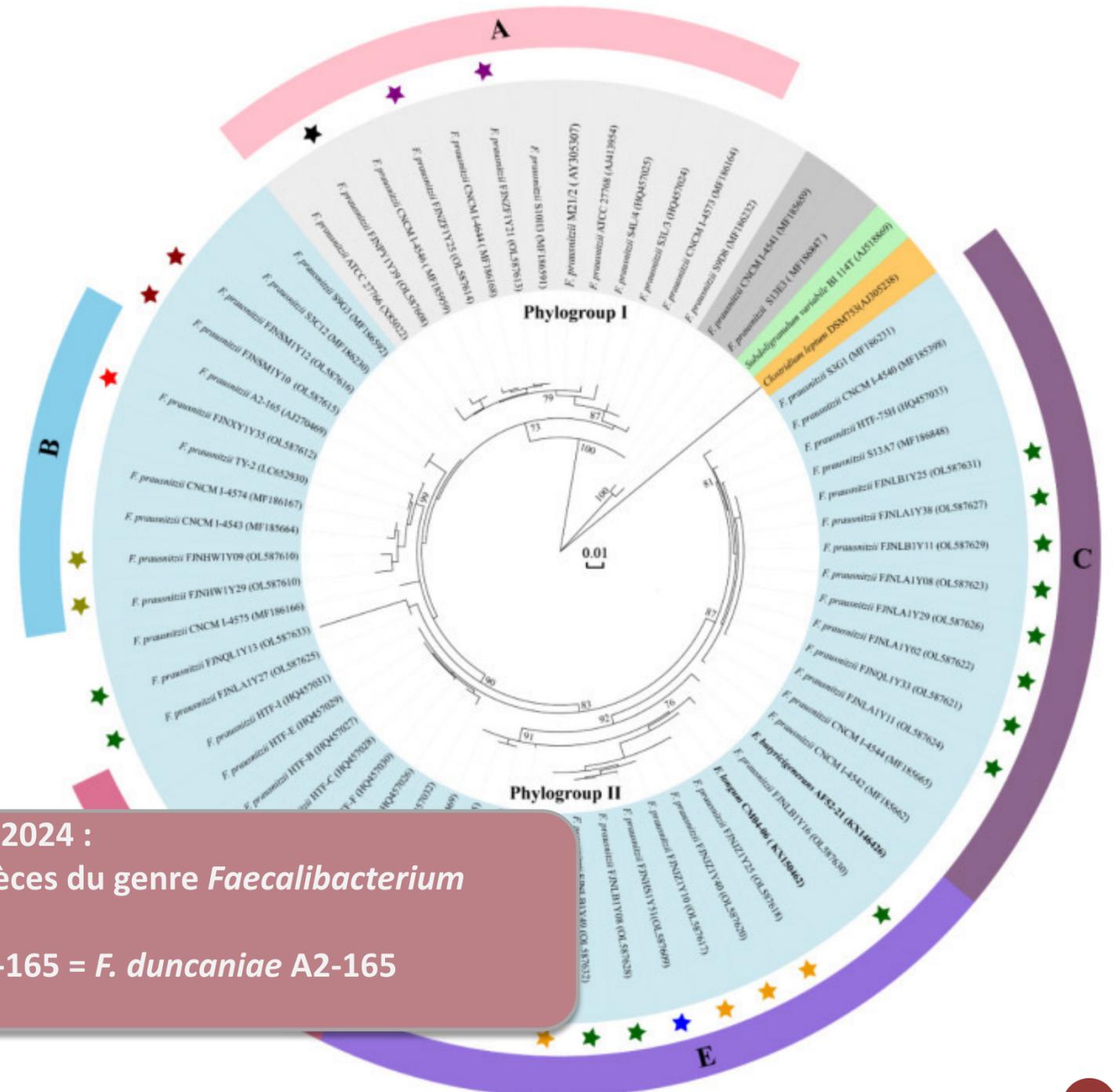


Genre *Faecalibacterium* = très grande diversité phylogénétique

***Faecalibacterium* - phylogénie**



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



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

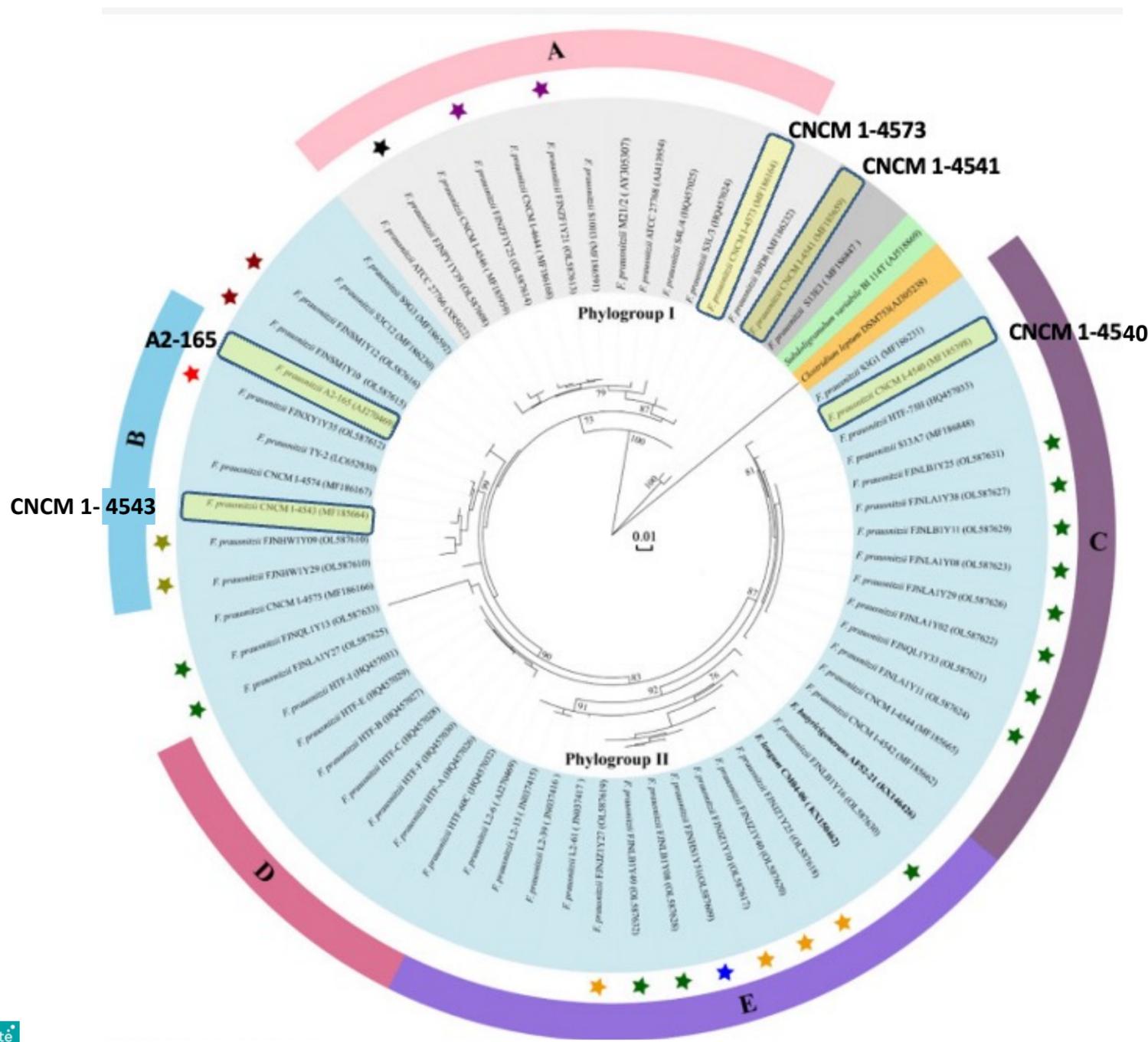
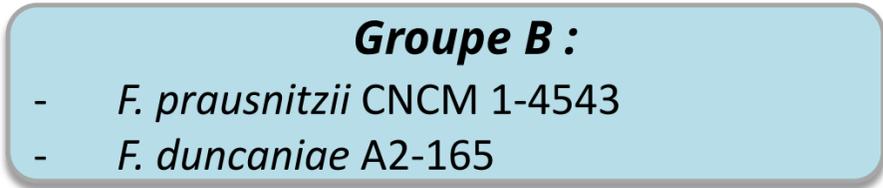
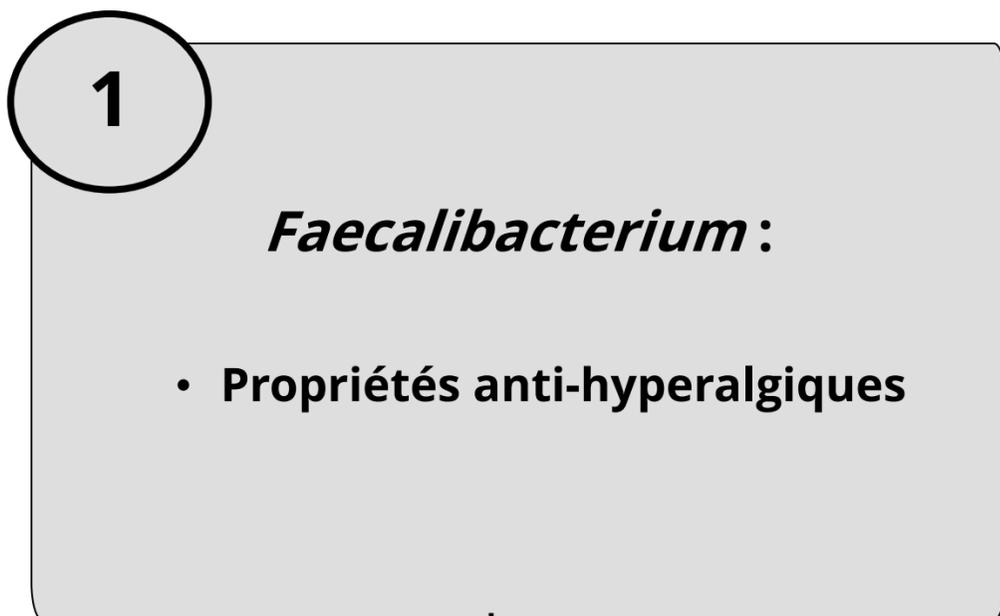
SII et MICI

Faecalibacterium



②
But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques



①

Contexte pathologique

SII et MICI

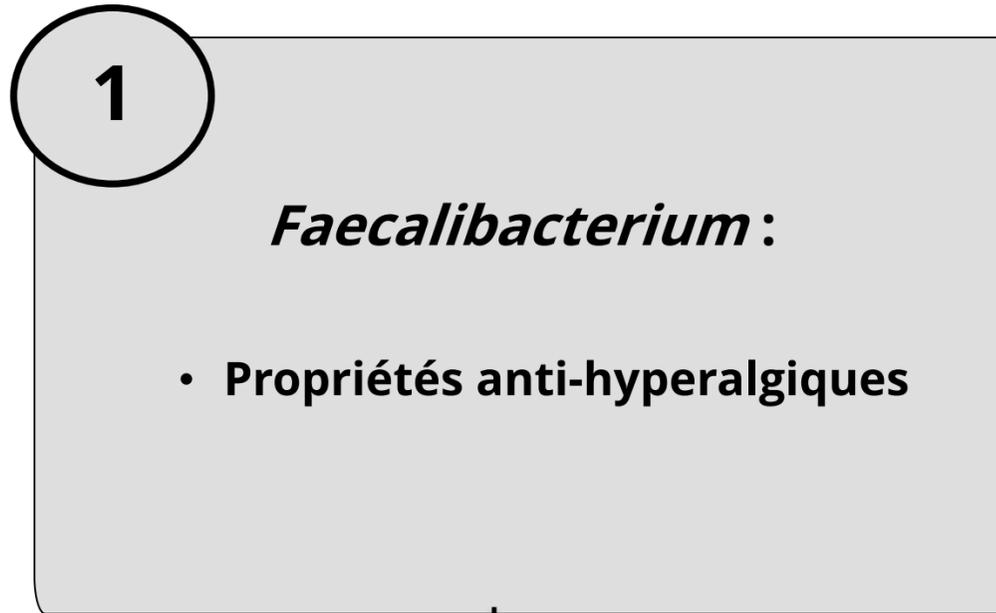
Faecalibacterium



②

But de l'étude

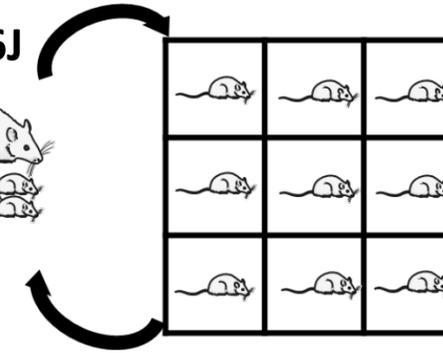
Propriétés anti-hyperalgiques



Modèle de séparation néonatale maternel

Modèle de séparation néonatale maternel

Souris C57Bl/6J



Stress chronique

Séparation 3h/jour
du 2^{ème} au 14^{ème} jour post-natal

①
Contexte
pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium



②

But de l'étude

Propriétés anti-
hyperalgiques

1

***Faecalibacterium* :**

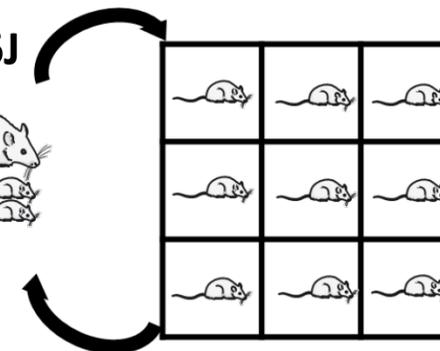
- Propriétés anti-hyperalgiques

Modèle de séparation
néonatale maternel

Modèle d'hypersensibilité
colique

Modèle de séparation néonatale maternel

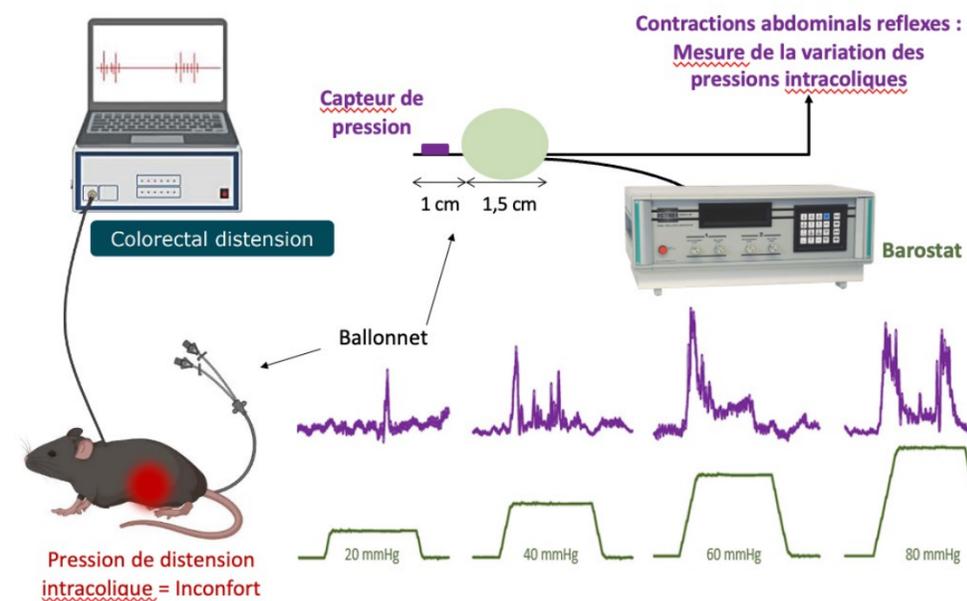
Souris
C57Bl/6J



Stress chronique

Séparation 3h/jour
du 2^{ème} au 14^{ème} jour post-natal

Distension colorectale



①
Contexte pathologique

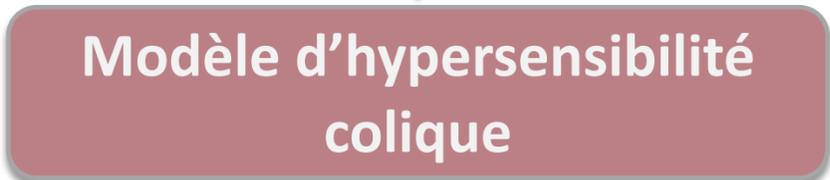
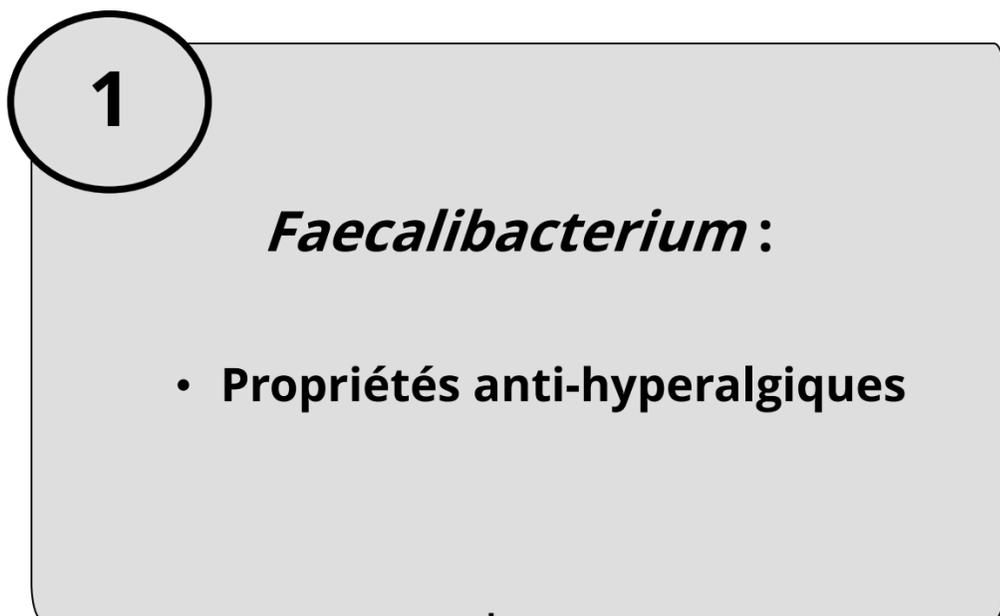
SII et MICI

Faecalibacterium



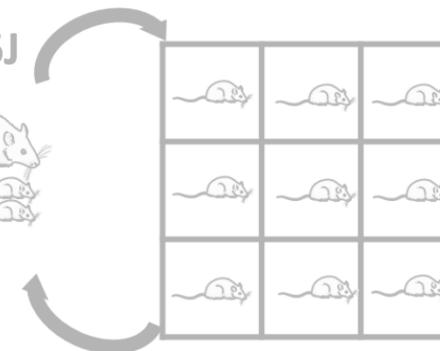
②
But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques



Modèle de séparation néonatale maternel

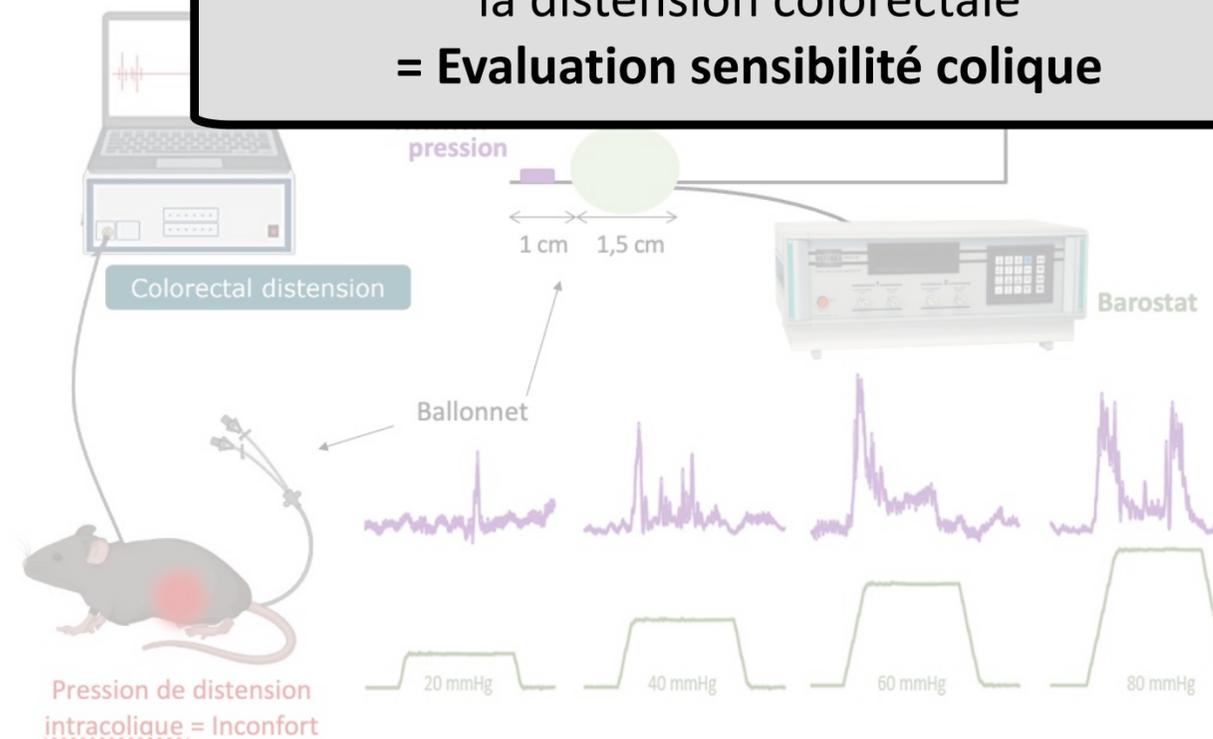
Souris C57Bl/6J



Stress chronique

Séparation 3h/jour du 2^{ème} au 14^{ème} jour post-natal

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



①

Contexte pathologique

SII et MICI

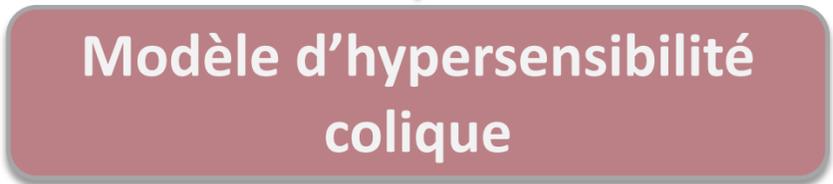
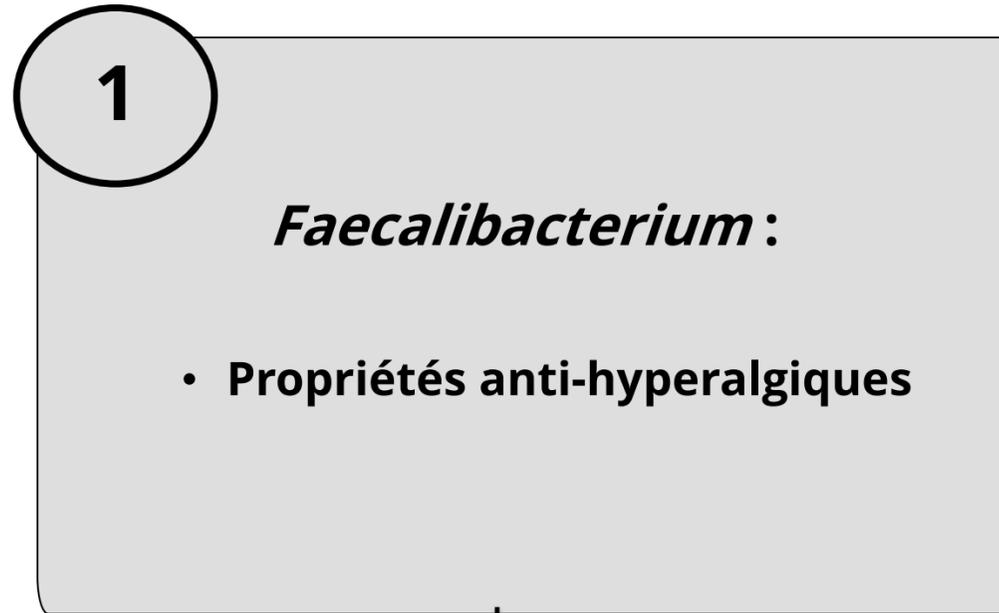
Faecalibacterium



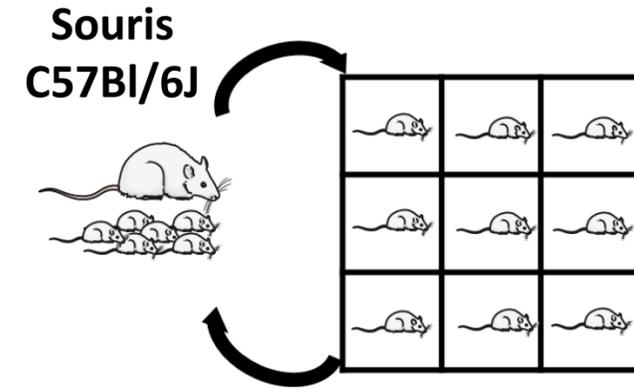
②

But de l'étude

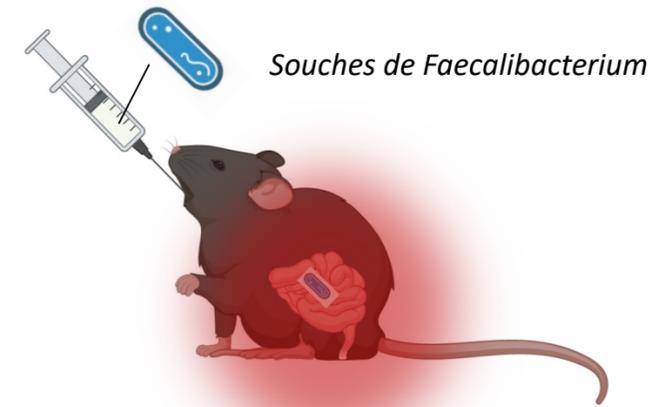
Propriétés anti-hyperalgiques



Modèle de séparation néonatale maternel



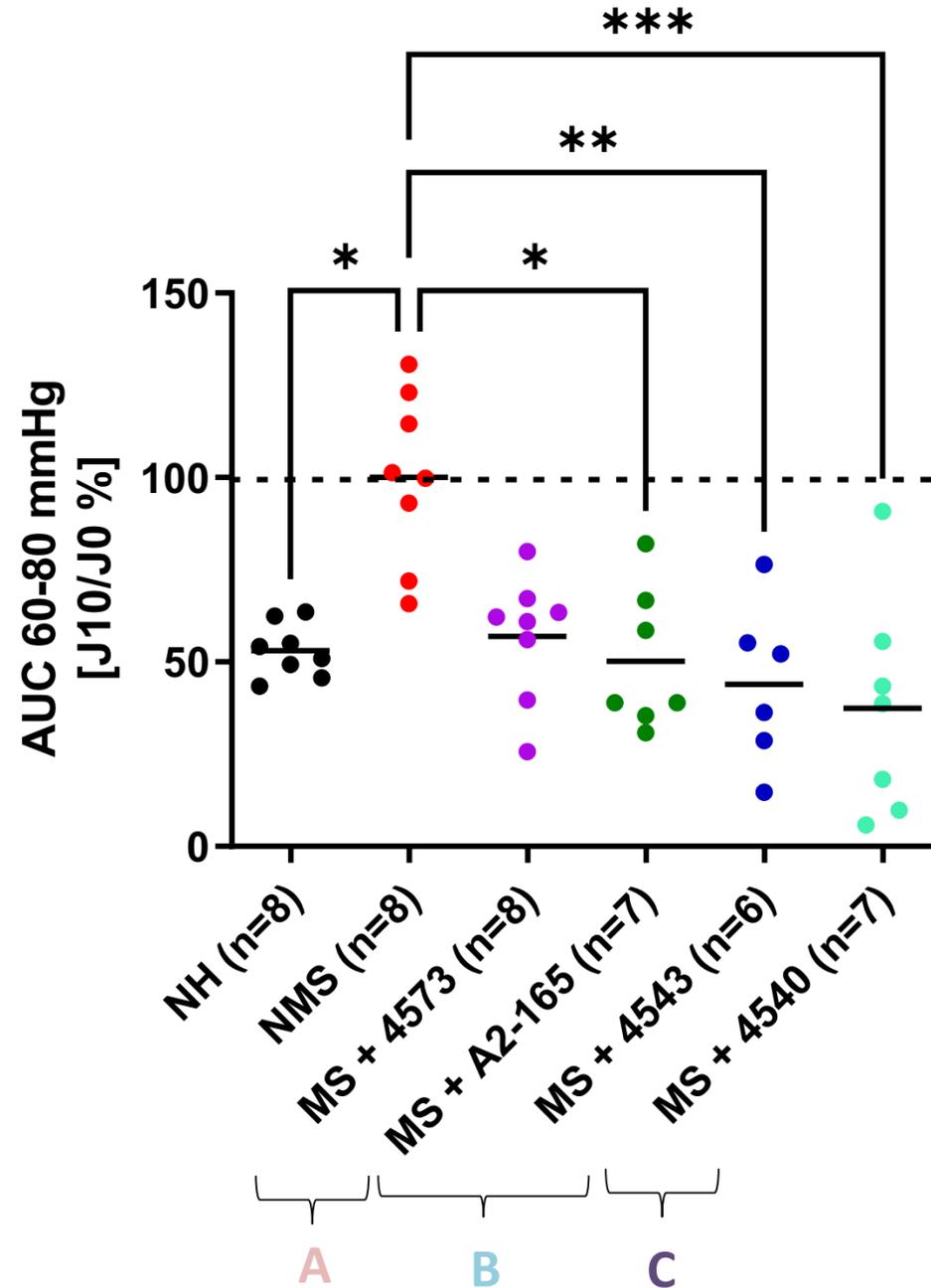
Séparation 3h/jour
du 2^{ème} au 14^{ème} jour post-natal





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

Résultats



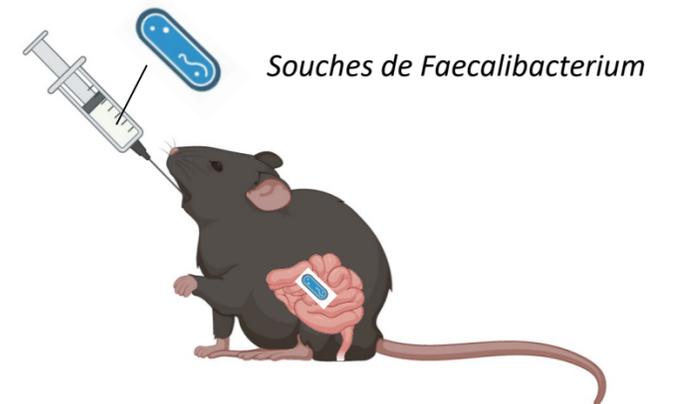
+

Sensibilité colique

-

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

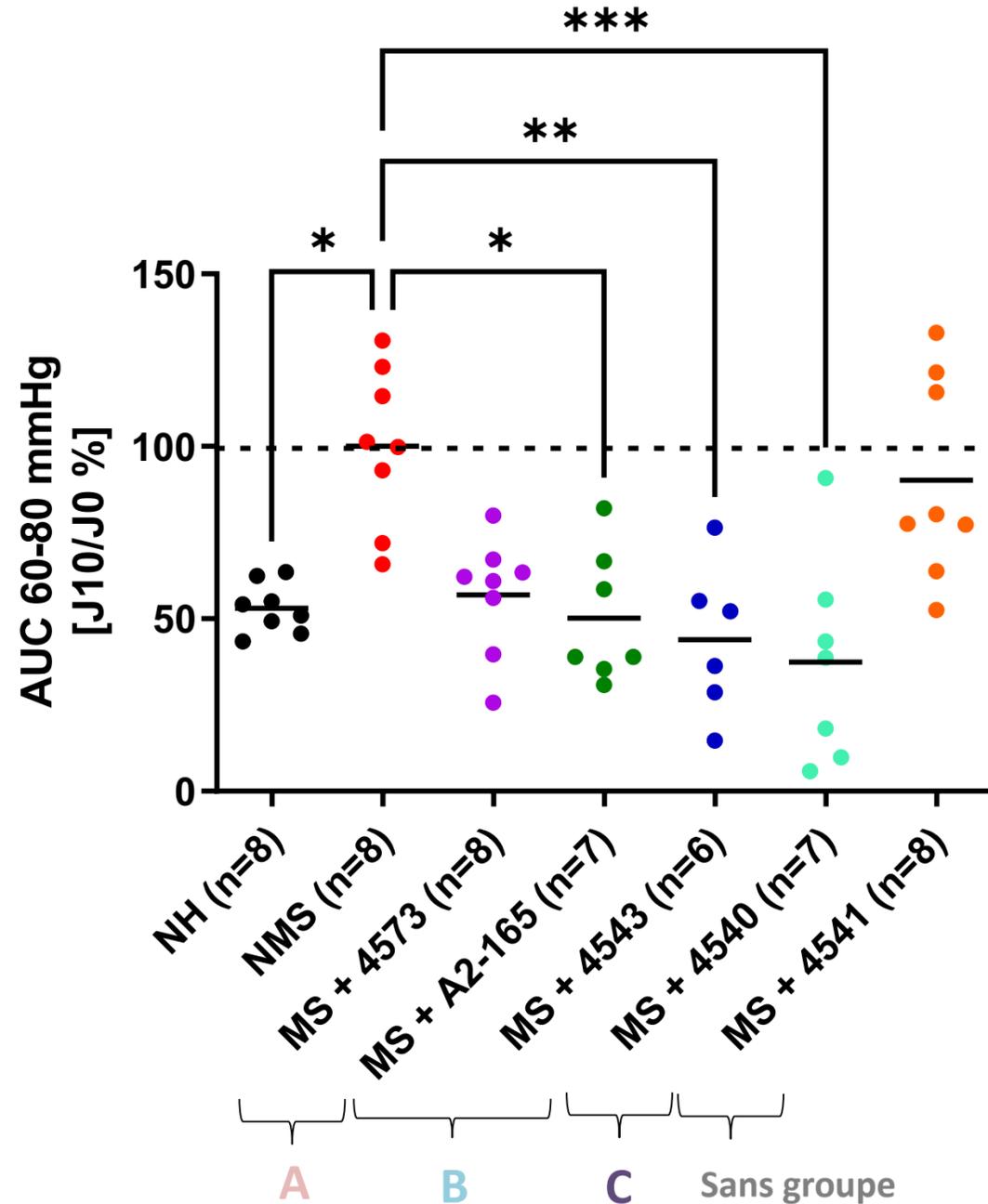
= propriétés **anti-hyperalgiques *in vivo***





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

Résultats



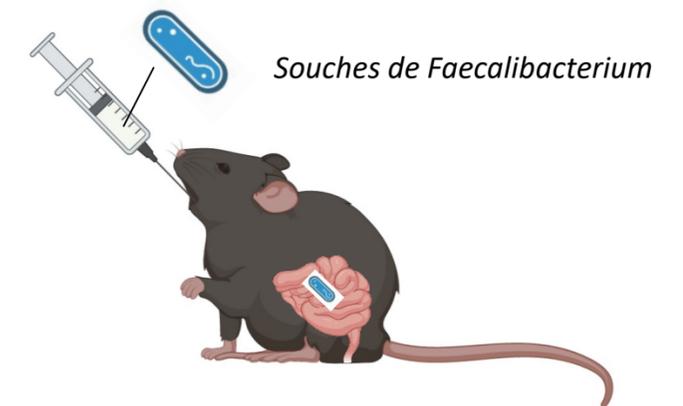
+

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 ?

① Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium



② But de l'étude

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 :

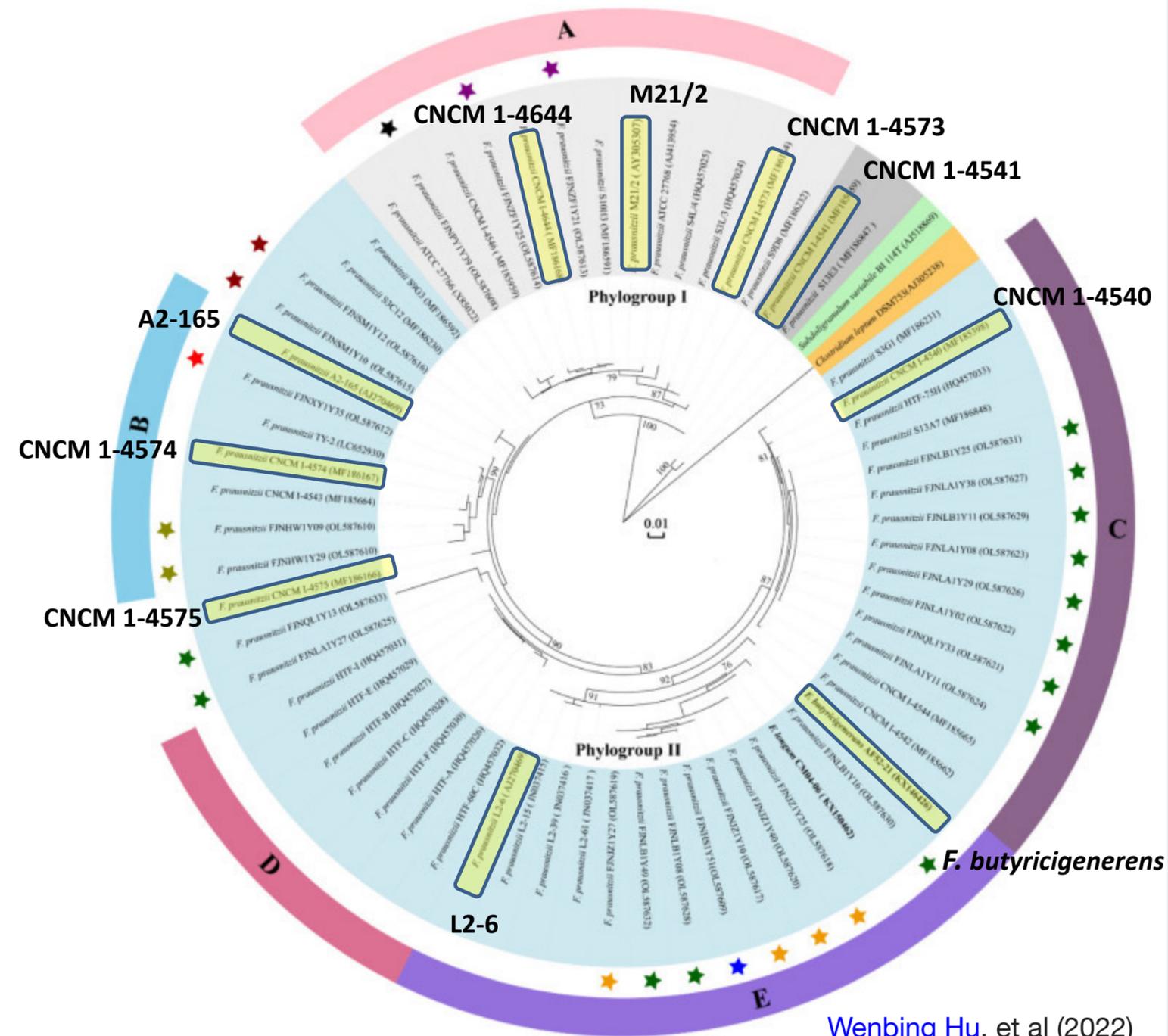
- *F. prausnitzii* CNCM 1-4540

Groupe E :

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

Sans groupe

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



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. butyricigenens*
- *F. prausnitzii* L2-6

Sans groupe

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

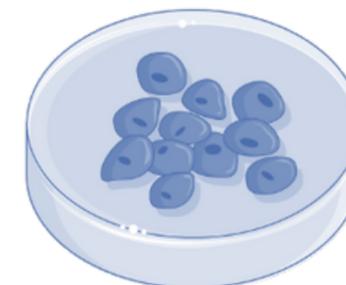
Objectif

Identifier les différentes souches bactériennes qui portent les activités neuromodulatrices

Imagerie calcique à haut débit

ND7/23

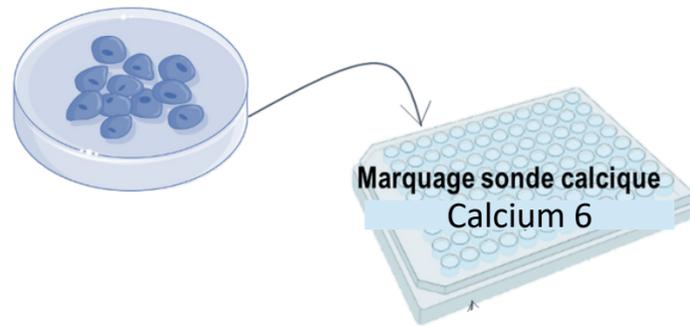
Lignée neuronale immortalisée





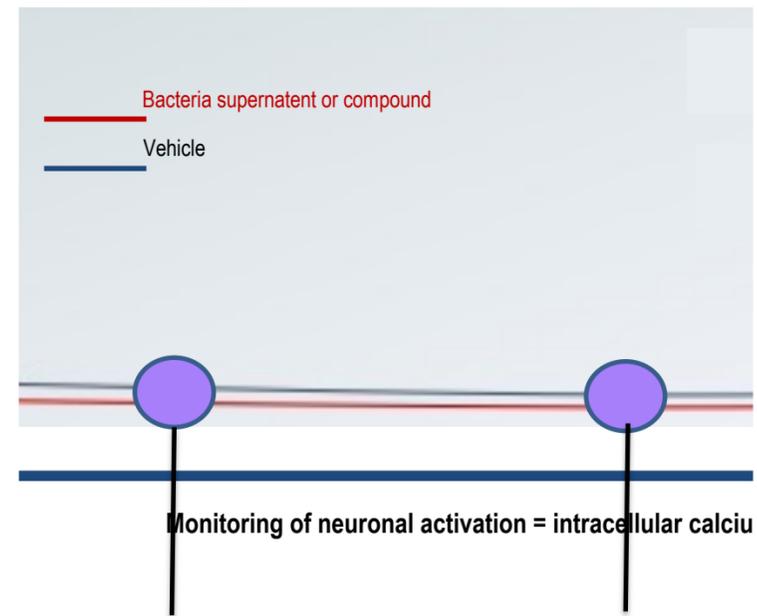
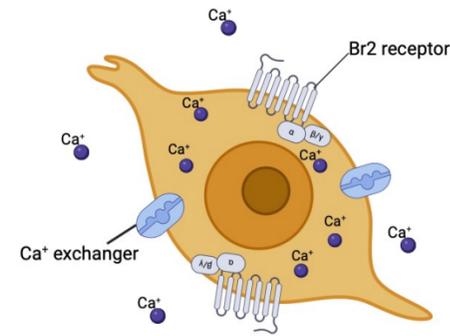
Imagerie calcique à haut débit

ND7/23
Lignée neuronale immortalisée



Fractions bactérienne :

- Fractions solubles
- Fractions insolubles
- Surnageant de culture



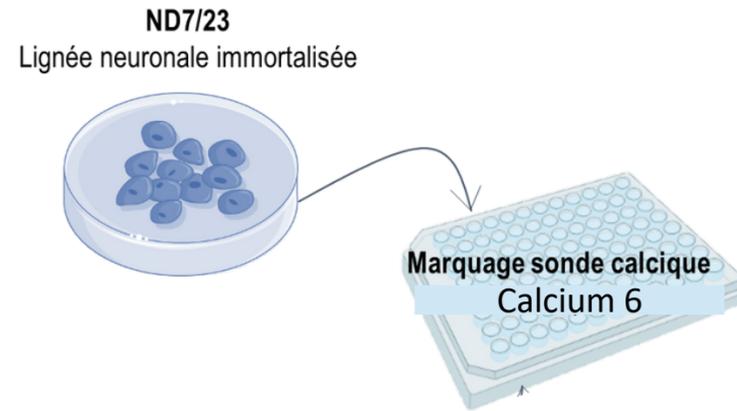
Ajout de la sonde calcique

Ajout des fractions bactériennes

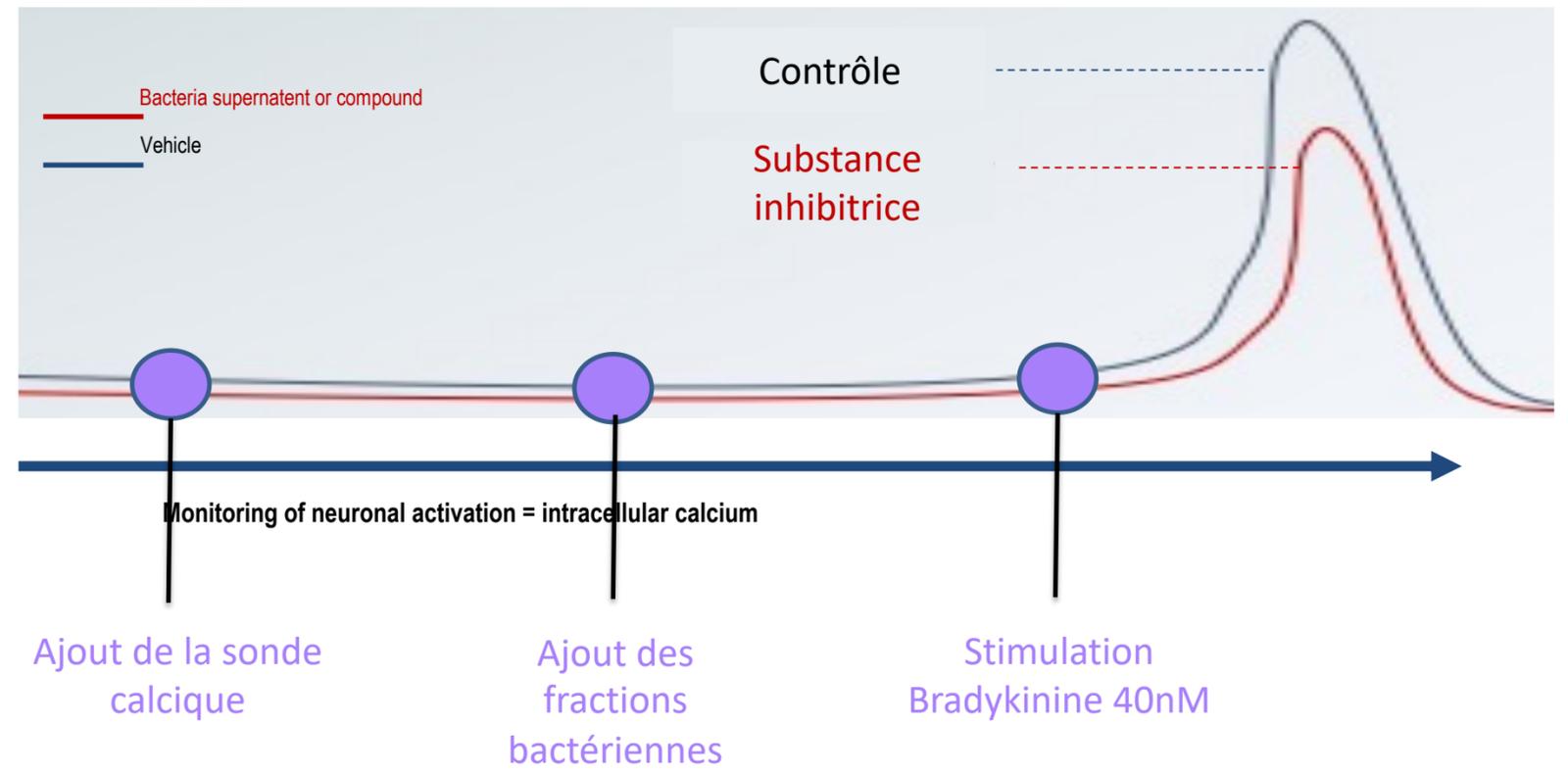


But de l'étude : *Faecalibacterium* et propriétés neuromodulatrices

Imagerie calcique à haut débit



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

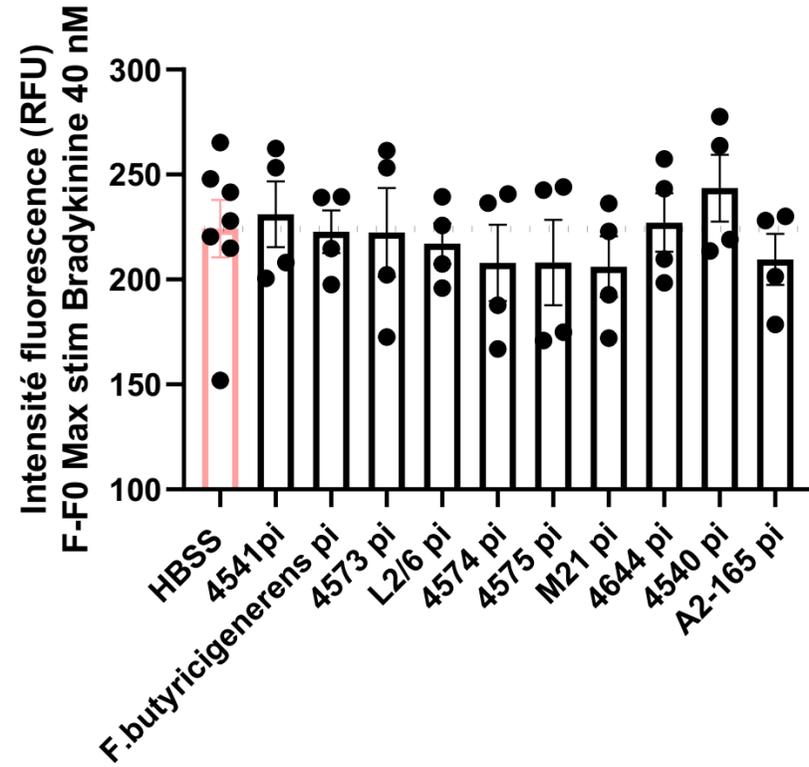


+
Activité neuronale

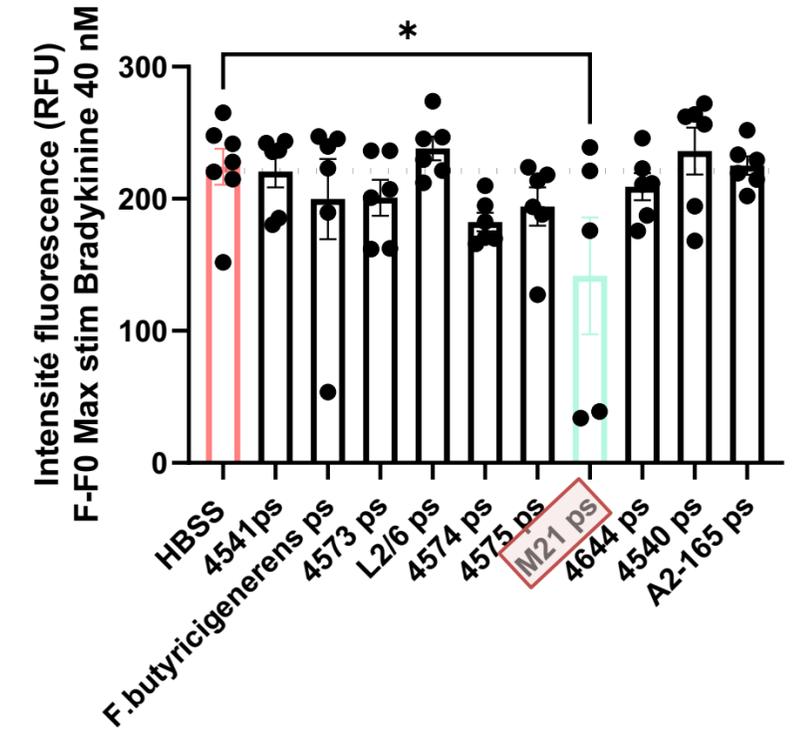


Résultats

Protéines insolubles



Protéines solubles



+

Activation neuronale

①

Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium



②

But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques

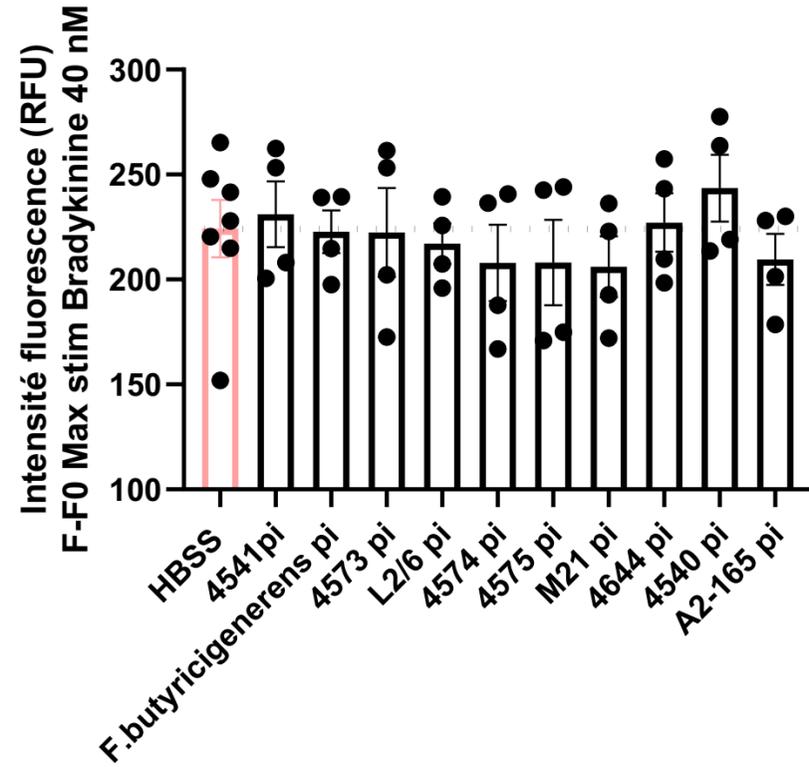
Propriétés neuromodulatrices

Résultats

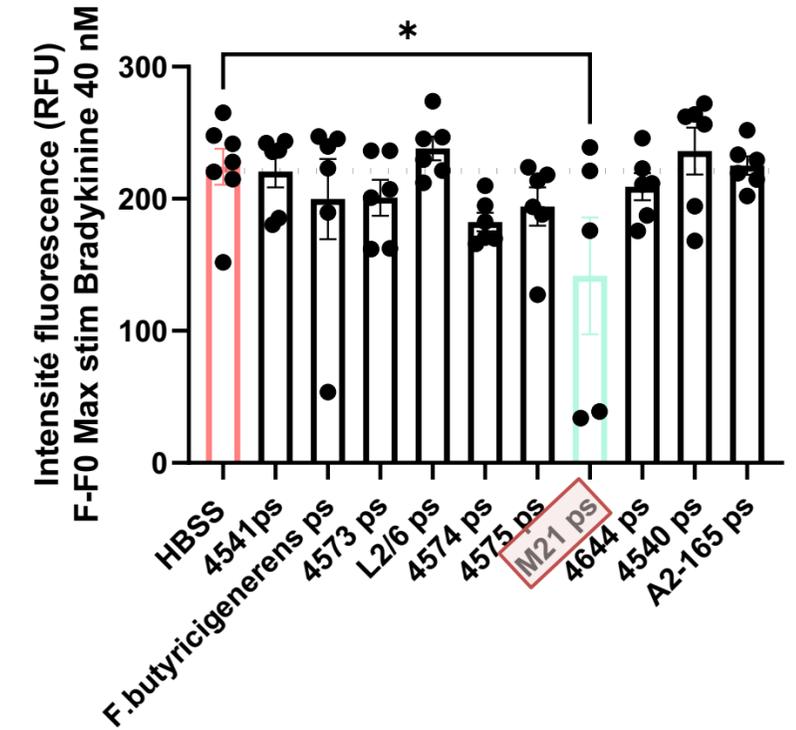


Résultats

Protéines insolubles



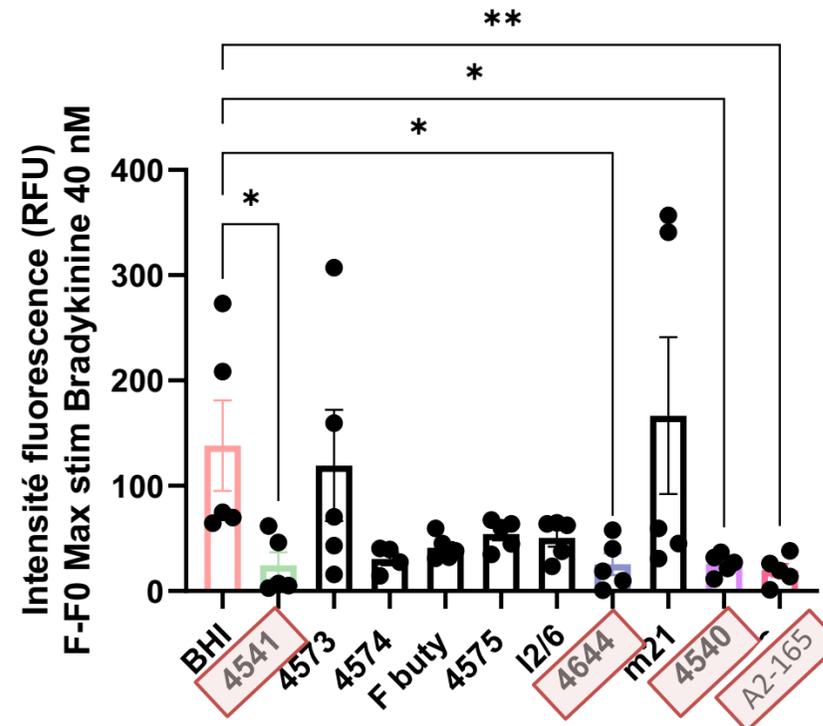
Protéines solubles



+

Activation neuronale

Surnageant de culture



①

Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium

②

But de l'étude

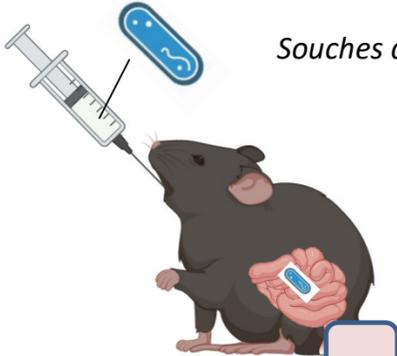
Propriétés anti-hyperalgiques

Propriétés neuromodulatrices

Résultats

③

Conclusion



Souches de Faecalibacterium

	Souches	Bactérie vivante
A	4573	✓
	4644	
	M21	
B	4574	✓
	A2-165	✓
C	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

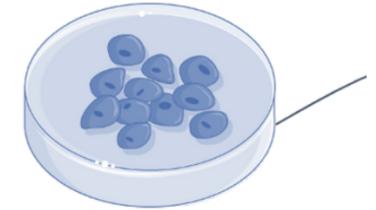
③ Conclusion



Souches de Faecalibacterium

Propriétés anti-hyperalgiques : Propriétés neuromodulatrices :

ND7/23
Lignée neuronale immortalisée



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

① Contexte pathologique

SII et MICI

Faecalibacterium

② But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques

Propriétés neuromodulatrices

Résultats

③ Conclusion



A

B

C

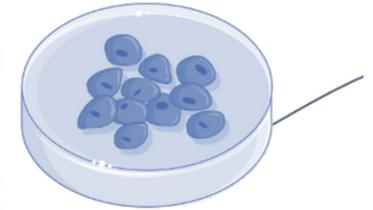
E

Aucun

Propriétés anti-hyperalgiques :

Propriétés neuromodulatrices :

ND7/23
Lignée neuronale immortalisée



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

① Contexte pathologique

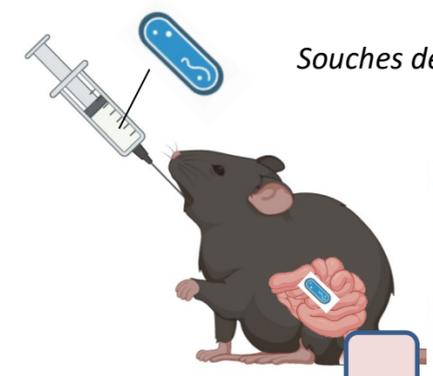
SII et MICI
Faecalibacterium

② But de l'étude

Propriétés anti-hyperalgiques
Propriétés neuromodulatrices

Résultats

③ Conclusion

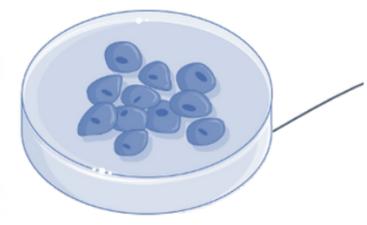


Souches de Faecalibacterium

Propriétés anti-hyperalgiques :

Propriétés neuromodulatrice :

ND7/23
Lignée neuronale immortalisée



	Souches	Propriétés neuromodulatrice :			
		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

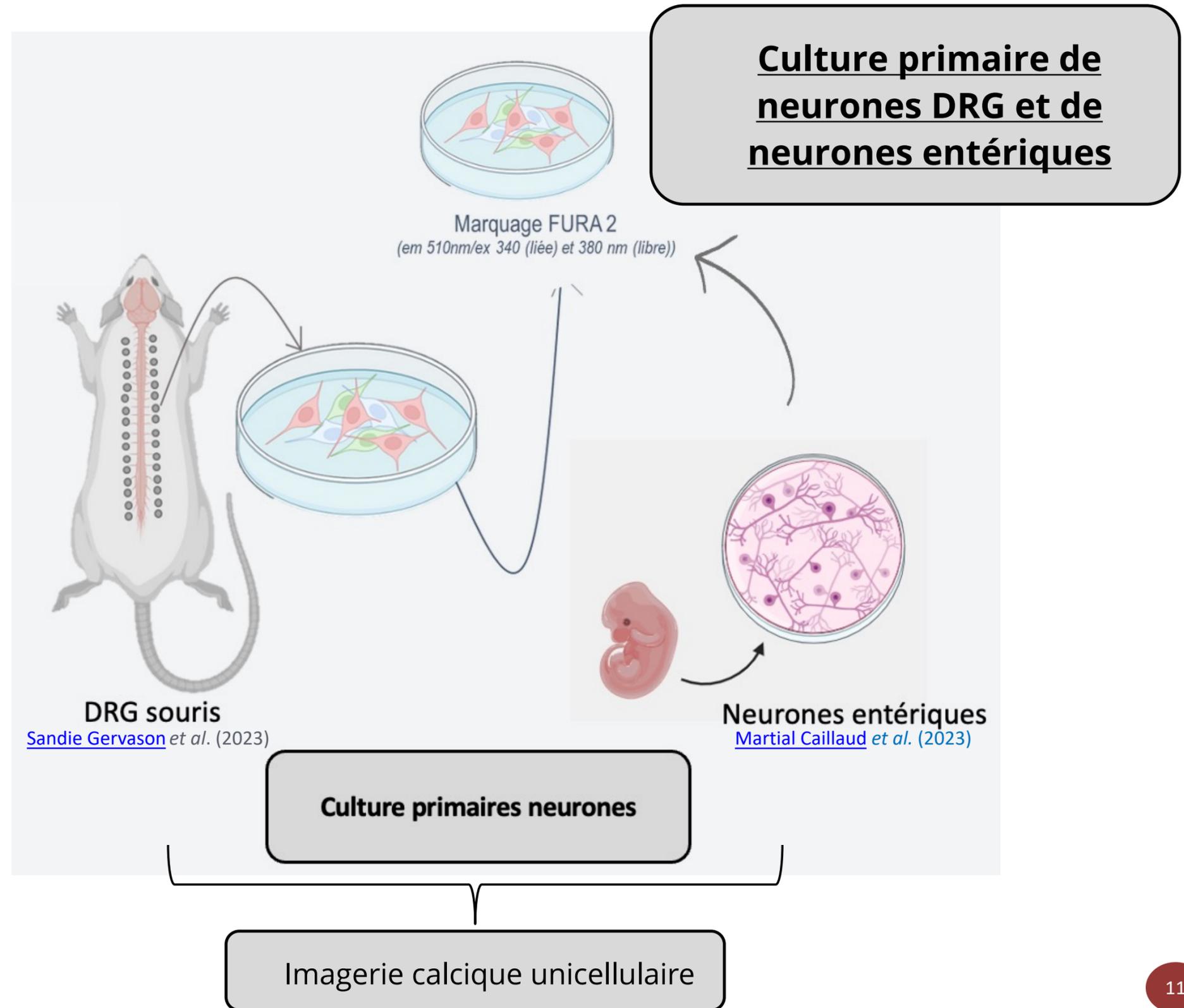
④

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



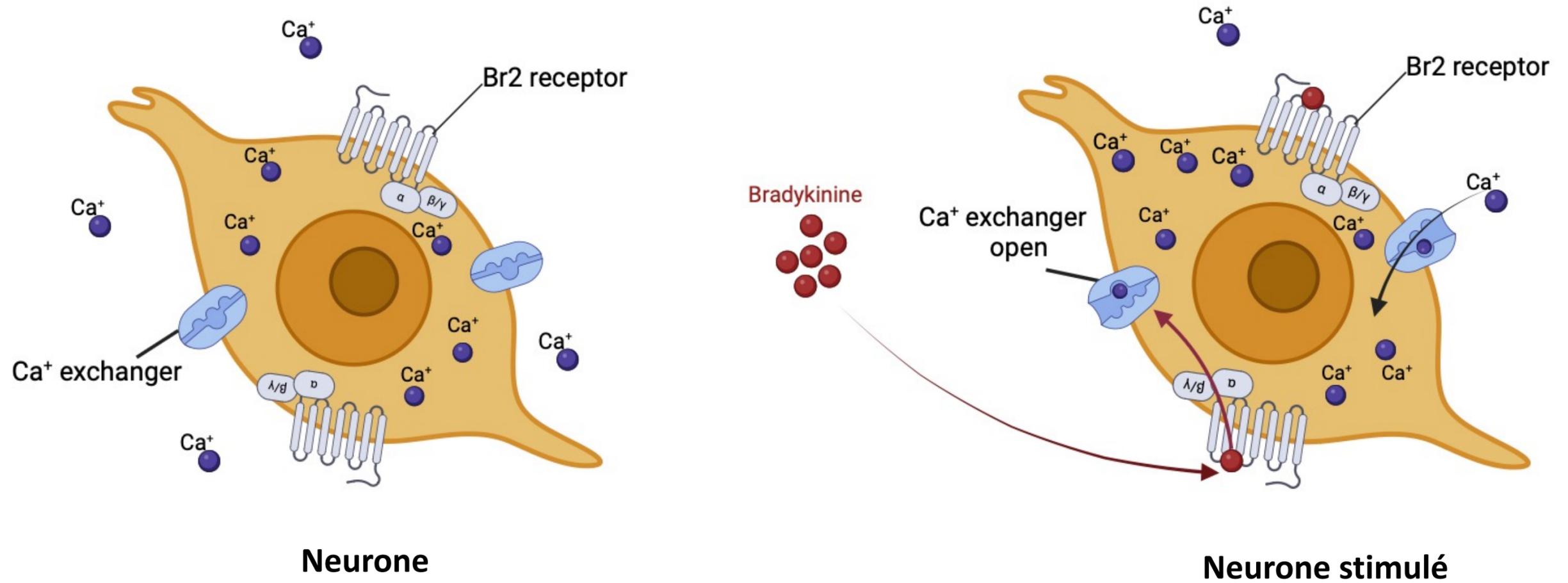
GFNG
Groupe Français de
Neuro-Gastroentérologie



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

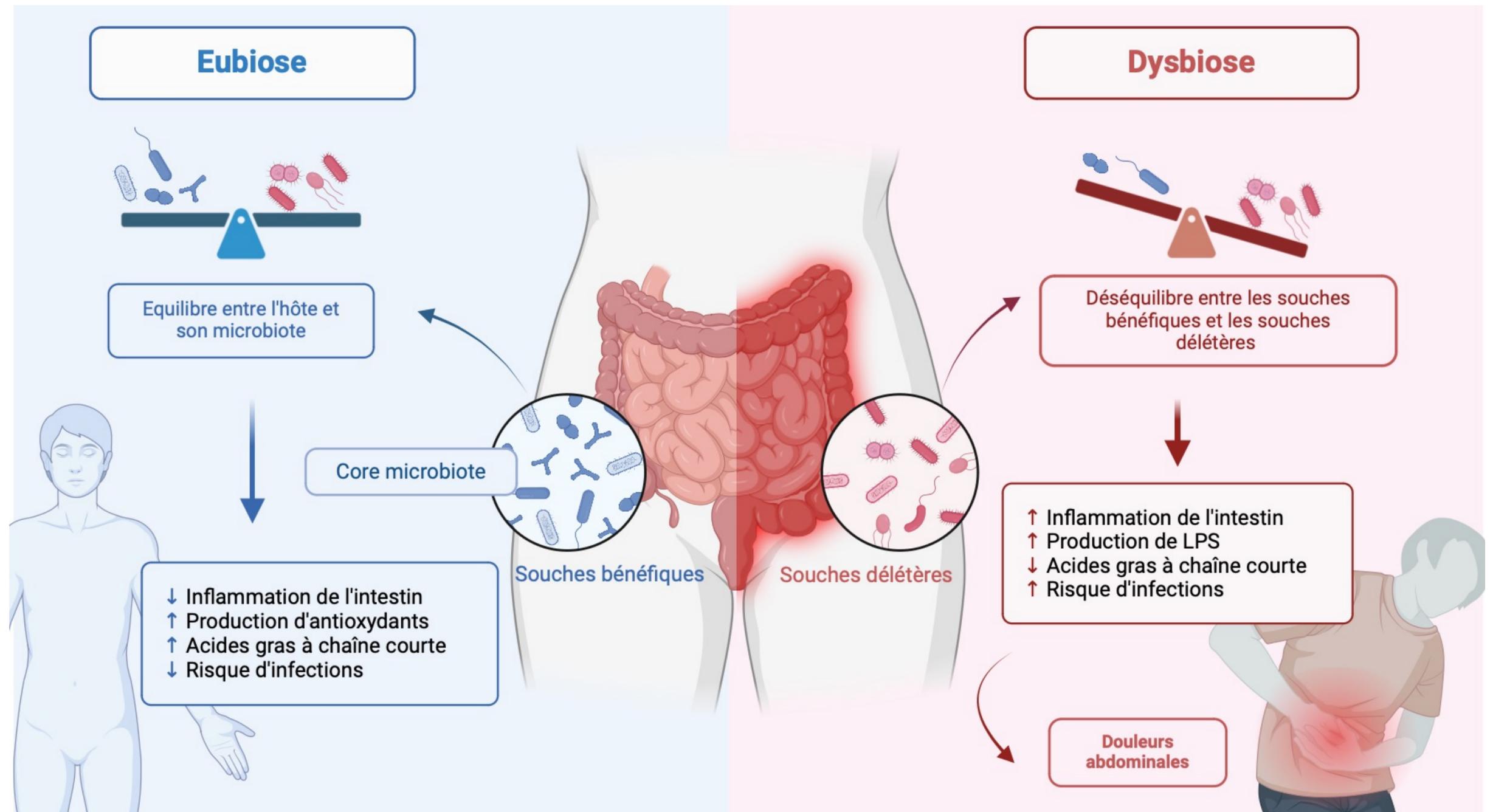
Imagerie calcique à haut débit

Etude *in vitro* neuronale

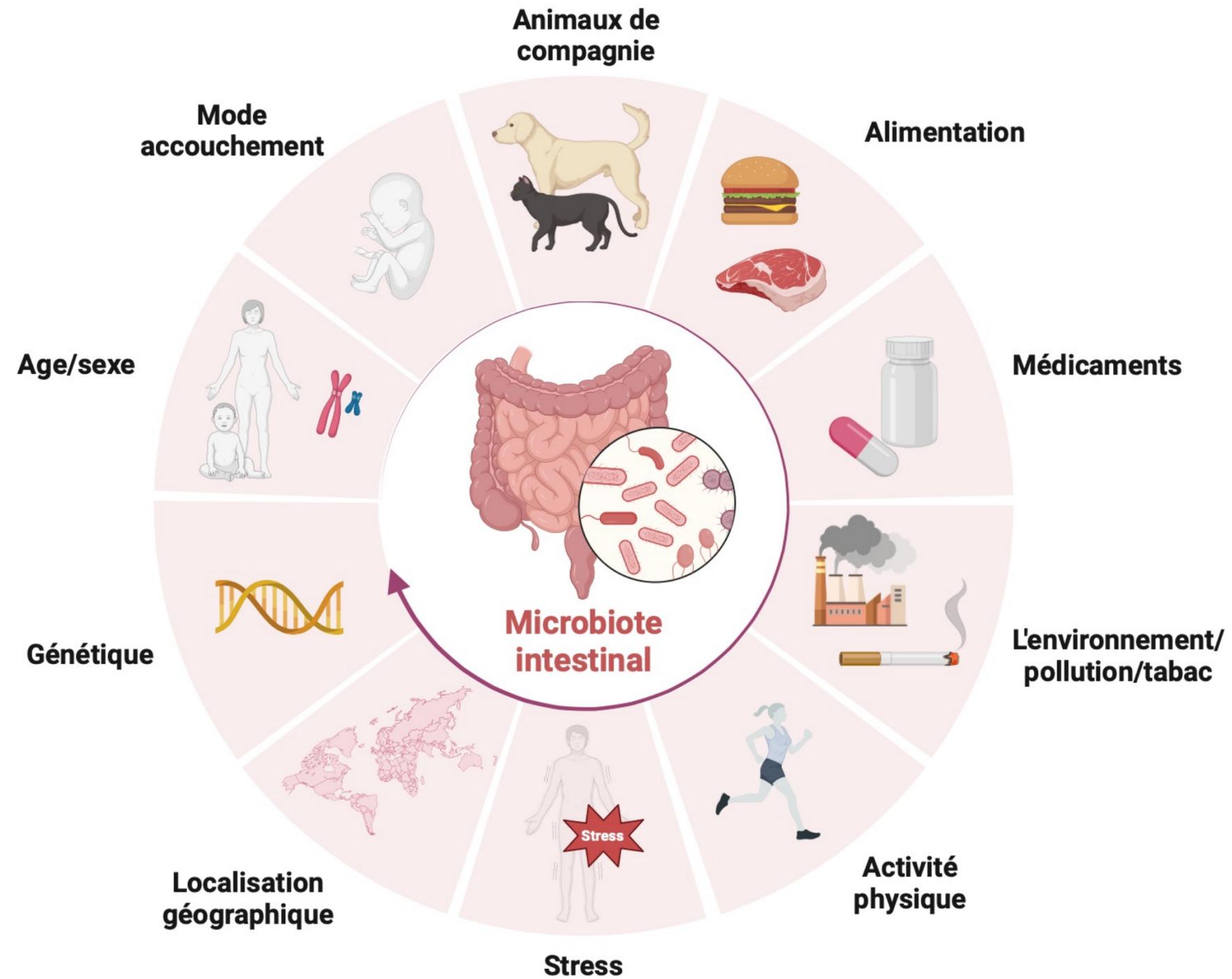


Représentation de l'activité neuronale

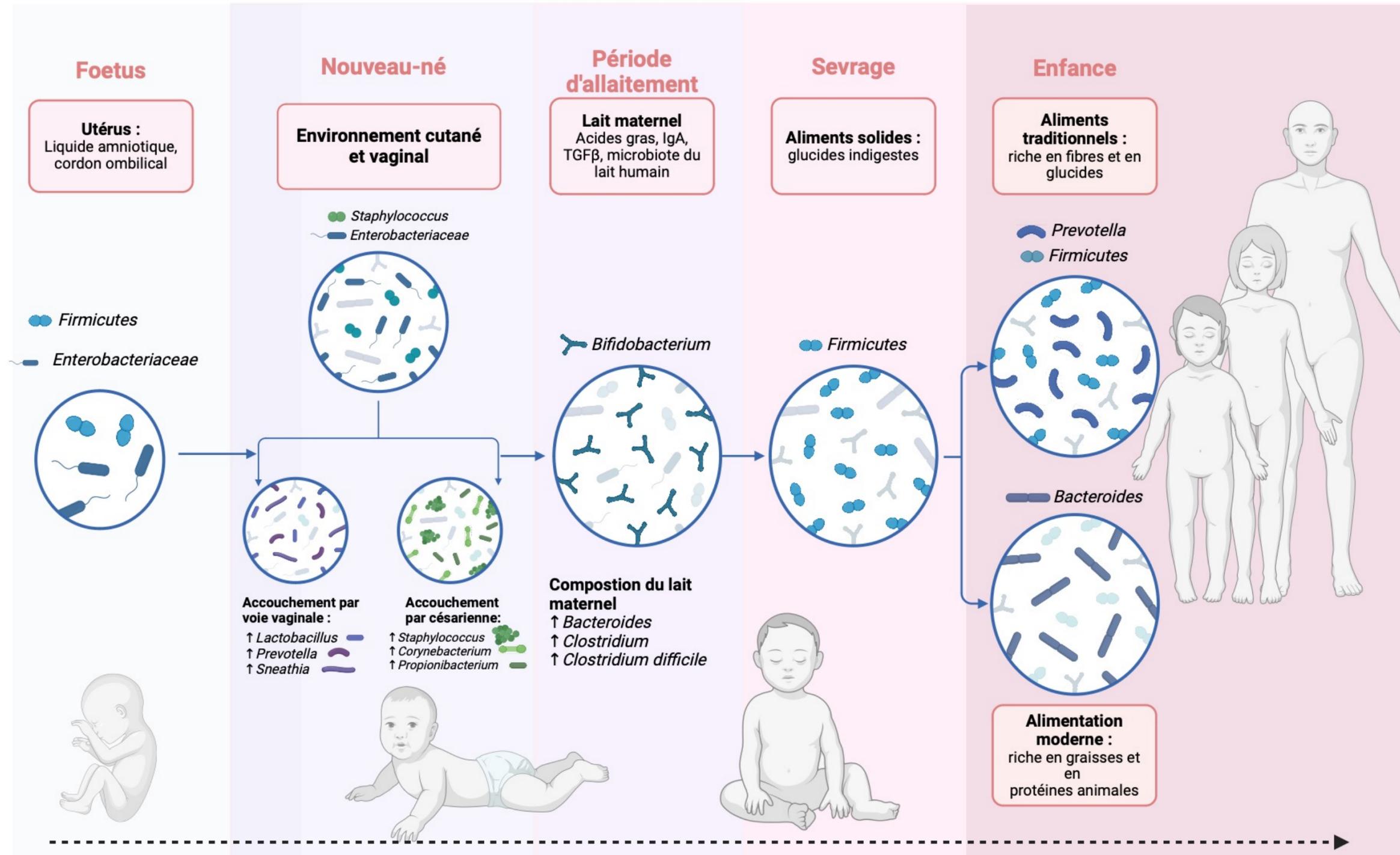
Eubiose et dysbiose



Facteurs influençant le microbiote

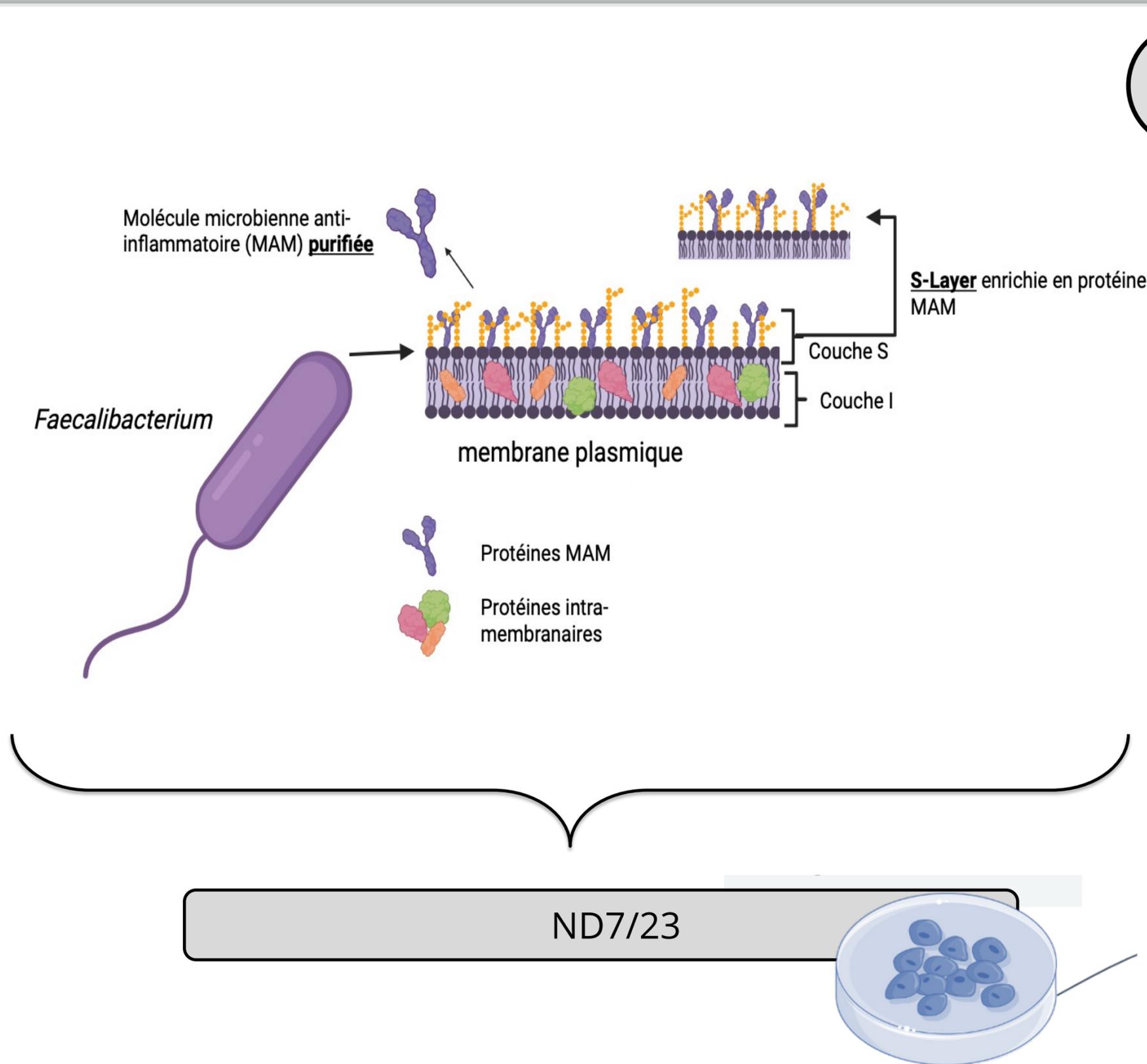


Facteur de la naissance





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

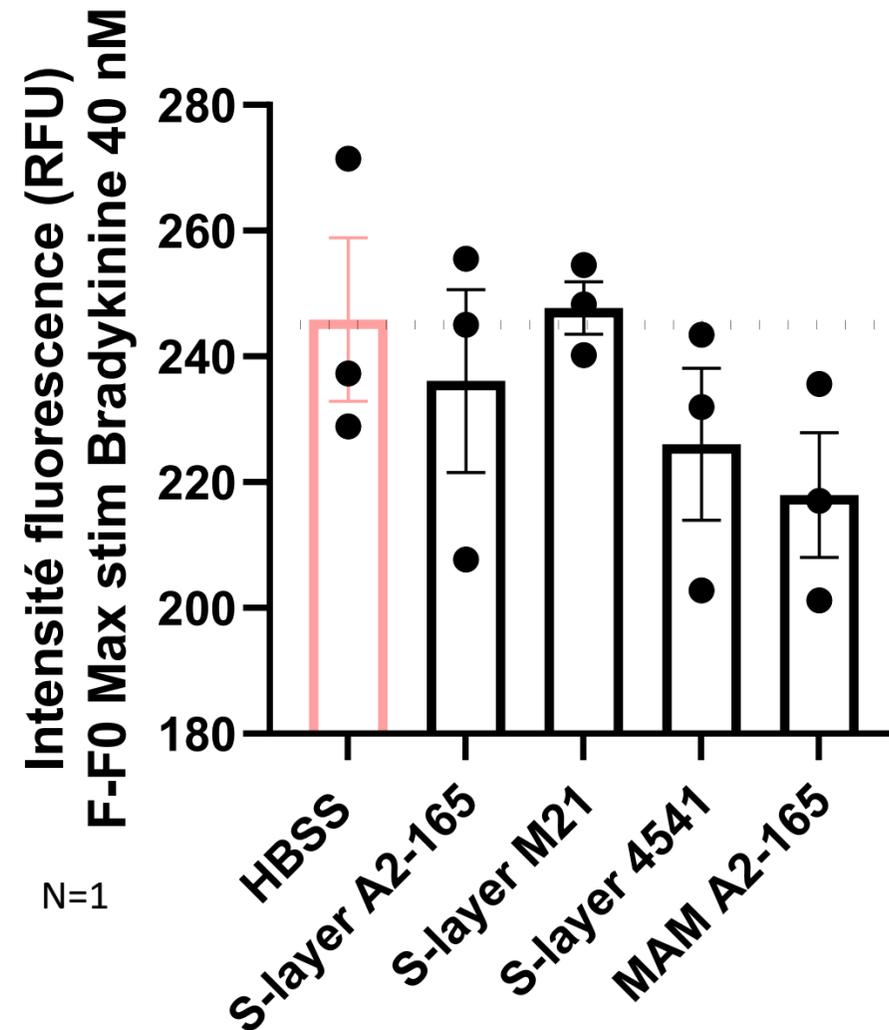
Propriétés neuromodulatrices-Souches

Protéines MAM

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

Résultats

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



2

Protéine MAM :

- Propriétés neuromodulatrices ?

Différentes fractions :

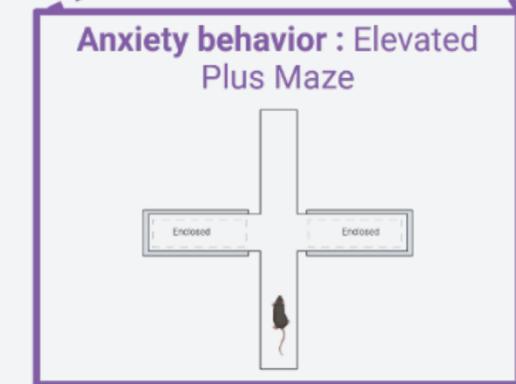
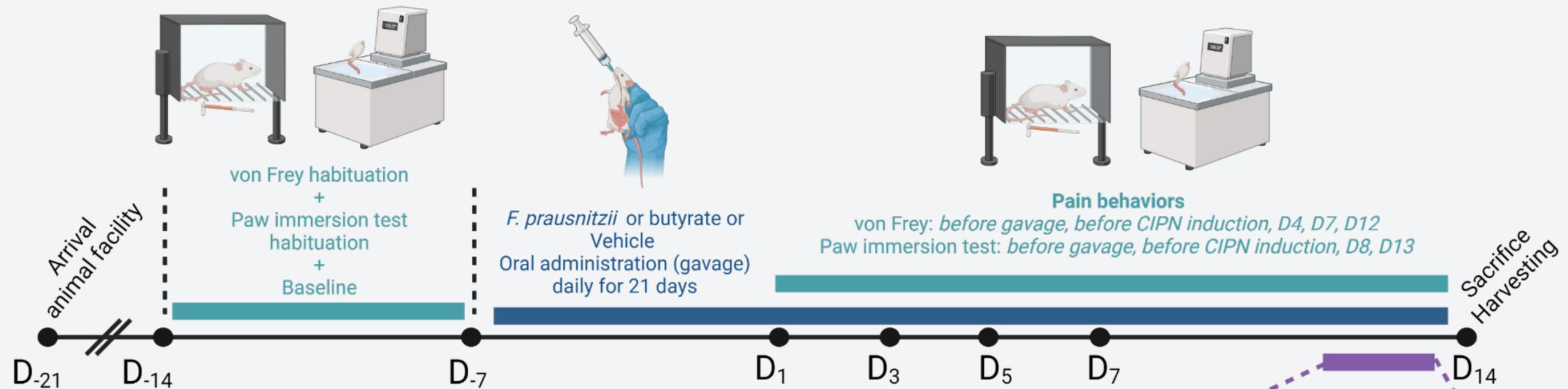
- Purification de S-Layer (A2-165; M21; 4541)
- Purification de protéines MAM (A2-165)





-> 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

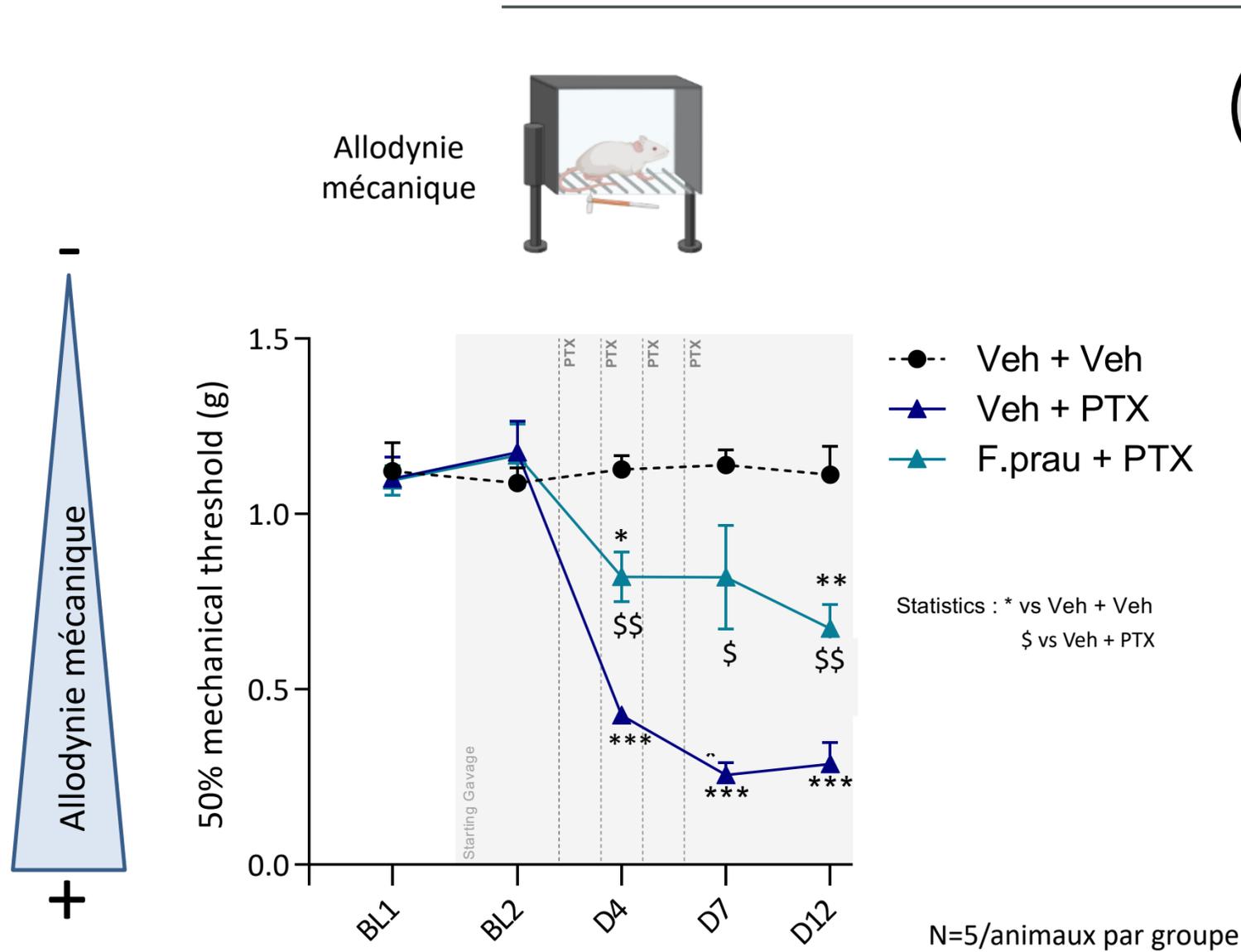
Propriétés neuromodulatrices-Souches

Protéines MAM

④ Conclusion

⑤ Perspectives

Résultats



2

Effets A2-165 dans un modèle de douleur périphérique ?

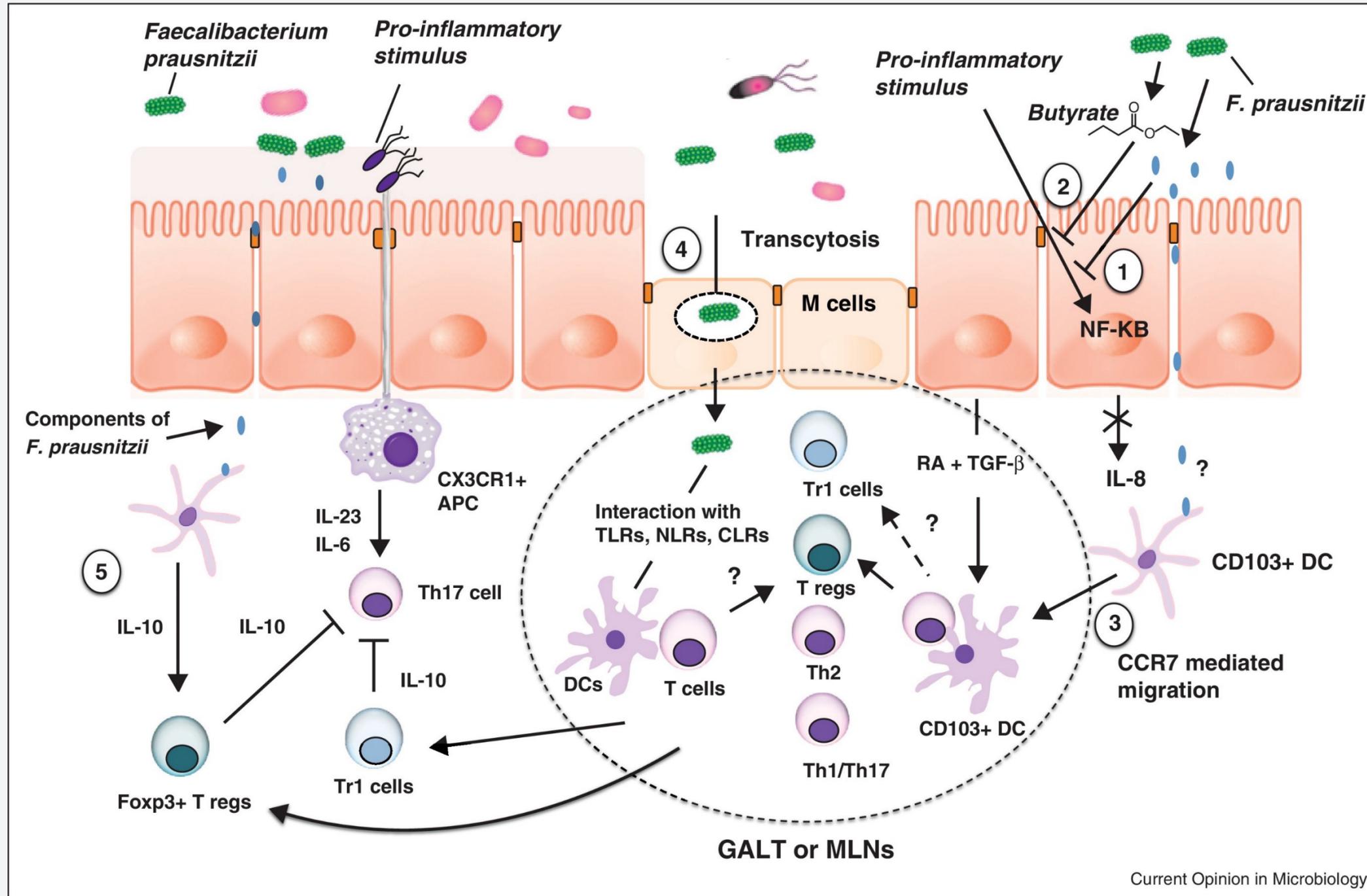
Etude *in vivo* : Modèle de neuropathie périphérique induite au paclitaxel



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)

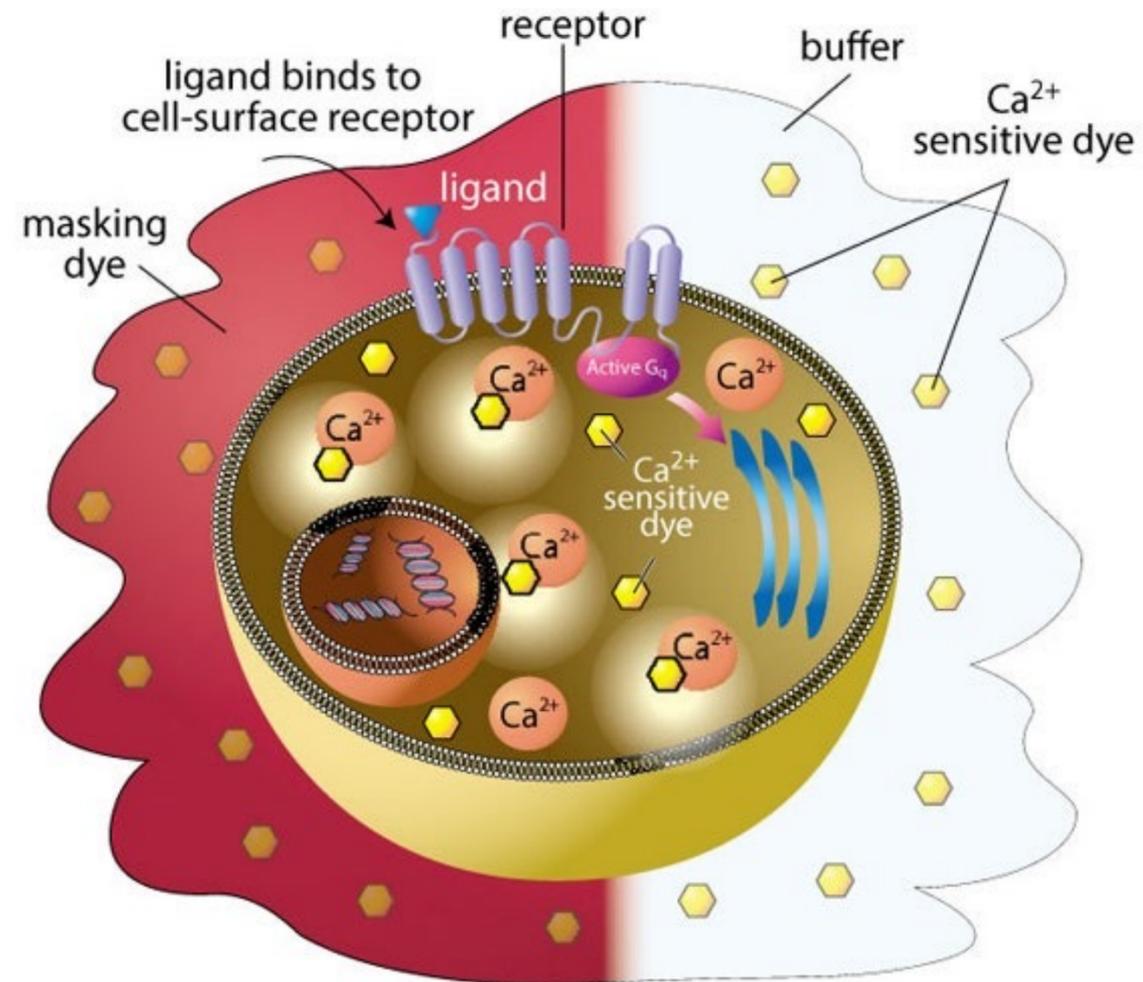
Sonde calcique utilisée
en imagerie calcique à
haut débit

Calcium 6

Significantly reduce fluorescence
background with one-step protocol

Calcium 6-QF

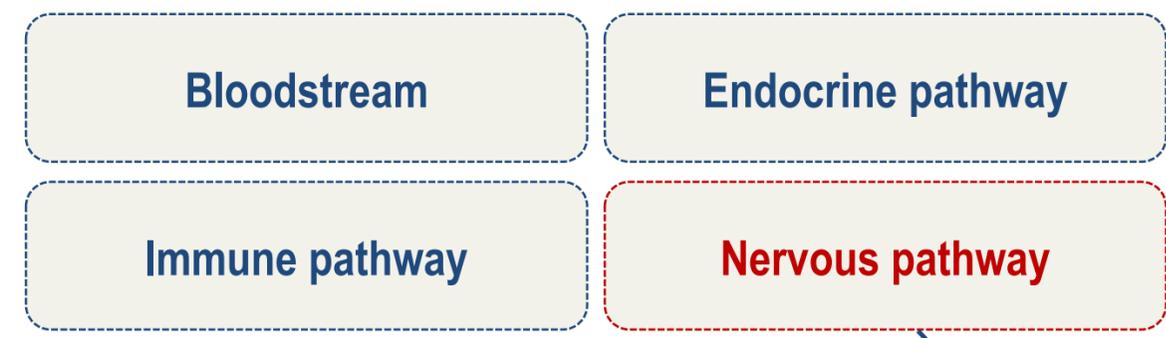
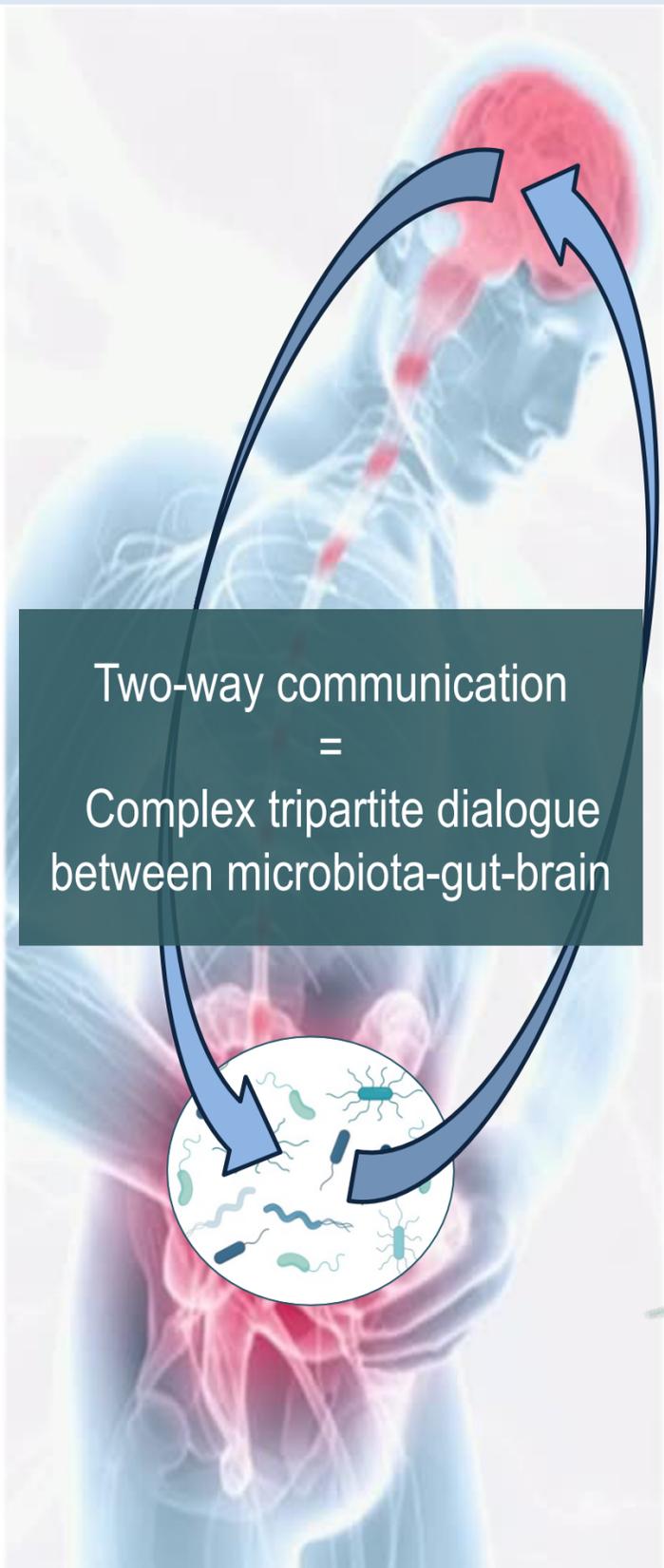
Quench-free option for sensitive
targets and multiplexing



Increase in cytosolic Ca²⁺ can be detected by FLIPR or FlexStation
microplate readers using calcium-sensitive dye indicators

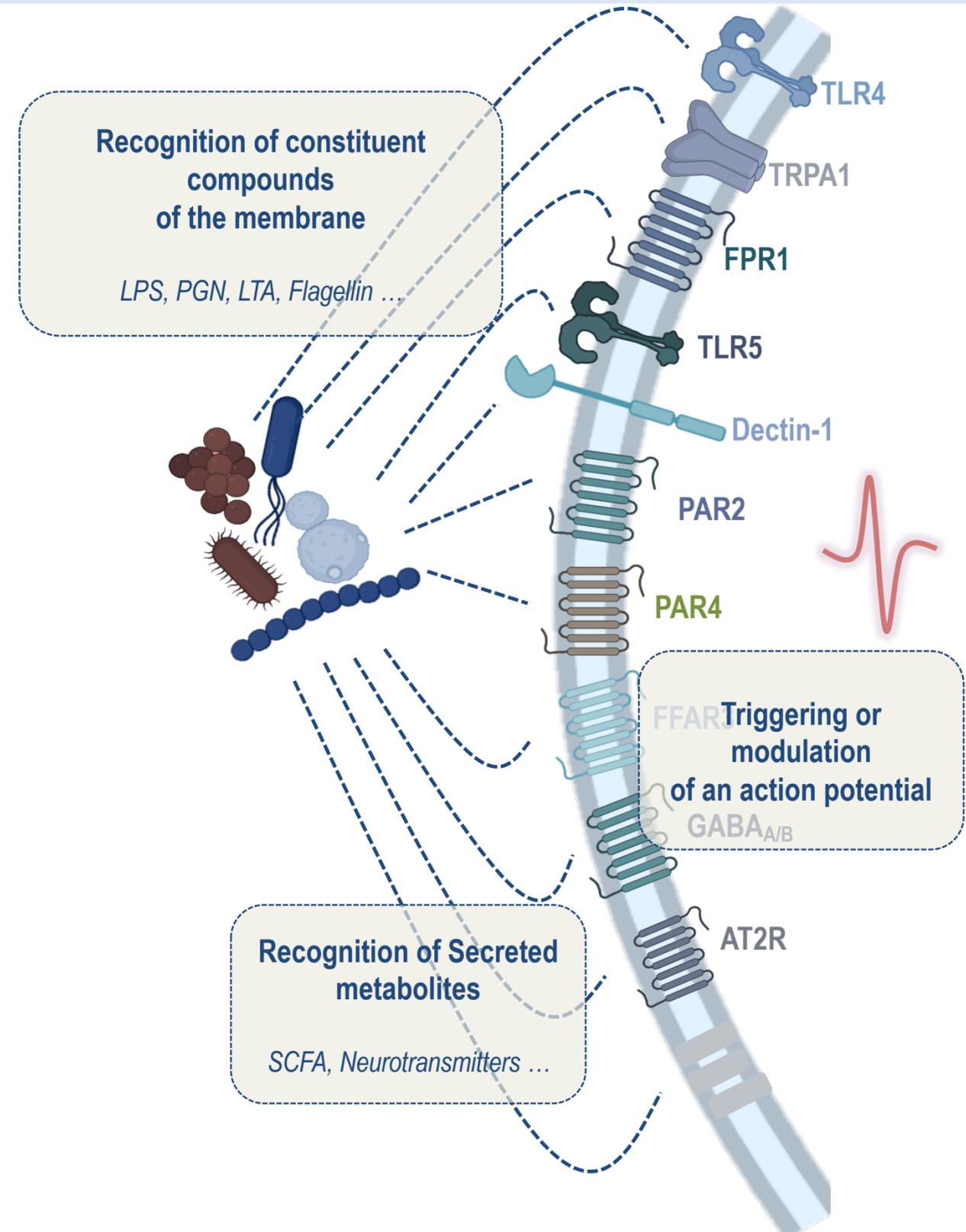
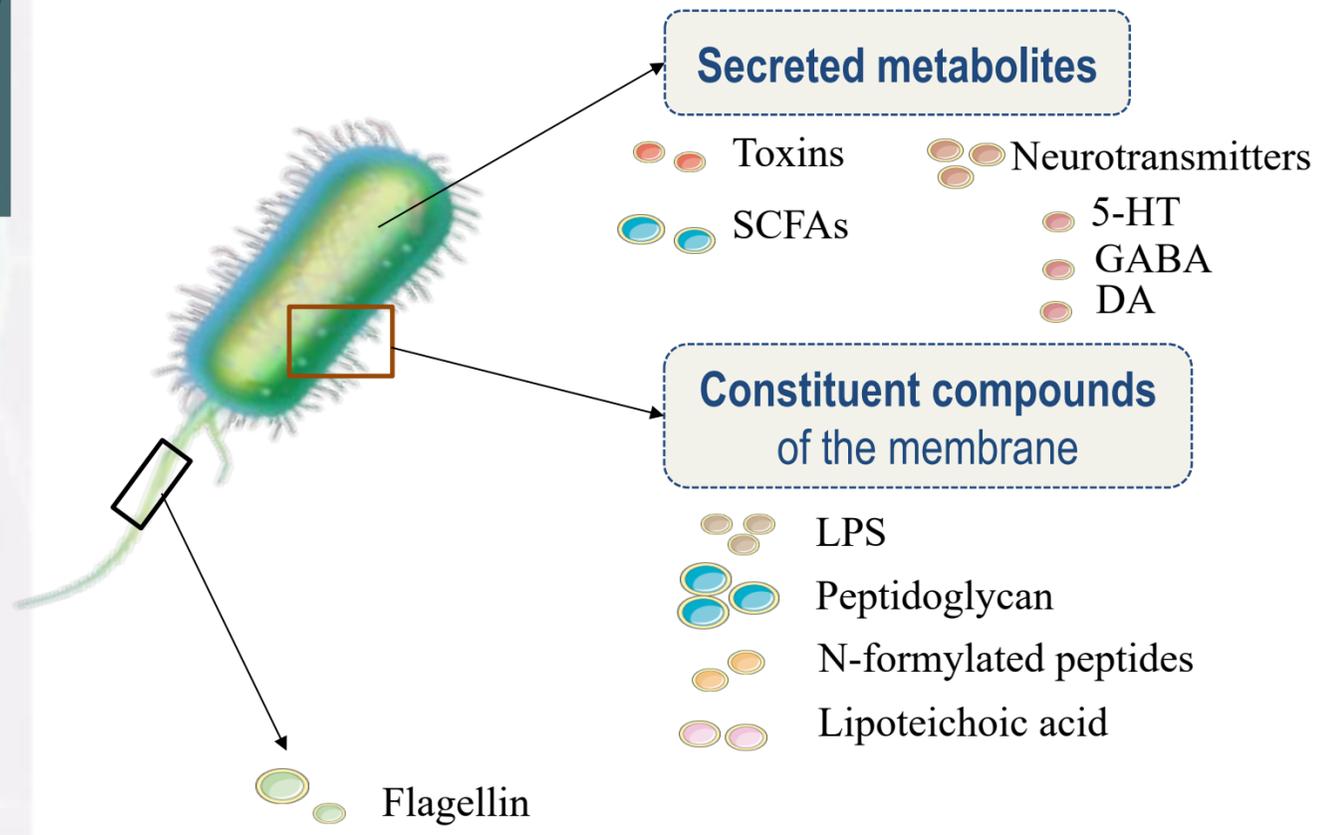
“Visceral Team”

Treatments linked to the Microbiota in Chronic Abdominal Pain

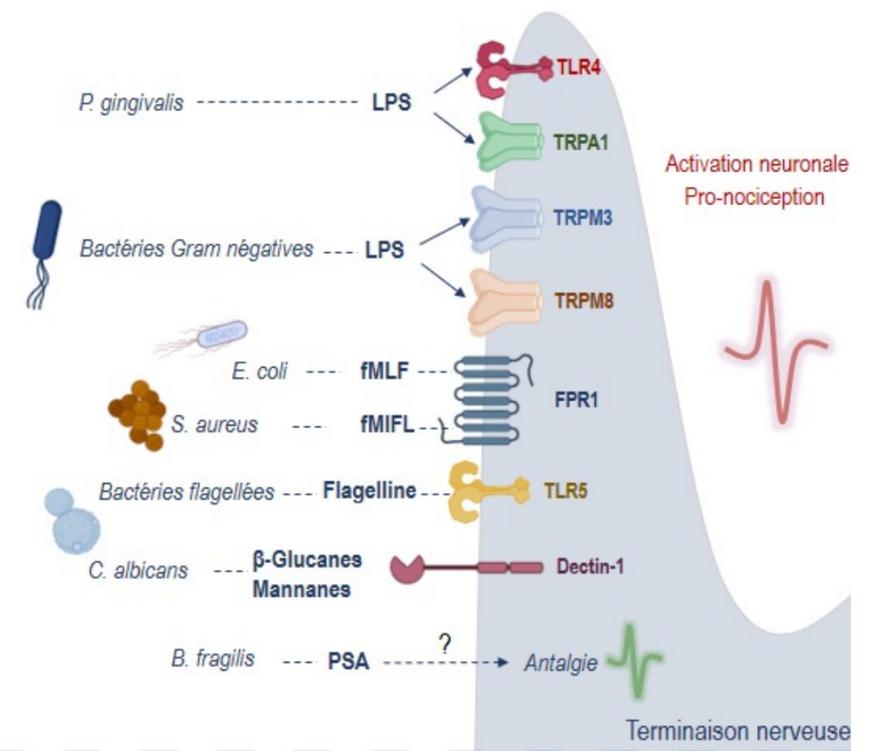


Recognition of microbial patterns or metabolites by cells of the nervous system =

Direct bacteria-neuron interaction: possible



Interaction directe via des motifs constitutifs



Interaction directe via des métabolites sécrétés

