

Un monde sans microbe : rêve ou cauchemar ?

Prof. Philippe Sansonetti

Leçon # 5

Collège de France

20 janvier 2016



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

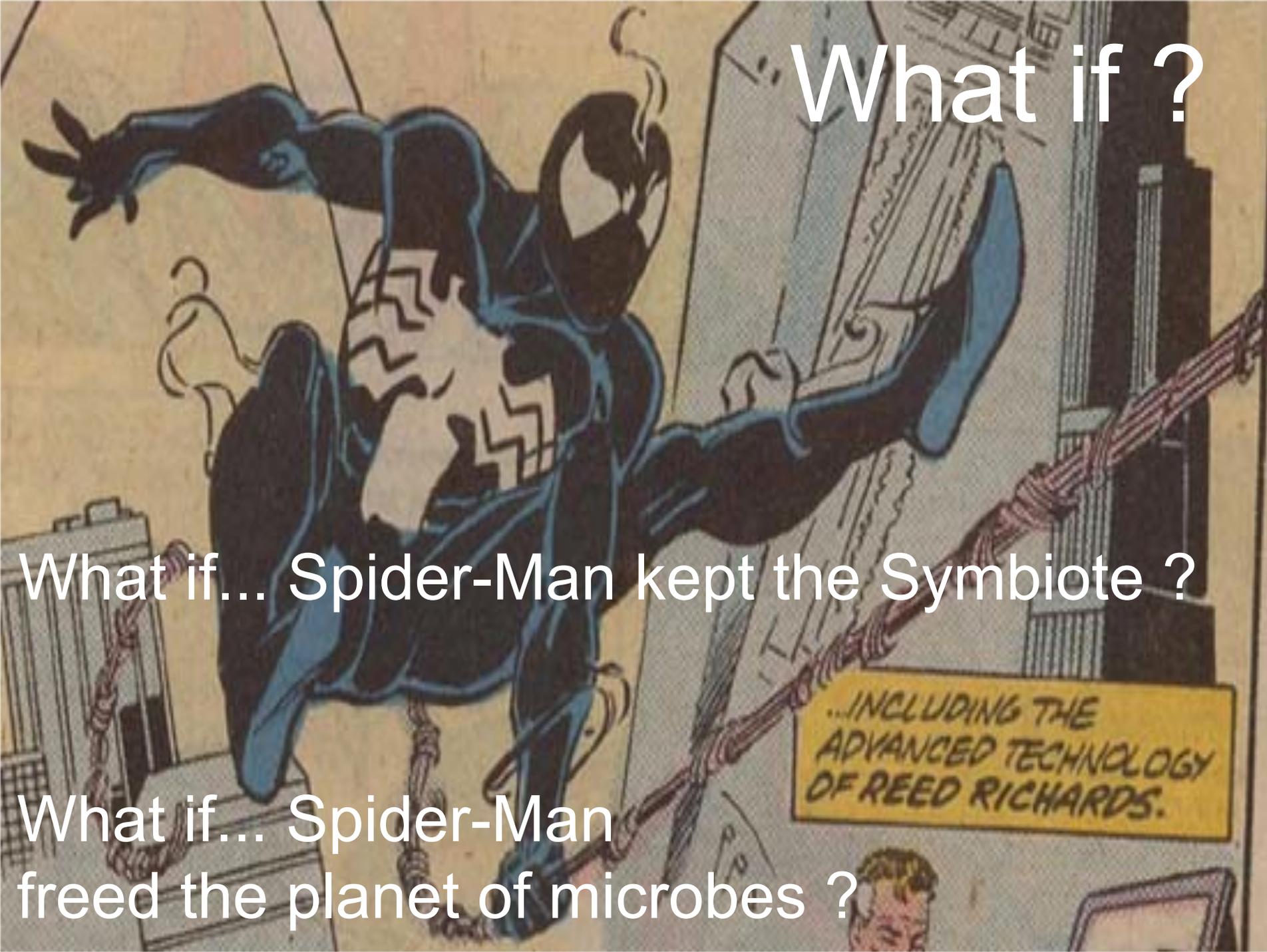


INSTITUT PASTEUR

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

2 00µm

A comic book illustration of Spider-Man in his black symbiote suit, swinging through a city. He is holding onto a thick red rope that is attached to a building. The background shows a cityscape with buildings and a yellow sign that reads "...INCLUDING THE ADVANCED TECHNOLOGY OF REED RICHARDS." The text "What if ?" is overlaid in the top right corner.

What if ?

What if... Spider-Man kept the Symbiote ?

What if... Spider-Man freed the planet of microbes ?

Définitions

Axénique: qualifie un animal de laboratoire exempt de tout microorganisme commensal/saprophyte ou pathogène (animal prélevé par césarienne et élevé dans une enceinte stérile)

Gnotoxénique (γνωτοσ = connu): qualifie un environnement biologique entièrement fermé au sein duquel tous les organismes sont identifiés.

Exemple: un animal axénique auquel on a inoculé une seule souche microbienne. Aussi élevé en isolateur

Une vie sans microbes ?

Louis Pasteur

Oeuvres



Louis Pasteur
1822-1895

Louis Pasteur fut, dans ses réflexions scientifiques, à l'origine du concept de vie animale sans microbe.

Il est en quelque sorte l'inventeur du concept d'axénie

Sa réponse était claire...

"Souvent dans nos causeries du laboratoire, depuis bien des années, j'ai parlé aux jeunes savants qui m'entouraient de l'intérêt qu'il y aurait à nourrir un jeune animal, dès sa naissance, avec des matières nutritives pures. Par cette dernière expression, j'entends désigner des produits alimentaires qu'on priverait artificiellement et complètement des microbes communs. Sans vouloir rien affirmer, je ne cache pas que l'entreprendrais cette étude, si j'en avais le temps, **avec la pensée préconçue que la vie, dans ces conditions, deviendrait impossible.**"

(Comptes Rendus de l'Académie des sciences, 1885)

VRAI ou FAUX ?

FAUX !



George Nuttall
1862-1937



Hans Thierfelder
1858-1930

George Nuttall (Britannique, né à San Francisco, Professeur à Göttingen lors du travail cité) et **Hans Thierfelder** décident 10 ans plus tard (1897) de "revisiter" le concept de Louis Pasteur.

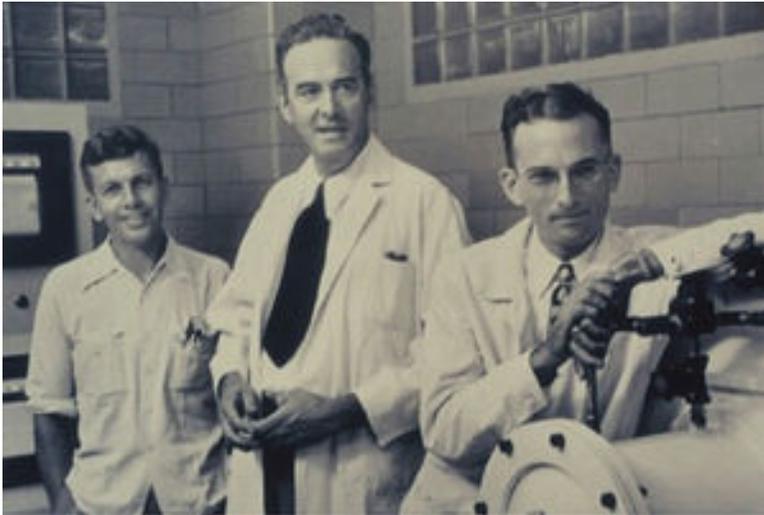
Grâce à des travaux techniquement complexes (pionniers de l'**axénie**) ils maintiennent des cobayes nés par césarienne dans des conditions stériles
Les animaux ont une digestion à priori "normale", survivent et se développent sur une période prolongée

Ces expériences démentent l'hypothèse de Pasteur... du moins sur le principe...

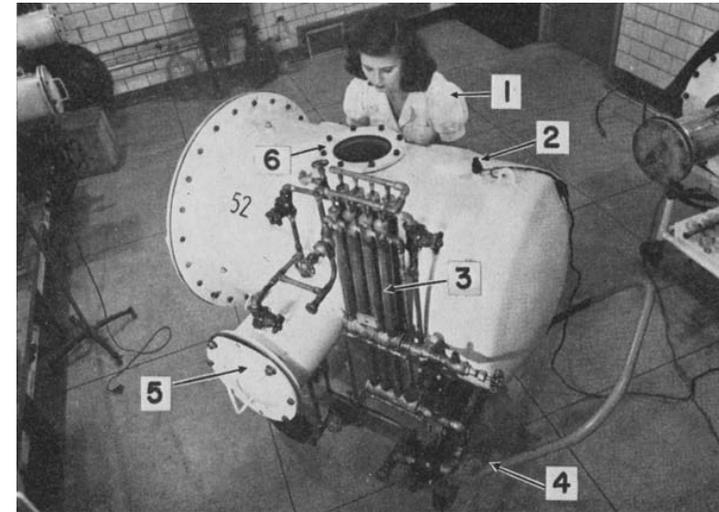
Thierisches Leben ohne Bakterien im Verdauungskanal. Hoppe-Seyl. Z. physiol. Chem., 21, 109-21; 22, 62-73; 23, 231-35, 1895-1896, 1896-1897.

Proof that healthy life and perfect digestion are possible without the presence of bacteria in the digestive tract.

Gnotoxénie: de la biologie à la médecine, à l'utopie et à l'exobiologie



Philip Trexler, James Reyniers, Bob Ervin
University of Notre Dame, Indiana
Pionnier des enceintes axéniques (1949)



Isolateur axénique en acier

Reyniers JA, Trexler PC, Ervin RF (1946) Rearing germfree albino rats. Lobund reports no 1. Notre Dame (Indiana): University of Notre Dame Press.pp2–84.4.

Reyniers JA, Trexler PC, Ervin RF, Wagner M, Luckey TD, et al. (1949) A complete life-cycle in the germfree Bantam chicken. Nature 163: 67–68. doi: 10.1038/163067a0

Gnotoxénie: de la biologie à la médecine

James A Reyniers + Philip Trexler pionniers d'une nouvelle science: **Gnotoxénie**
= maîtrise du contenu microbien d'un individu

Confirmation du concept de **Nuttal et Thierfelder**: une vie macroscopique
peut exister sans vie microscopique

A permis des développements scientifiques essentiels sur le rôle du microbiome
dans le développement et la physiologie des mammifères

A permis des développements médicaux essentiels:

- Isolateurs pour prématurés sensibles aux infections = air filtré (quasi-axénie)
- Isolateurs pour grands brûlés
- Enceintes stériles pour patients aplasiques du fait de chimiothérapies lourdes
- Enceintes stériles pour enfants atteints de déficits immunitaires génétique en attente d'un traitement ("bébés bulle")

(Barnes RD, Tuffrey M, Cook R. 1968. A germ-free "human" isolator.
Lancet, 7543:622-623)

Succès technologique de l'équipe et talents commerciaux de Philip Trexler qui
ont tiré cette aventure initialement non médicale (LOBUND)

Gnotoxénie: de la biologie à la médecine et à l'utopie

Sir Macfarlane Burnet
1899-1985
Prix Nobel de Médecine
ou Physiologie, 1960



L'époque d'après guerre confondait encore monde microbien et pathogènes
Sir Macfarlane Burnet promettait en **1953** "l'élimination virtuelle des maladies infectieuses comme facteur essentiel de la vie de la société"
(Macfarlane Burnet, Natural history of infectious diseases, 2nd ed.: Cambridge University Press, 1953)

A la fin des années 60, William H. Stewart, « Surgeon General » des Etats Unis déclarait : « le moment est venu de fermer le livre des maladies infectieuses et de déclarer gagnée la guerre contre les pestilences »...

Gnotoxénie: de la biologie à la médecine et à l'utopie

Durant ces années d'après-guerre, le concept de vie sans germe a fortement capté l'intérêt du monde scientifique et médical, mais aussi de la presse populaire, en particulier dans les pays anglo-saxons

Mauvaise interprétation des résultats initiaux montrant une vie macroscopique possible sans vie microscopique

La preuve de principe l'emportait sur le qualitatif: cette vie sans microbes (axénie) avait/aurait-elle les mêmes caractéristiques que la vie avec microbes ?

"Meilleure" ou "plus mauvaise" ? On opta sans critique pour "**meilleure**"

Naissance des fantasmes sur le fait qu'une vie sans microbes engendrerait des individus plus sains

Idem pour le monde animal (élevage)

Gnotoxénie: de la biologie à l'utopie

“Life in a Germ-Free World”:
Isolating Life from the Laboratory
Animal to the Bubble Boy

ROBERT G. W. KIRK

Travaux de Reyniers ont aussi contribué à développer un nouveau courant de pensée marqué par l'obsession de l'élimination des microbes (**germophobie**)

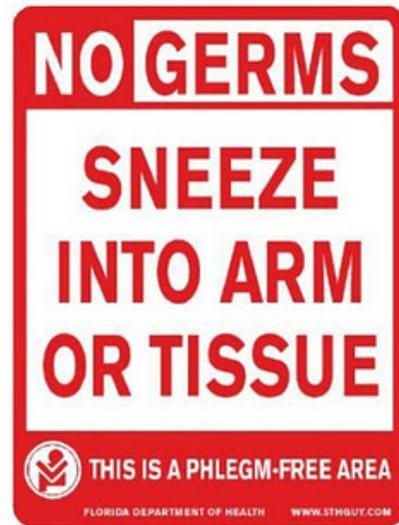
Ce courant de pensée se retrouva étroitement associé dans les années 50 à celui de l'eugénisme, mélangeant dans le même concept d'"**homme pur du futur**" "pureté génétique" et "pureté microbiologique"

Les progrès de la génétique et le miracle des antibiotiques alimentèrent cette utopie !!!



"Germ-free machine man of the future"
Francis Flagg

Germophobia



Gnotoxénie: de la biologie à l'utopie



Hilary Koprowski
1916-2013
Wistar Institute
1^{er} vaccin antipolio

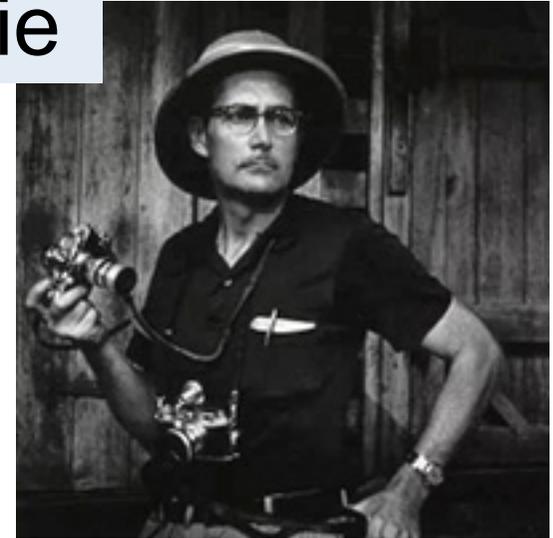


Joshua Lederberg
1925-2008
Prix Nobel de Physiologie
ou Médecine, 1958
Rockefeller University
NASA expert: "Life on Mars"

Un débat entre Hilary Koprowski et Joshua Lederberg illustre cette période. **JL** considérait que l'existence d'un homme axénique avait du sens et était pour le futur une hypothèse crédible, s'étendant même à un "monde sans germes". **HK**, au contraire, pensait que l'interface homme-microbes devait être comparée à un front de bataille qui, du fait des progrès de la médecine (antibiotiques et vaccins), tendait à se stabiliser et devait être respecté. Julian Huxley, modérateur du débat concluait: "... a germ-free world is an ecological absurdity, just as perpetual motion machine is a mechanical absurdity... it is just nonsense to talk of eradication" (Health and disease discussion, in *Man and his future*, Ed. Gordon Wolstenholme, London:Churchill, 1963)

Gnotoxénie: de la biologie à l'utopie

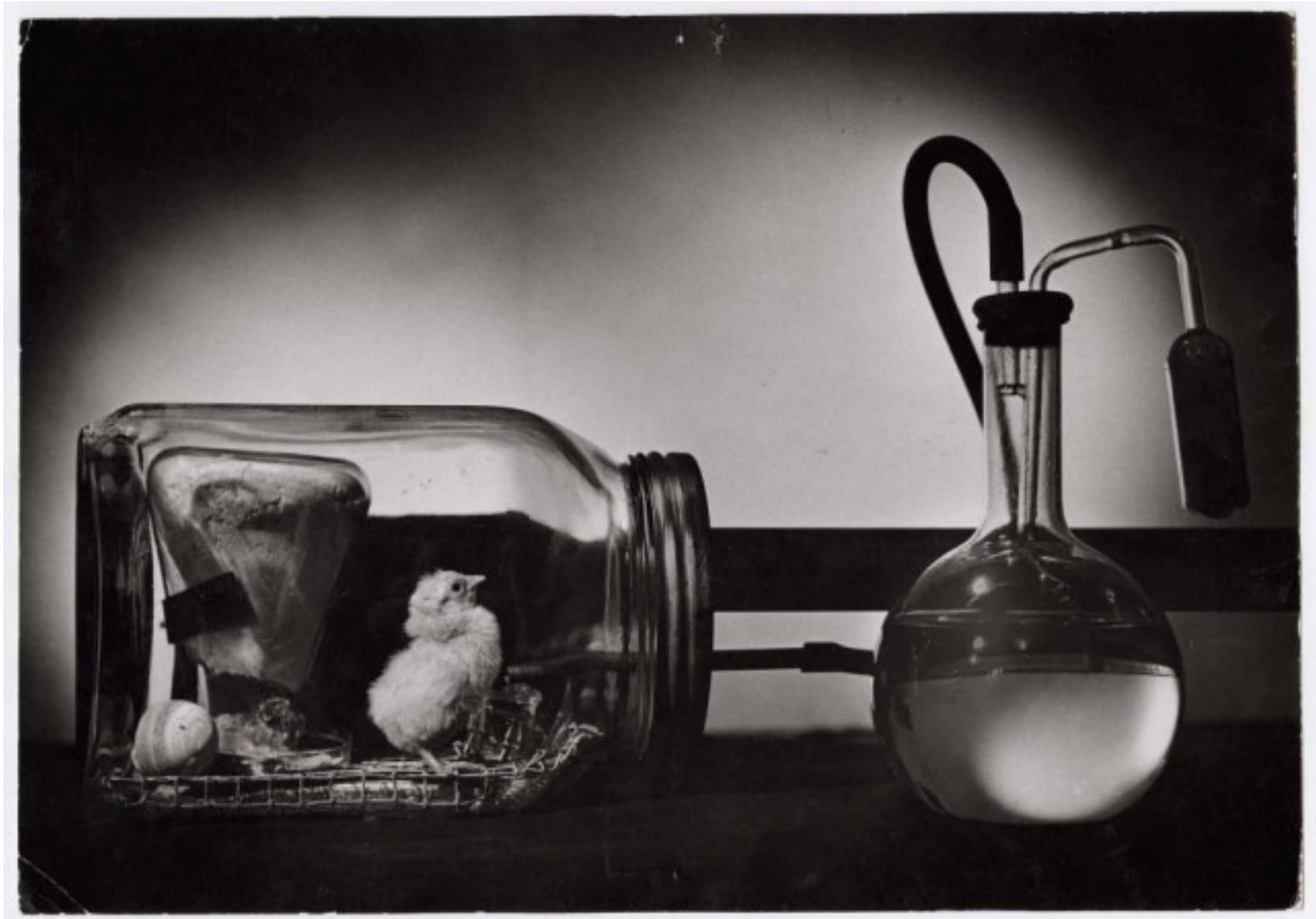
W Eugene Smith
1918-1978



Le photo-journaliste W Eugène Smith sut capturer en 1949 pour Life Magazine l'essence du fantôme devenu populaire de la vie sans microbes
Aucune base médicale ou scientifique (Guerre du Pacifique)
Reportage au "Germ Free Laboratory" de l'Université d'Indiana, Notre Dame
Série d'instantanés intitulés "**Life without germs**"
Fit beaucoup pour le mythe de ce laboratoire et de son Directeur J Reyniers



Man in protective helmet and rubber gloves holding a mouse



Baby chick in jar being fed deficient diet to determine which vitamins are essential to its survival



Technician removing germless monkey from sterile chamber to study how it will react to harmless microbes and adapts to normal life



Attendant weighing week-old kitten who is sealed for life in chamber to show how animals age without disease

Gnotoxénie: de la biologie à la médecine, à l'utopie et à l'exobiologie

Esthétisme, modernité

Mystère de la relation homme-animal, homme-microbe

Incertitude/angoisse de l'entrée dans un monde inconnu

Fantasme de conquêtes à venir, en particulier de l'aventure spatiale (scaphandres, caissons, singes,...)

Une anticipation à la Stanley Kubrick dans 2001...

Gnotoxénie: de la biologie à la médecine, à l'utopie et à l'exobiologie

Gnotoxénie apparaissait souvent comme un mélange de science et de fiction

Dès que les USA commencèrent à envisager leurs programmes spatiaux habités, Dr Charles Philips (Walter Reed Army Institute of Research) suggéra que l'exploration de l'espace pouvait nécessiter des hommes axéniques:

"All we have to do is keep a man in a germ-free cabinet for some 25 years following birth, meanwhile teaching him how to fly a spacecraft" !!!

La "Bactérie Andromède" de Michael Crichton narrait l'importation sur terre par des astronautes d'un pathogène ultra-résistant et mortel.

La description était médicalement et scientifiquement si précise que la science l'emportait sur la fiction et l'usage d'un environnement axénique y prenait une dimension salvatrice....

Gnotoxénie: de la biologie à la médecine, à l'utopie et à l'exobiologie

Josh Lederberg et d'autres exobiologistes considéraient la terre comme un écosystème fermé faisant courir le risque, via la conquête spatiale, de la contamination d'autres planètes

Concept appliqué à la lettre par la NASA pour ses vols interplanétaires



Planète Mars

9 octobre 2015

Une scientifique de la NASA protège Mars contre les bactéries humaines



945 personnes le recommandent. [Inscription](#) pour voir ce que vos amis recommandent.



Entre 20 000 et 40 000 bactéries résistantes sont présentes sur la sonde Curiosity - HO /

NASA / JPL

Gnotoxénie: de la biologie à la médecine, à l'utopie et à l'exobiologie

Catharine (Cassy) Conley
NASA Planetary Protection Officer

Si des microorganismes étaient la seule manifestation de la vie sur Mars, difficile de commencer en y amenant un échantillonnage de la vie terrestre...



"L'objectif n'est pas de protéger la terre des aliens, mais de protéger les autres planètes des terriens"

New York Times, Oct. 2015

Risque majeur = les lichens (soleil + rochers+ résistance)

Bactéries ?

20-40 000 bactéries amenées par Curiosity.

Redescendons sur terre...

Caractéristiques objectives de la vie en conditions axéniques

Reyniers et ses prédécesseurs avaient vite montré que les animaux axéniques mouraient initialement du fait de carence alimentaire:

Carence d'apport calorique

Carence de vitamines produites par la flore microbienne (Vit A, B12, Acide Folique, K...)

La vie axénique ne pouvait être maintenue que grâce à un apport alimentaire enrichi quantitativement et qualitativement

Caractéristiques objectives de la vie en conditions axéniques

Absence de microorganismes tend à allonger l'espérance de vie des animaux maintenus en conditions axéniques (Gordon & coll., 1966, J Gerontol). **Mais...**

Poids inférieur / souris conventionnelles. Nécessité d'apport alimentaire x 30-50% pour compenser + vitamines

N'a de sens que si les conditions axéniques sont maintenues...

Cependant, la physiologie et le métabolisme, leur immunité sont profondément altérés (Gordon & Pesti, 1972, Bacteriol Rev):

Paroi intestinale très fine / fragile

Immaturité de la vascularisation capillaire intestinale / diminution de production de facteurs d'angiogénèse (Stappenbeck & coll, 2002, PNAS)

Réduction de motilité intestinale = diminution d'expression de neuromédiateurs et immaturité du système nerveux myo-entérique (Kabouridis & coll., 2015, Neuron)

Absence de dégradation des mucines = caecum monstrueux occupant une grande partie de la cavité abdominale entraînant un risque d'occlusion/rupture

Caractéristiques objectives de la vie en conditions axéniques

Petite taille des organes (coeur, poumons, foie)

Système immunitaire muqueux atrophique (absence de plaques de Peyer, faible densité de lymphocytes CD4 et CD8 dans la *lamina propria*) (Macpherson & Harris, 2004, Nature Rev Immunol)

Immunité systémique défailante: ganglions atrophiques, titres d'anticorps circulants diminués

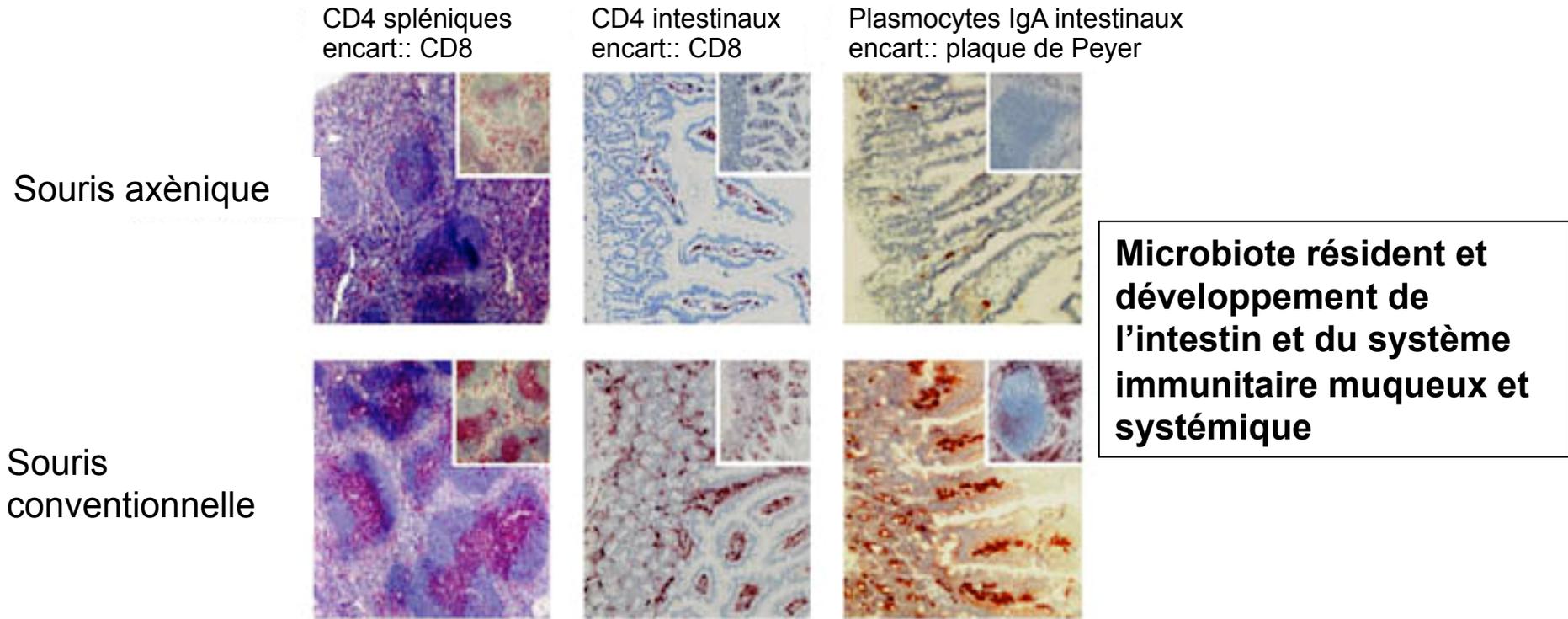
Leuco/lymphopénie

Autres anomalies de portée difficile à apprécier:

Retard de maturation de la barrière hémato-encéphalique (Braniste & col, 2014, Sci Transl Res)

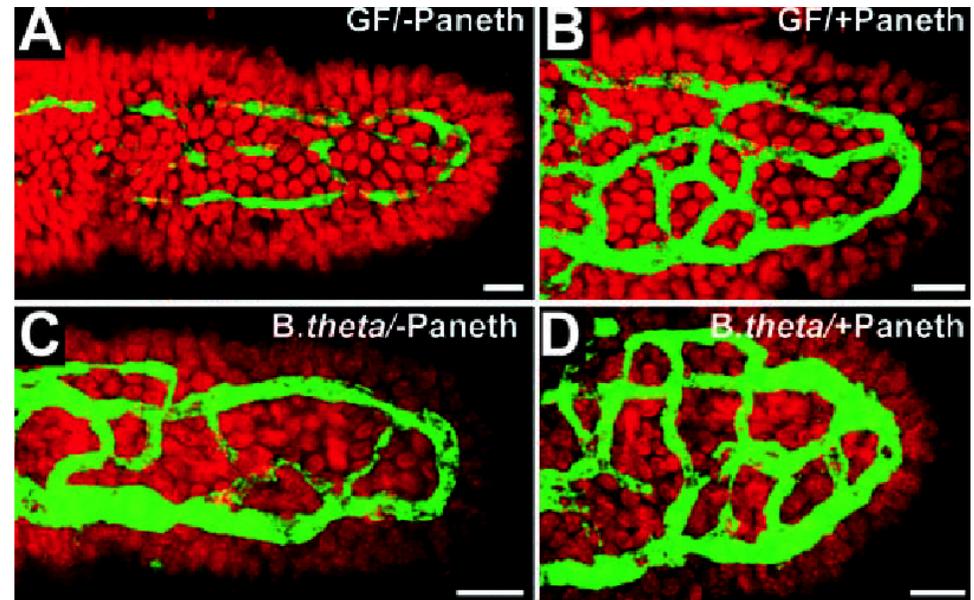
Altération des phases tardives de développement du système nerveux central et anomalies comportementales (hyperactivité, diminution du seuil d'anxiété, conduites imprudentes (Heijtz & coll., 2011, PNAS)

Conséquences néfastes de gravité imprévisible sur le comportement...



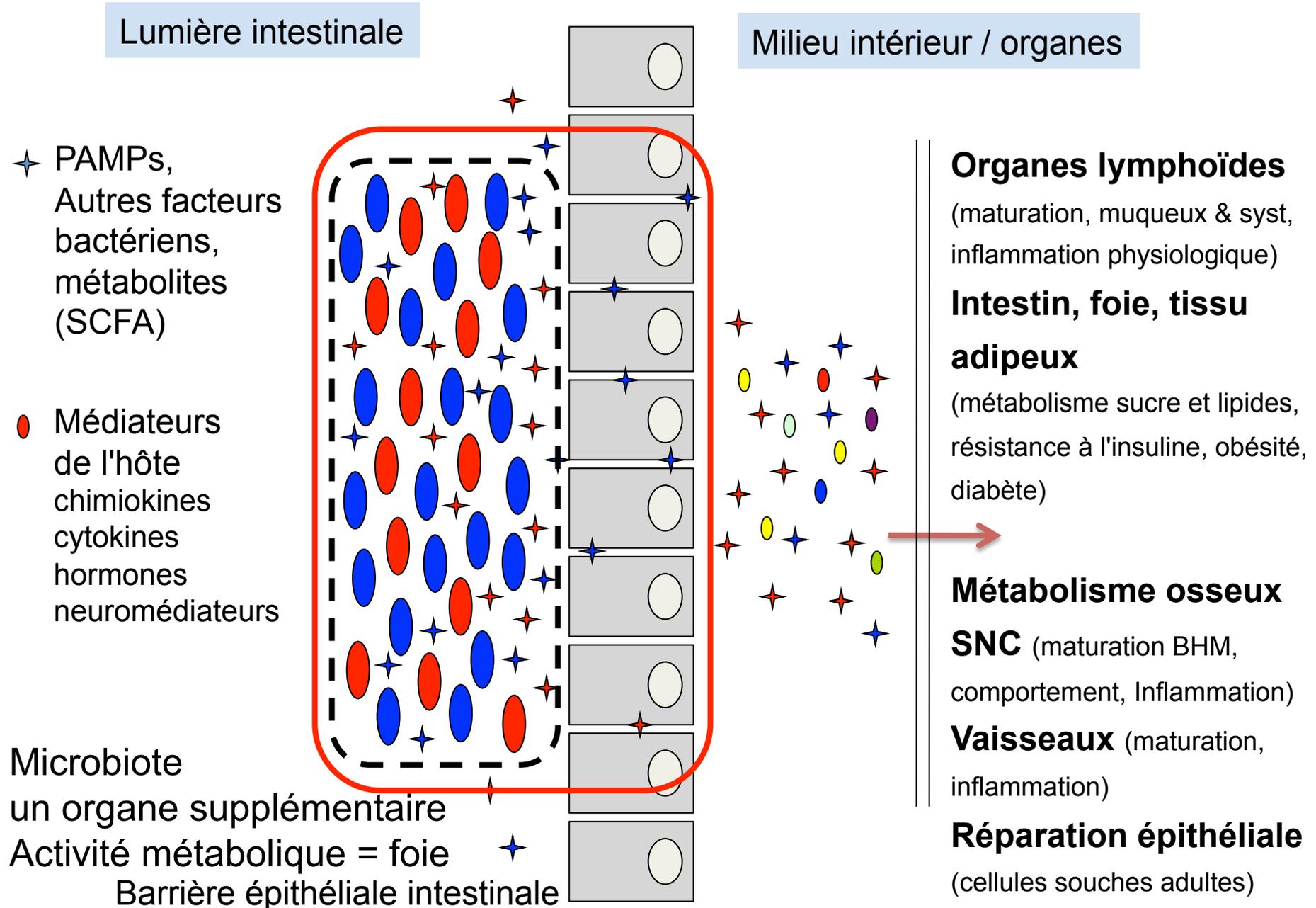
Macpherson & Harris, 2004, Nature Reviews Immunology

Villosités intestinales murines
 Immunomarquage FITC = Facteur de Willebrand
 (vaisseaux de la lamina propria)



Stappenback et coll., 2002, PNAS

Frontières de la symbiose hôte-microbiote: *terra incognita* ?



Lumière intestinale

Milieu intérieur / organes

✦ PAMPs,
Autres facteurs
bactériens,
métabolites
(SCFA)

● Médiateurs
de l'hôte
chimiockines
cytokines
hormones
neuromédiateurs

Microbiote
un organe supplémentaire
Activité métabolique = foie ✦
Barrière épithéliale intestinale

Organes lymphoïdes

(maturation, muqueux & syst,
inflammation physiologique)

Intestin, foie, tissu adipeux

(métabolisme sucre et lipides,
résistance à l'insuline, obésité,
diabète)

Métabolisme osseux

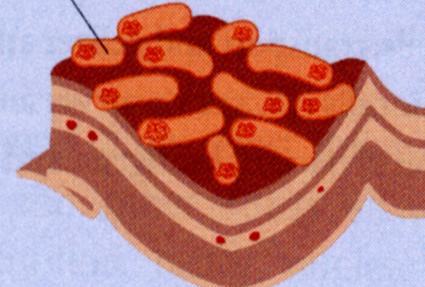
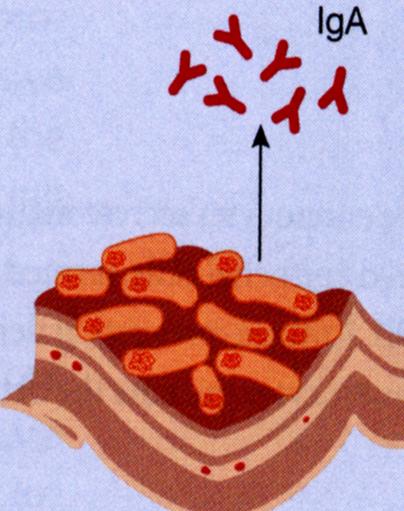
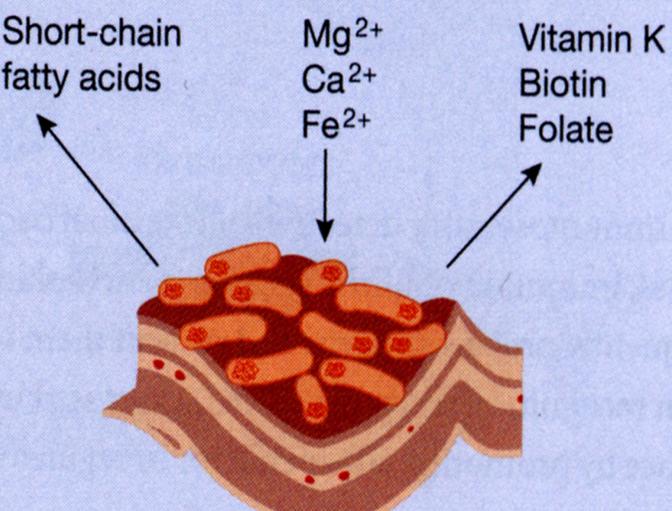
SNC (maturation BHM,
comportement, Inflammation)

Vaisseaux (maturation,
inflammation)

Réparation épithéliale

(cellules souches adultes)

Fonctions du microbiote intestinal

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

Caractéristiques objectives de la vie en conditions axéniques

Vie axénique possible sous réserve d'une alimentation enrichie quantitativement et qualitativement

Possible si permanence des conditions axéniques = confinement permanent...

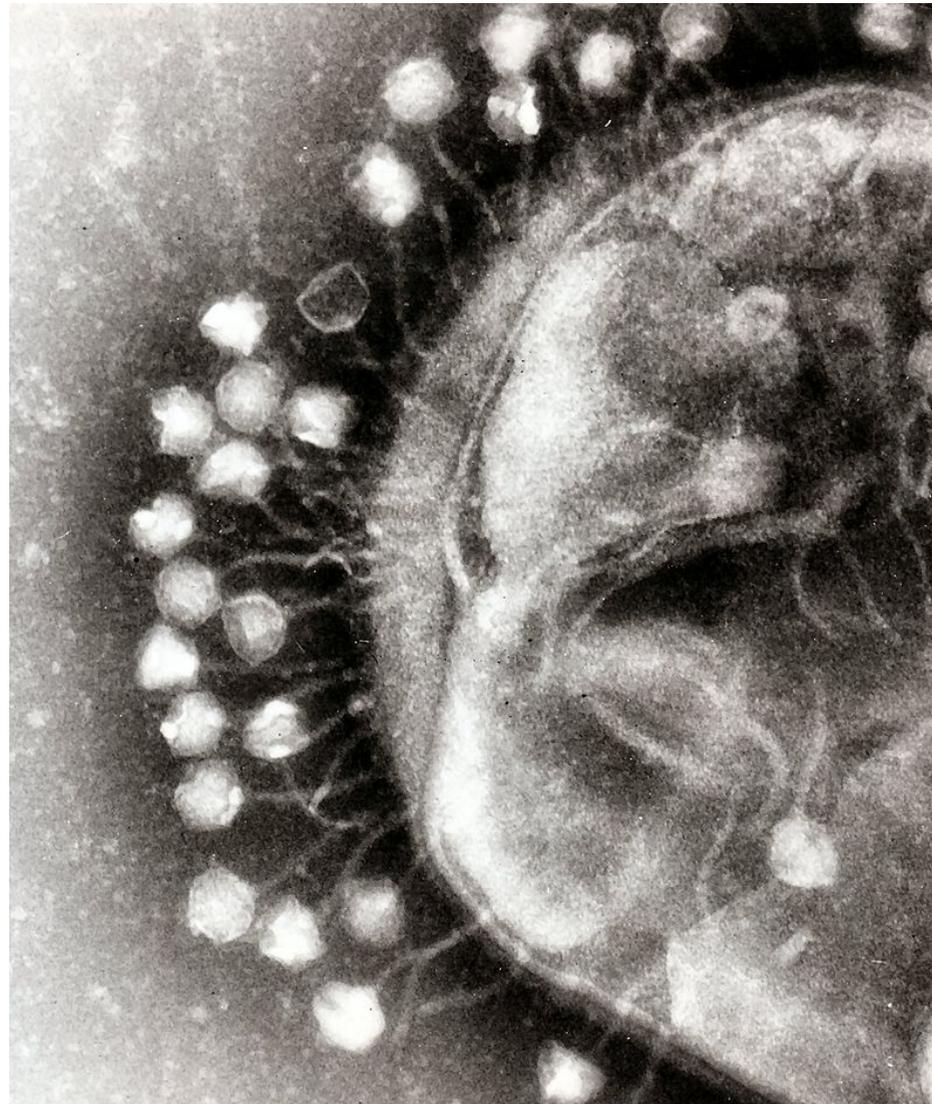
Toute rupture de stérilité surviendrait sur un organisme non préparé avec des risques infectieux microbiens majeurs (bactériens ET viraux)

Course de vitesse entre constitution du microbiote / maturation rapide du système immunitaire et capacité de résister aux pathobiotés/pathogènes

Même si reconstitution rapide, demeurerait partielle, empreinte (épigénèse ?) précoce du microbiote chez le très jeune (troubles comportementaux des souriceaux nouveaux-nés axéniques réversés par la constitution d'un microbiote seulement si contamination réalisée très rapidement (Pettersson, communication personnelle)

En résumé, l'analyse détaillée des conséquences du maintien prolongé d'un individu dans des conditions axéniques reste à faire, mais les capacités adaptatives de ces individus seraient très affectées

What if... a **superphage** killed all bacteria on earth at once in a short period ?



Oublions les deux symbiose primaires



Chloroplaste (Chlamydomonas)

Cellules eucaryotes photosynthétiques
(plantes algues)

- Endosymbiote- cyanobactérie primitive
- 1 milliard d'années
- Chlorophyle, CO_2 – ATP + glucose + O_2

Mitochondrie (cellule pulmonaire humaine)

- Endosymbiote-procaryote primitif (*Rickettsia prowazekii*)
- 1,5-2 milliards d'années quand l'atmosphère terrestre commence à progressivement s'enrichir en O_2



Disparition des microbes de la planète (bactéries & archéobactéries)

**Sans considérer la disparition des mitochondries et des chloroplastes
= disparition immédiate du monde vivant en atmosphère aérobie**

Disparition des maladies infectieuses ! "Face visible" du monde microbien

Révélation de la "face cachée" du monde microbien = rôle dans l'équilibre écologique global de la planète

Réduction massive des fonctions physiologiques fondamentales assurant croissance/développement, survie des êtres vivants (flore et la faune)

Prédite car rupture brutale d'une symbiose construite par 3 milliards d'années de co-évolution

Peu de solutions d'échappement sur le court terme, sauf "miracle" d'activation de voies alternatives imprévues ou de contribution par la recherche en situation d'urgence de solutions palliatives

Effet de la disparition des microbes sur le monde végétal (1)

Arrêt des processus de symbiose permettant **la fixation d'azote**
(Rhizosphère en général et symbiose nodulaire légumineuses-*Rhizobium*)
Dégénérescence globale de la flore

Conséquences

= Crise alimentaire globale majeure

Compensations possibles ?

Un "Plan B" en urgence pour nourrir la planète

- Production chimique et usage massifs d'engrais azotés (ammoniac & nitrates). Pollution globale
- "Switch" vers un certain nombre d'espèces (blé, riz, etc..) = céréales vs. légumineuses
- Plantes OGM fixatrices d'azote (Curatti & Rubio, 2014, Plant Sci)

Fixation de l'azote (diazotrophie) = transformation de N₂ en azote organique assimilable par les plantes

Fixation "athmosphérique" = orages

Hautes températures et pressions entraînent la formation **d'oxydes d'azote** retombant au sol avec la pluie (45 000 orages par jour sur la planète)

Fixation "biologique" = synthèse de l'Ammoniac (NH₃)

Bactéries telluriques et Cyanobactéries marines (filamenteuses)

Enzyme-clé = Nitrogénase

- Bactéries telluriques fixatrices d'azote

Nombreuses espèces de bactéries transforment N₂ en NH₃, certaines vivant dans la rhizosphère, voire au sein des tissus végétaux (Azotobacter, Clostridiales)

Ammoniac rapidement transformé en Nitrates par les espèces microbiennes telluriques

- Bactéries des nodules de légumineuses

Les légumineuses vivent en symbiose étroite avec des bactéries fixatrices d'azote du genre *Rhizobium*

Légumineuses = une des familles les plus abondantes et diverse des plantes supérieures (> 17 000 espèces).

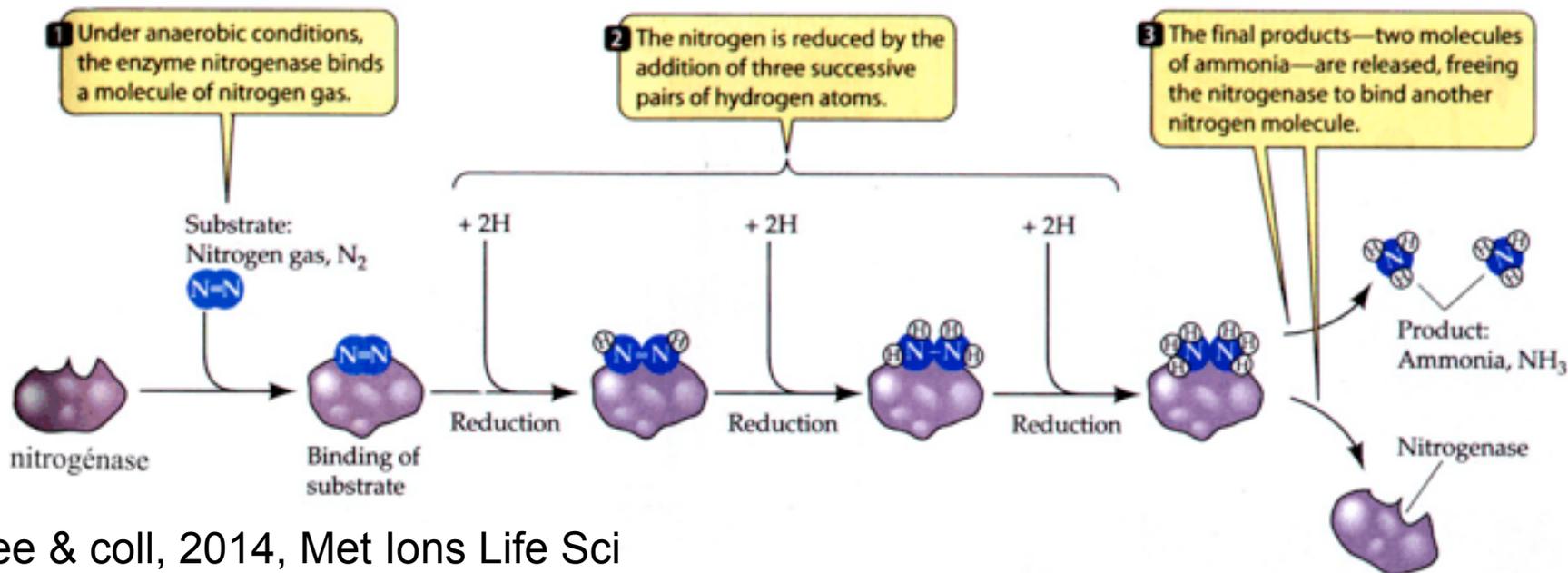
Nitrogénase



Réaction très demandeuse d'énergie

Source d'énergie = glucides fournis par la plante

Mutualisme...



Lee & coll, 2014, Met Ions Life Sci

la réaction est coûteuse en énergie. Elle nécessite 16 ATP pour chaque NH_3 produit (c'est la plante qui fournit, sous forme de nourriture, l'énergie à la bactérie).



Fritz Haber
1868-1934
Prix Nobel
de Chimie
1918



Production
d'ammoniac, 1909
Musée Juif, Berlin

Pourrait-on compenser l'absence de fixation de N₂ par les bactéries telluriques ?

Production chimique/industrielle d'ammoniac (NH₃)

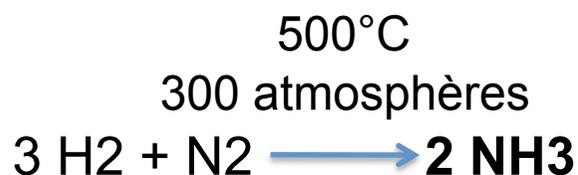
Procédé Haber-Bosch

Naissance production d'engrais chimiques (1909)

H₂ formé par à partir du méthane



Réduction (fixation) du N₂



1 tonne d'engrais =
2-3 tonnes d'équivalent
pétrole !!!

Ammoniac utilisé directement ou converti en nitrates
(NaNO₃ ou NH₄NO₃)

Oxydation de l'ammoniac, Hydratation des oxydes, Réaction
acide nitrique-ammoniac

**Production annuelle de 40 millions de tonnes
d'ammoniac = 1/5 de ce qui est produit par les bactéries
fixatrices d'azote sur l'ensemble de la planète**

1/2 absorbé par les plantes ciblées

Reste = autres plantes / lessivés

Effet de la disparition des microbes sur le monde végétal (2)

Arrêt des processus de symbiose permettant la fixation d'azote (Rhizosphère en général et symbiose nodulaire légumineuses-*Rhizobium*)
Dégénérescence globale de la flore, arrêt en quelques mois de la photosynthèse

Conséquences

- **Diminution de l'O₂ atmosphérique** = asphyxie planétaire ?

Représenterait une perte de 50% environ de la production d'oxygène terrestre
Sous réserve que *Prochlorococcus* et *Synechococcus* (cyanobactéries) et algues diatomées fournissent à partir des océans le complément d'oxygène manquant

Pourraient compenser si sources d'azote fixée suffisantes (tenable plusieurs milliers d'années) = pas d'asphyxie à court terme

- **Augmentation du CO₂ atmosphérique** = aggravation massive de l'effet de serre, réchauffement climatique

Insuffisant pour éradiquer rapidement la vie terrestre, possibilité de développer des sources efficaces de "traitement" du CO₂ (CCS/CCR ?)

Effets de la perte des activités biodégradatives du monde microbien sur la chaîne alimentaire et sur la pollution

Perte de la capacité des ruminants à hydrolyser et fermenter la cellulose = impact sur la crise alimentaire globale

- Maitrisable par fourniture de cocktails enzymatiques de substitution ?

Arrêt de décomposition des cadavres et des végétaux morts

Réduction massive de la chaîne de recyclage des nutriments contribuant à la crise alimentaire globale

(Inversement les cadavres ne sentent plus mauvais ! Médiocre consolation...)

- Compensation partielle par eucaryotes monocellulaires (amibes) et multicellulaires (champignons) et certaines espèces d'insectes, sous réserve qu'elles ne soient pas elles-mêmes trop affectées ?

Biodegradation des polluants sévèrement affectée, particulièrement dans les environnements industrialisés + > engrais. Crise de l'eau potable +++
Accroissement massif de la génotoxicité environnementale (infertilité, maladies génétiques, cancer)

- Remédiation extrêmement complexe...

Et si Pasteur avait finalement raison ?

Scénario pessimiste: collapsus total de la vie végétale et animale

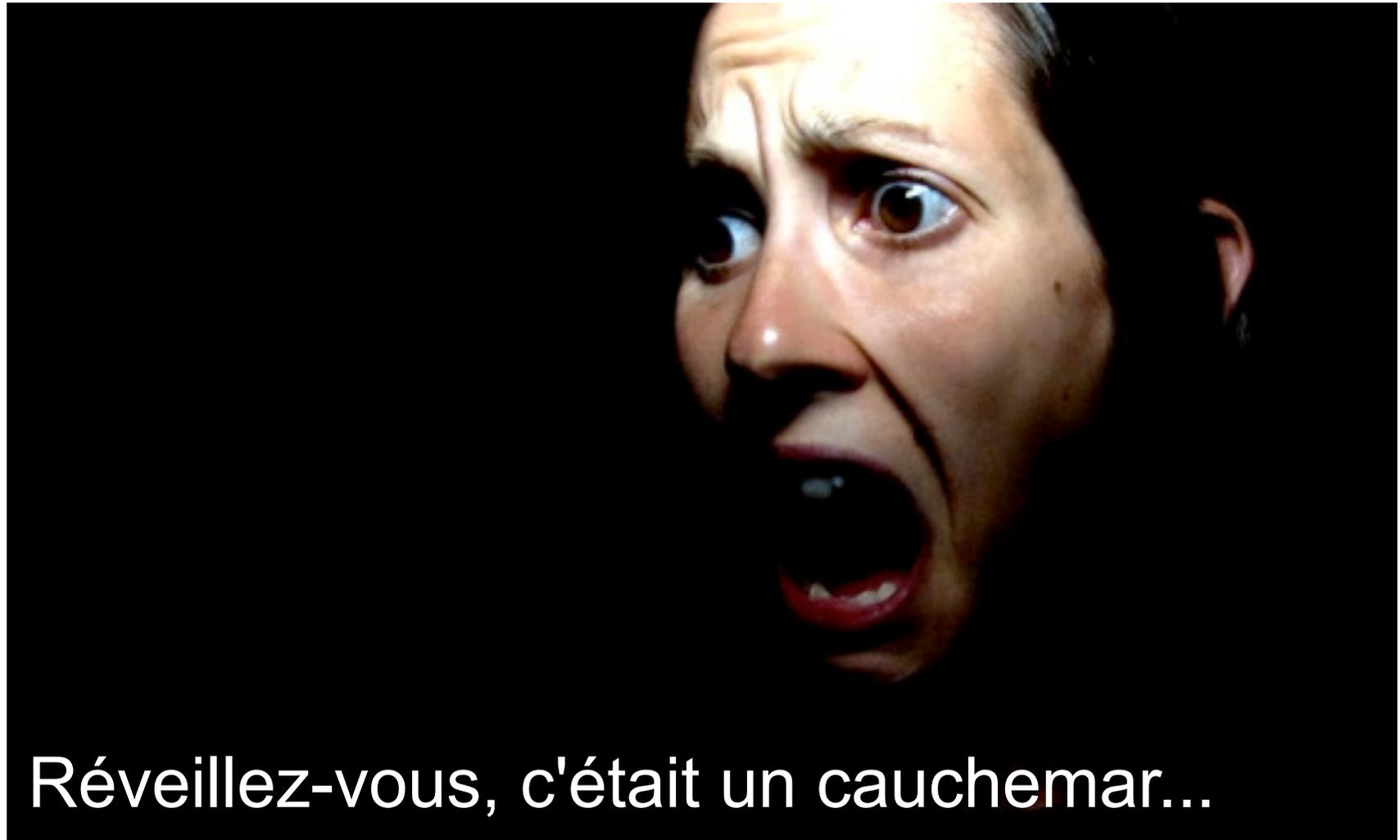
Scénario "optimiste" = le plus probable: appauvrissement massif, difficilement réversible, en richesse et diversité des espèces vivantes. Survie quelques siècles de "poches" d'être vivants

Mais:

- Effet imprévisible sur les grands équilibres populationnels de la disparition brutale de nombreuses espèces d'insectes vivant d'une symbiose bactérienne intestinale fixatrice d'azote
- Poids à court et moyen terme de la précarité de la santé des espèces survivantes (dénutrition, chute fécondité, maladies virales, cancer...). "One health"
- Chaos social tensions et désordres planétaires liés à la pénurie massive en aliments et en eau potable

Et si Pasteur avait finalement raison ?...





Réveillez-vous, c'était un cauchemar...

Les microbes sont toujours là...

PATRICE DEBRÉ

**L'HOMME
MICROBIOTIQUE**



**Les secrets
de l'intestin**

2 00µm