

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

En Sciences de la Nature et de la Vie

Filière Sciences Biologiques

Option Génétique

Thème

Analyse métagénomique *in silico* du microbiote intestinal chez le diabétique.

Réalisé par : M^{elle} Mesbah Ferial

Soutenu le : 28/09/2020

Devant le jury composé de :

Mme ROUAKI.F	MCB	USDB1	Présidente
Mme MOKRANE.A	MCB	USDB1	Examinatrice
Mme EDDAIKRA. A	MCB	USDB1	Promotrice

Promo 2019/2020

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le bon Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et le courage d'accomplir ce modeste travail.

Au terme de ce travail je tiens à exprimer ma plus grande gratitude à madame Eddaikra Atika, Maître de conférences au département de biologie et physiologie cellulaire de la faculté des sciences de la nature FSNV pour m'avoir donné l'occasion de traiter ce modeste travail à travers ses conseils et directives avisés qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Mes vifs remerciements vont également à madame la présidente du jury docteur Rouaki Fayrouz, Maître de conférences au département de biologie et physiologie cellulaire, FSNV d'avoir accepté de présider notre jury de soutenance.

Mes vifs remerciements vont également à madame l'examinatrice, docteur Mokrane Ahlem, Maître de conférences au département de biologie et physiologie cellulaire, FSNV d'avoir accepté d'examiner notre modeste travail.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance à tous les enseignants que j'ai eu durant ce parcours universitaire et qui m'ont appris tant de choses.

Enfin, Je voudrais exprimer ma reconnaissance envers ma famille, mes amis et toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie cet humble travail :

A mes très chers parents, pour les valeurs qu'ils m'ont inculquées, pour leur soutien et encouragement, pour l'éducation et l'amour qu'ils m'ont apporté, qu'ils trouvent dans ce modeste travail ma profonde gratitude et reconnaissance que Dieu vous protège.

A mon grand frère Zoheir, merci d'être mon pilier dans la vie et la personne en qui je peux toujours compter, merci pour ton appui constant.

A toute ma famille, et amis que ce modeste travail exprime ma profonde gratitude pour tous vos encouragements et la confiance que vous avez en moi, un grand merci à ma cousine Meriem d'être toujours présente pour moi et d'être la grande sœur que j'ai toujours voulue.

A Maya et Selma, mes sœurs d'une autre mère merci de partager ma vie dans les bons comme dans les mauvais moments.

A Louisa et Chahira mes amies sans qui ces années universitaires n'auraient pas été le même, merci pour tous ses fous rires et bon moments partagés ensemble.

A mes enseignants je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance pour tous les efforts fournis, le savoir partagé et de m'avoir guidé durant ce parcours universitaire, que ce modeste travail soit l'accomplissement de votre mission.

Résumé

Face à l'émergence du diabète dans le monde et sa propagation qui dépasse de loin le taux de variation génétique, éliminant les gènes en tant que facteurs singuliers de la tendance, les chercheurs se sont tournés vers de nouvelles pistes de recherches et en tenter d'explorer l'implication du microbiote intestinal dans la pathogenèse du diabète et l'élévation du processus inflammatoire qui conduit à la destruction des cellules bêta pancréatiques par la production d'auto anticorps.

Le microbiote intestinal représente une énorme biomasse possédant de très nombreuses fonctions utiles à l'hôte, cette collectivité microbienne a une activité métabolique équivalente à un organe, ce qui le fait considérer par certains comme un véritable « organe » caché.

Nous nous sommes intéressés dans cette étude à l'analyse métagénomique in silico du microbiote intestinal chez le diabétique. Ce travail soulèvera d'une étude comparative de microbiote chez une personne saine et une personne diabétique, dans le but de découvrir des marqueurs microbiens pour le diagnostic précoce du diabète de type 1.

Ce travail a pu être réalisé grâce à l'utilisation de plateforme open source comme Galaxy, possédant plus de 3000 outils intégrés dans son instance principale, ainsi que l'utilisation d'outils bio-informatiques qui nous ont permis de révéler les différences significatives trouvées entre les deux échantillons, les individus atteints de diabète de type 1 présentent un microbiote moins diversifié, une augmentation du phylum des Bactériodètes ainsi qu'une réduction des bactéries productrices d'acides gras à chaîne courtes par rapport aux témoins sains.

Du fait du lien étroit qu'il entretient avec son hôte, et de son implication dans la maturation du système immunitaire, le microbiote intestinal peut devenir la cause de l'émergence de pathologie notamment le diabète de type 1. Comprendre sa physiologie est essentielle pour prévenir la propagation de cette maladie.

Mots clés : microbiote, diabète, métagénomique, in silico, bio-informatique.

ملخص

في مواجهة ظهور مرض السكري في العالم وانتشاره الذي يفوق بكثير معدل الاختلاف الجيني، والقضاء على الجينات كعوامل فردية من هذا الاتجاه، تحول الباحثون إلى مسارات جديدة للبحث في محاولة لاستكشاف مدى انتشار الجراثيم المعوية يشارك في التسبب في مرض السكري وارتفاع عملية الالتهاب التي تؤدي إلى تدمير خلايا بيتا في البنكرياس عن طريق إنتاج الأجسام المضادة الذاتية.

تمثل الجراثيم المعوية كتلة حيوية ضخمة مع العديد من الوظائف المفيدة للمضيف، هذا المجتمع الميكروبي لديه نشاط أيضي مكافئ للعضو، مما يجعله يعتبره البعض "عضوًا" مخفيًا حقيقيًا.

في هذه الدراسة، كنا مهتمين في التحليل الميتاجينومي للسيليكو للميكروبات المعوية لدى مرضى السكر. هذا العمل عبارة عن دراسة مقارنة للميكروبات في شخص سليم ومصاب بالسكري، بهدف اكتشاف العلامات الميكروبية للتشخيص المبكر لمرض السكري من النوع الأول.

أصبح هذا العمل ممكنًا من خلال استخدام منصات مفتوحة المصدر مثل Galaxy، مع أكثر من 3000 أداة مدمجة في المثال الأساسي، بالإضافة إلى استخدام أدوات المعلوماتية التي سمحت لنا بالكشف عن الاختلافات الكبيرة الموجودة بين العينتين. الأفراد المصابون بمرض السكري من النوع 1 لديهم ميكروبات أقل تنوعًا، وزيادة في شعبة العصوانيات وكذلك انخفاض في البكتيريا المنتجة للأحماض الدهنية قصيرة السلسلة مقارنة بالضوابط الصحية.

بسبب ارتباطها الوثيق مع مضيفها، ومشاركتها في نضوج الجهاز المناعي، قد تصبح الجراثيم المعوية سبب ظهور أمراض مثل مرض السكري من النوع 1. إن فهم علم وظائف الأعضاء فيه أمر ضروري لمنع انتشار هذا المرض

الكلمات المفتاحية: الجراثيم، السكري، اختلال التوازن الميكروبي، ميتاجينومات، في السيليكو.

Abstract

Faced with the emergence of diabetes in the world and its spread that far exceeds the rate of genetic variation, eliminating genes as singular factors from the trend, researchers have turned to new paths of research in an attempt to explore the extent to which the intestinal microbiota is involved in the pathogenesis of diabetes, and the elevation of the inflammatory process that leads to the destruction of pancreatic beta cells by the production of autoantibodies.

The intestinal microbiota represents a huge biomass with many useful functions for the host, this microbial community has a metabolic activity equivalent to an organ, which makes it considered by some as a real hidden "organ".

In this study, we were interested in the *in silico* metagenomic analysis of the intestinal microbiota in diabetics. This work is a comparative study of microbiota in a healthy person and a diabetic person, with the aim of discovering microbial markers for the early diagnosis of type 1 diabetes.

This work was made possible through the use of open source platforms such as Galaxy, with more than 3000 tools integrated in its main instance, as well as the use of bioinformatics tools that allowed us to reveal the significant differences found between the two samples. Individuals with type 1 diabetes present a less diverse microbiota, an increase in Bacteroidete phylum as well as a reduction in short chain fatty acid producing bacteria compared to healthy controls.

Because of its close link with its host, and its involvement in the maturation of the immune system, the intestinal microbiota may become the cause of the emergence of pathologies such as type 1 diabetes. Understanding its physiology is essential to prevent the spread of this disease.

Keywords: microbiota, diabetes, metagenomics, *in silico*, bio-informatic.

"Toute maladie commence dans les intestins"

Hippocrate 460 - 370 avt J

Table des matières

Introduction	1
1. Le microbiote intestinal	4
1.1 Composition du microbiote	5
1.2 Dysbiose et diabète de type 1	6
1.3. Le diabète.....	7
1.4. La physiologie du microbiote intestinal	8
1.4.1. La mise en place du microbiote intestinal.....	8
1.4.2. La composition du microbiote intestinal	9
1.4.3. Régulation de la composition du microbiote intestinal	10
1.4.4. La diversité du microbiote intestinal	11
1.4.5. Fonction du microbiote intestinal.....	12
1.5. L'impact des gènes de l'hôte sur le microbiote intestinal	13
1.6. Relation entre microbiote intestinal et diabète	14
1.7. Méthode d'analyse du microbiote intestinal.....	18
1.7.1. Culture in vitro	18
1.7.2. Séquençage de la sous-unité 16S ribosomique.....	18
1.7.3. La métagénomique séquençage global aléatoire de l'ADN (<i>shotgun sequencing</i>) :	20
1.8. La Contribution de la bio-informatique.....	21
1.8.1 La métagénomique	21
1.8.2 La méta transcriptomique	22
1. Matériel et méthodes	24
2.1. Matériel	24
2.1.1. Matériel biologique	24
2.1.2. Matériel non biologique	25
2.2. Méthode.....	25
2.2.1 Obtention des données biologiques	26
2.2.2 Analyse des données par l'outil Galaxy	28

3. Résultats	42
3.1 Résultats de l'analyse par Galaxy.....	42
3.2 Résultats de l'analyse taxonomique	45
3.3 Résultats de l'analyse fonctionnelle	50
3.4 Résultats de l'analyse fonctionnelle et taxonomique	55
4. Discussion	62
Conclusion.....	74
Références bibliographiques	75

Liste des figures

Figure 1 Dysbiose, déséquilibre intestinal. _____	4
Figure 2 Schéma illustrant les différents microbiotes humains et leurs compositions. _____	5
Figure 3 Des bactéries dans l'intestin humain observées au microscope électronique à balayage (image colorisée). _____	6
Figure 4 Aperçu démographique et géographique de la prévalence du diabète. _____	7
Figure 5 Profil d'établissement du microbiote au cours des premiers jours de vie d'un enfant né à terme, par voie basse et allaité. _____	8
Figure 6 Composition du microbiote à travers les différents sites corporels du nourrisson. _____	9
Figure 7 Arbre phylogénétique représentant les différents phyla des groupes bactériens composant le microbiote intestinal. _____	10
Figure 8 Cellules bêta pancréatique humaine. Les noyaux des cellules sont colorés en bleu et l'insuline contenue dans les cellules est en rouge. _____	14
Figure 9 L'interaction des métabolites microbiens et leurs actions. _____	15
Figure 10 Les facteurs environnementaux modulent le microbiote intestinal. _____	17
Figure 11 Méthode d'analyse par métagénomique. _____	20
Figure 12 différentes méthodes d'analyse du microbiote. _____	20
Figure 13 Différents niveaux d'analyse d'une communauté microbienne. _____	21
Figure 14 Framework utilisé pour créer des modèles métaboliques personnalisés des communautés microbiennes intestinales. _____	22
Figure 15 Workflow suivi pour l'étude du microbiome intestinal humain. _____	25
Figure 16 Interface de la base de données GMrepo. _____	27
Figure 17 Recherche lancée avec la base de données GMrepo. _____	27
Figure 18 Interface de la plateforme Galaxy. _____	28
Figure 19 Interface du logiciel FastQC. _____	29
Figure 20 Interface de l'outil Trim Galore sur la plateforme Galaxy. _____	30
Figure 21 Interface de l'outil VSearch Dereplication sur la plateforme Galaxy. _____	31
Figure 22 Interface de l'outil MetaPhlAn indiquant le profil microbien présent au sein de notre échantillon. _____	32
Figure 23 Interface de l'outil Format MetaPhlAn. _____	33
Figure 24 Interface de l'outil de visualisation Krona. _____	34
Figure 25 Etapes de travail avec l'outil GraPhlAn. _____	35
Figure 26 Interface de l'outil SortMeRna. _____	36
Figure 27 Interface de l'outil HUMAnN2. _____	37
Figure 28 Interface de l'outil « Renormalize a HUMAnN2 generated table ». _____	38
Figure 29 Interface de l'outil Unpack pathway abundances to show genes included. _____	39
Figure 30 Interface et réglage de l'outil Group abundances. _____	40
Figure 31 Interface et réglage de l'outil MetaPhlAn2 and HUMAnN2 outputs. _____	41

Figure 32 Résultat du FastQC pour l'échantillon brute du diabète de type 1.	42
Figure 33 Résultat de l'outil Trim Galore de l'échantillon	43
Figure 34 Résultat de l'outil Vsearch d'un 'échantillon sain.	44
Figure 35 Résultat du traitement de l'échantillon (sain) par l'outil MetaPhlan .	45
Figure 36 Résultat du traitement de l'échantillon (DT1) par l'outil MetaPhlan .	45
Figure 37 Abondance des phyla chez l'individu sain	46
Figure 38 Abondance des phyla chez l'individu diabétique.	46
Figure 39 Abondance des classes chez l'individu sain	47
Figure 40 Abondance des classes chez l'individu diabétique.	47
Figure 41 Principales espèces présentes chez l'individu sain.	47
Figure 42 Principales espèces présentes chez l'individu diabétique.	47
Figure 43 Représentation graphique de la population microbienne (échantillon sain).	48
Figure 44 Représentation graphique de la population microbienne (échantillon DT1).	48
Figure 45 Résultat du traitement de l'échantillon sain par GraPhlan .	49
Figure 46 Résultat du traitement de l'échantillon de DT1 par GraPhlan .	49
Figure 47 Résultat de l'outil SortMeRna .	50
Figure 48 Résultat de l'outil SortMeRna .	50
Figure 49 Résultats de l'abondance des familles de gènes dans l'échantillon sain.	51
Figure 50 L'abondance des familles de gènes dans l'échantillon du DT1.	52
Figure 51 Tableau représentant les familles de gènes chez l'individu sain.	53
Figure 52 Tableau représentant les familles de gènes chez l'individu diabétique.	53
Figure 53 Abondance des familles de gènes impliquées dans les voies métaboliques (sain).	54
Figure 54 Abondance des familles de gènes impliquées dans les voies métaboliques (DT1).	54
Figure 55 Tableau représentant les résultats de l'abondance des fonctions moléculaires chez l'individu sain.	55
Figure 56 Tableau représentant les résultats de l'abondance des processus biologiques chez l'individu sain.	56
Figure 57 Tableau représentant les résultats de l'abondance des Composants cellulaires chez l'individu sain.	56
Figure 58 Tableau représentant les résultats de l'abondance des fonctions moléculaires (DT1)	57
Figure 59 Tableau représentant les résultats de l'abondance des processus biologiques (DT1).	57
Figure 60 Tableau représentant les résultats de l'abondance des Composants cellulaires (DT1).	58
Figure 61 Résultats de l'abondance des voies liée à l'abondance des genres/espèces chez l'individu sain.	59
Figure 62 Résultats de l'abondance des voies liée à l'abondance des genres/espèces chez l'individu diabétique.	60
Figure 63 Résultats de l'abondance des familles de gènes liée à l'abondance des genres/espèces (sain).	61
Figure 64 Résultats de l'abondance des familles de gènes liée à l'abondance des genres/espèces (DT1).	61

Liste des abréviations

ADN : *Acide désoxyribonucléique*

AGCC : *Acides Gras à Chaîne Courte*

ARN : *Acide ribonucléique*

ARNr : *Acide ribonucléique ribosomique*

DT1 : *Diabete de Type 1*

FID : *Fédération Internationale de Diabete*

HMP : *Human Microbiome Project*

MetaHit : *Metagenomics of the Human Intestinal Tract*

NGS : *Next Generation Sequencing*

OMS : *Organisation Mondiale de la Santé*

SNP : *Single Nucleotide Polymorphism*

Introduction

Les microbes ont toujours été considérés comme seulement néfastes pour l'Homme, alors que notre corps abrite sur et en lui-même des milliards de microbes en tous genres : bactéries, virus, archées et champignons et qui sont bénéfiques pour la santé de l'Homme. (Thursby and Juge, 2017)

Le microbiote intestinal ; ensemble de microorganismes hébergés dans le tube digestif, comprend près de 100 milles milliards de microorganismes 10 fois plus que le nombre de cellules du corps et pèse plus que le cerveau soit, jusqu'à 2 kg.

Cette composition microbienne est unique à chaque individu et représente une véritable signature bactérienne, en effet chaque individu héberge ainsi une biodiversité qui lui est propre, en gardant tout de même un noyau commun entre les individus. (Arumugam et al., 2011)

C'est à la naissance que la primo-colonisation bactérienne du nouveau-né a lieu, par la suite des facteurs comme la génétique, l'hygiène de vie, l'alimentation, l'environnement, les traitements médicamenteux, influencent la composition et la diversité du microbiote intestinal. (Busnelli, Manzini and Chiesa, 2020)

La majeure partie de ces microorganismes -notamment bactéries- se trouve dans le colon, elles jouent un rôle dans la digestion et l'assimilation de nutriments, produisent des vitamines, nous protèges des pathogènes extérieurs, et participent à la maturation du système immunitaire. Il semble évident que s'il y a le moindre déséquilibre au niveau du microbiote, c'est tout l'organisme qui voit son fonctionnement bouleversé.

En effet des facteurs au-delà de la prédisposition génétique influe sur la propagation de la réponse immunitaire aberrante conduisant à la perte des cellules β . La maladie du diabète est de plus en plus signalée chez les personnes qui ne sont pas porteuses d'allèles génétiques à haut risque.

L'approche utilisé a été de mener une étude comparative entre deux microbiotes d'individu sain et diabétique, afin de découvrir s'il existe une différence significative dans la composition et l'abondance des différents taxons présents.

Ce travail a pu être réalisé grâce à l'utilisation de plateforme open source comme Galaxy, possédant plus de 3000 outils intégrés dans son instance principale. Galaxy permet aux chercheurs de mener à bien leurs études en fournissant un espace de stockage considérable et la possibilité d'utiliser les logiciels intégrés directement à l'instance de Galaxy sans devoir les télécharger.

Les outils bio-informatiques mis à notre disposition nous ont permis de tirer des conclusions sur le microbiote de chaque individu et la communauté microbienne qui l'abrite, en combinant une analyse fonctionnelle et taxonomique.

C'est grâce au progrès et au développement de la biotechnologie que des avancées remarquables ont eu lieu et ont permis l'identification et la classification des milliers d'espèces bactériennes du microbiote tout en permettant de mieux appréhender le rôle du microbiote intestinal et son implication majeure sur la santé de l'être humain. C'est pourquoi il est important de respecter et cultiver cette symbiose pour éviter l'apparition et la propagation de pathologies.

Partie bibliographique

Partie Bibliographique

1. Le microbiote intestinal

Le microbiote se définit par la totalité des micro-organismes vivant dans un environnement donné chez un hôte qui peut être animal, végétal ou une matière pouvant être elle-même d'origine animale ou végétale (Burcelin *et al.* 2016).

On appelle microbiome humain ; la totalité des micro-organismes et de leur matériel génétique collectifs présents dans le corps humain (Brehin, 2017). Ce microbiome est important car diverses pathologies humaines sont associées à une dysbiose terme qui définit un déséquilibre de la flore intestinale qui peut être : une perte de la diversité fonctionnelle et taxonomique du microbiote, une perte d'espèces fondatrices, ou encore une augmentation des pathobiontes (membre opportuniste normalement sous-dominant de la flore commensale) (Fig.1). Parmi ses pathologies nous pouvons citer les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), la maladie de Crohn, l'obésité ainsi que le diabète ...etc.

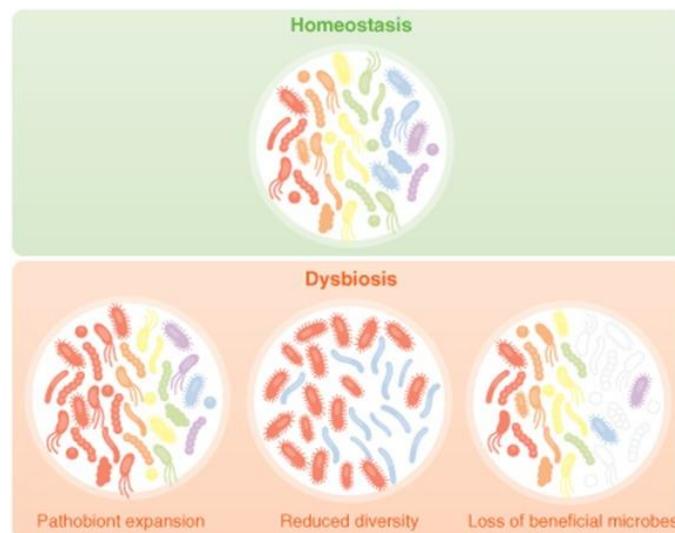


Figure 1 Dysbiose, déséquilibre intestinal.

(Petersen and Round, 2014).

Partie Bibliographique

1.1 Composition du microbiote

Notre organisme est composé de plusieurs microbiotes, on distingue quatre microbiotes humain majeurs : le microbiote cutané, respiratoire, génital et digestif (Fig.2). Ce dernier représente le microbiote le plus dense, le plus complexe et le plus important, il se localise entre la lumière du tube digestif et le mucus présent à la surface de l'épithélium intestinal, il est présent tout au long du tube digestif mais sa concentration est maximale au niveau de l'intestin grêle et du côlon, il se compose de centaines d'espèces bactériennes différentes qui accomplissent quotidiennement diverses tâches pour leur hôte.

Le côlon, à savoir le gros intestin, porterait jusqu'à dix mille milliards de bactéries, le génome bactérien présent dans notre corps dépasse largement le génome humain. Le microbiote intestinal est un parfait exemple de relation symbiotique ; plus qu'une cohabitation c'est un mutualisme entre les bactéries présentes dans l'intestin et leur hôte, ou les deux parties présentent un avantage pour l'autre.

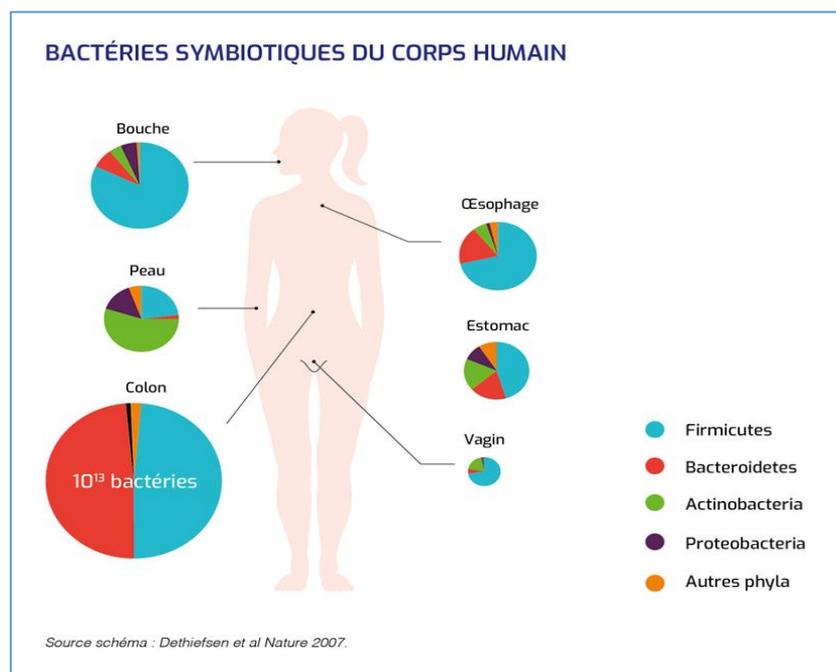


Figure 2 Schéma illustrant les différents microbiotes humains et leurs compositions.

<https://www.leem.org/le-microbiote#>

Le microbiote intestinal se compose principalement de bactéries, en plus de virus, d'archées et de champignons, notre intestin ne compte pas moins de 10^{14} bactéries par gramme de selles, soit jusqu'à dix fois le nombre de cellules que le corps humain abrite.

Partie Bibliographique

Ce microbiote est considéré comme un organisme à part entière de par son rôle dans la régulation de l'homéostasie du corps humain, ainsi que les fonctions qu'il exerce.

C'est un écosystème entier à l'intérieur même du corps humain, le microbiote intestinal est relativement stable et forme un noyau commun qui se décline en plusieurs phylum principaux : Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobactéries., Protéobactéries.

Ces microorganismes sont répartis en 160 espèces bactériennes chez un individu donné parmi le millier d'espèces qui ont pu être identifiées dans différentes cohortes humaines (Landman and Quévrain, 2016) (Fig.3). Une étude en 2007 comptait environ 10^{14} microorganismes recouvrant près de 400 espèces bactériennes. (Florence Campeotto *et al.*, 2007).



Figure 3 Des bactéries dans l'intestin humain observées au microscope électronique à balayage (image colorisée).

<https://www.lelivrescolaire.fr/page/16877016>

1.2 Dysbiose et diabète de type 1

Des études ont montré qu'une déficience en certains types de bactéries peut favoriser une susceptibilité au développement du diabète. A l'inverse, la présence de certaines souches bactériennes peut protéger son hôte de l'apparition du diabète et d'autres troubles métaboliques (Zarrinpar *et al.*, 2018). Il a été rapporté que le transfert d'une seule espèce telle que *Lactobacillus johnsonii* d'animaux résistants au diabète protège les animaux sujets au diabète du diabète de type 1 (Semenkovich *et al.*, 2015).

Partie Bibliographique

En effet des études ont montré que dans le diabète de type 1 (DT1), il existe un déséquilibre dans le microbiote intestinal; ainsi, les enfants atteints de DT1 présentaient des niveaux de Bactériodètes plus élevés que les témoins, qui avaient plutôt des niveaux plus élevés de Prevotella (Mejía-León *et al.*, 2014). D'autres études ont trouvé une réduction des bactéries anaérobies bénéfiques chez les enfants atteints de DT1 et une augmentation des entérobactéries, et ont proposé cela comme un déclencheur immunitaire possible pour l'apparition du DT1 (Soyucen *et al.*, 2014).

I.3. Le diabète

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. Il en résulte une concentration accrue de glucose dans le sang (hyperglycémie).

Le diabète de type 1 est provoqué par une réaction auto-immune au cours de laquelle le système immunitaire de l'organisme attaque les cellules bêta du pancréas, (cellules productrices d'insuline). L'organisme produit alors très peu ou ne produit pas d'insuline. (OMS/https://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/fr/)

Selon les estimations de la FID, 578 millions d'adultes seront atteints de diabète d'ici 2030 et 700 millions d'ici 2045. (International diabetes federation <https://diabetesatlas.org/fr/sections/worldwide-toll-of-diabetes.html>).

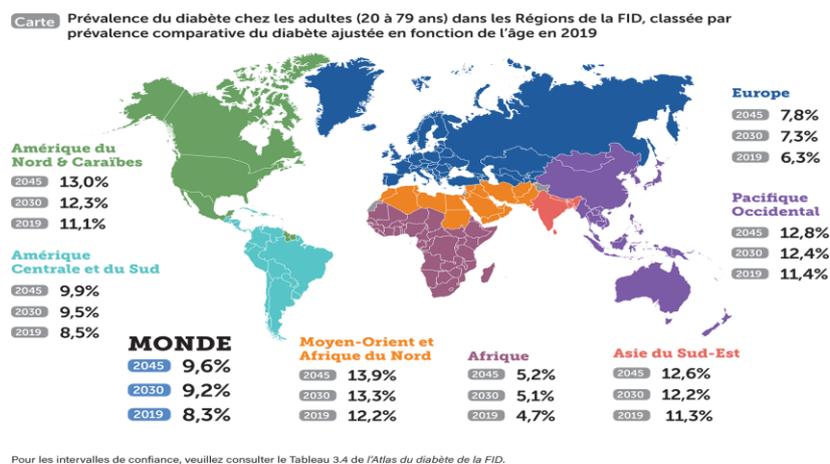


Figure 4 Aperçu démographique et géographique de la prévalence du diabète.

1.4. La physiologie du microbiote intestinal

I.4.1. La mise en place du microbiote intestinal

Bon nombre de facteurs influencent la mise en place du microbiote intestinal : le mode d'accouchement (voie basse ou césarienne), l'environnement, le terme de naissance, le développement après la naissance, l'alimentation...

En effet, le fœtus est stérile lorsqu'il est dans l'utérus et devient colonisé par des bactéries à la naissance, lors d'une naissance par voie basse, les nouveau-nés sont rapidement colonisés par les microbiotes vaginal et fécal de leur mère, tandis que les enfants nés par césarienne sont quant à eux initialement colonisés par les bactéries de l'air, des vêtements et de la peau de leur mère et du personnel soignant. (Chane Yack, Microbiote intestinal et diabète, 2017).

La naissance par césarienne, comparativement à l'accouchement par voie basse, conduit le plus souvent à une acquisition retardée des groupes microbiens dominants habituels et à la présence fréquente de bactéries environnementales (Doré and Corthier, 2010). Le mode d'accouchement détermine la primo colonisation du tractus digestif du nouveau-né. (Fig.5)

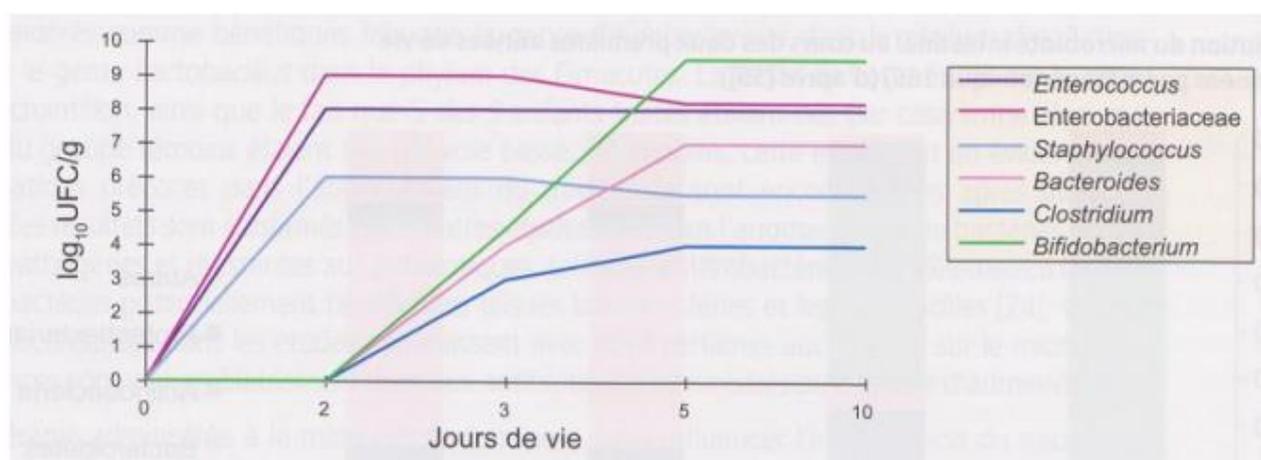


Figure 5 Profil d'établissement du microbiote au cours des premiers jours de vie d'un enfant né à terme, par voie basse et allaité.

(CHEVALIER, 2018)

Les différents groupes bactériens colonisent le tube digestif selon un schéma assez organisé ; les premières bactéries colonisant l'intestin, dites « aérobies » consomment le dioxygène présent dans le tube digestif.

Partie Bibliographique

Lorsqu'il est épuisé, elles sont remplacées progressivement par d'autres bactéries « anaérobies » ne proliférant qu'en absence de dioxygène. Les scientifiques diffèrent à ce sujet mais c'est généralement vers l'âge de 3, 4 ans que le microbiote atteint une stabilité fonctionnelle.

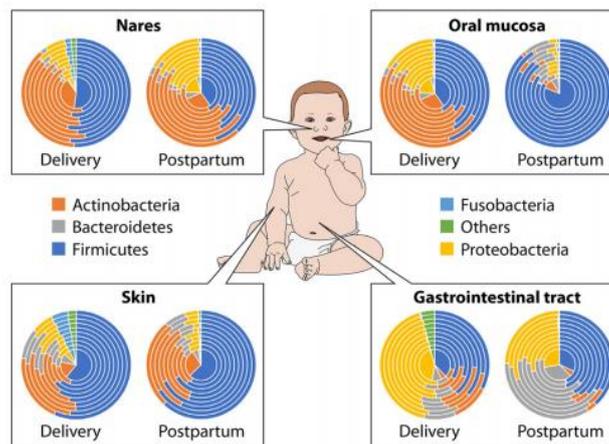


Figure 6 Composition du microbiote à travers les différents sites corporels du nourrisson.

(Milani *et al.*, 2017)

1.4.2. La composition du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est composé de centaines de billions 10^{14} de microorganismes, représentant dix fois plus de cellules que celles formant le corps humain. Les bactéries composant ce microbiote appartiennent à 6 principaux phyla du domaine Bacteria (Fig.7) :

- Firmicutes.
- Bacteroidetes.
- Proteobacteria.
- Fusobacteria.
- Verrucomicrobia.
- Actinobacteria.

Les Firmicutes et les Bacteroidetes constituent les deux phyla dominants du microbiote avec une représentativité respective de 60–75 % et 30–40 % (Landman et Quévrain, 2016).

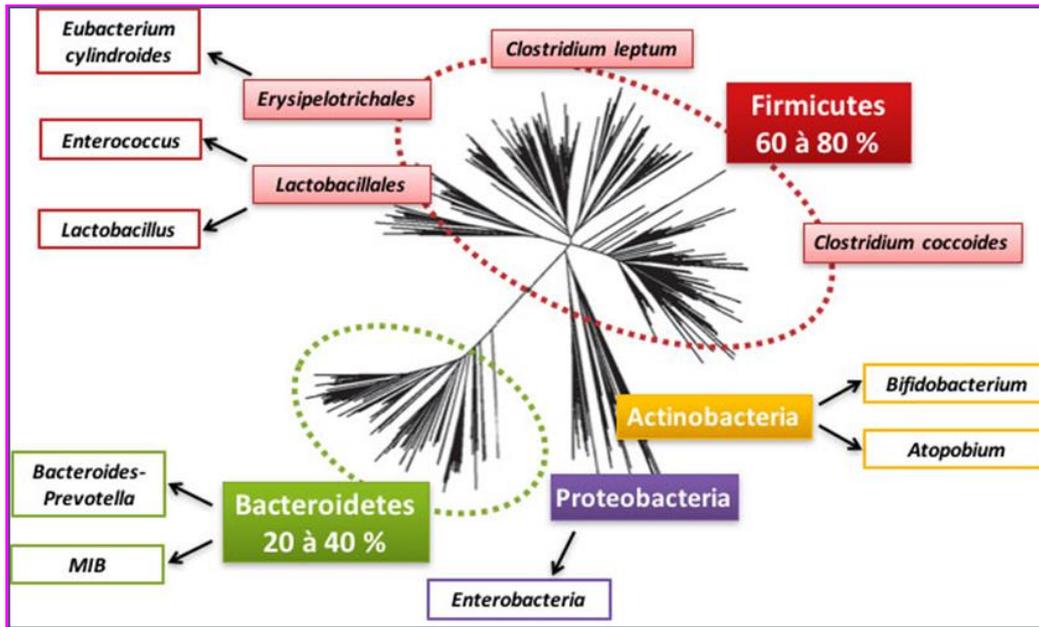


Figure 7 Arbre phylogénétique représentant les différents phyla des groupes bactériens composant le microbiote intestinal.

(CHEVALIER, 2018)

Si le microbiote intestinal présente une grande diversité taxonomique, la diversité métabolique semble plus restreinte. Malgré des profils taxonomiques différents, on retrouve dans chaque individu un « noyau fonctionnel » permettant à chacun de conserver les mêmes fonctions métaboliques, on peut expliquer cela par le fait que des gènes de bactéries différentes codent pour les mêmes fonctions, permettant ainsi au microbiote intestinal d'assurer ses fonctions premières. (Chevalier, 2018).

1.4.3. Régulation de la composition du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est un écosystème dynamique, dont la composition varie selon bon nombre de facteurs tels que :

- La génétique de l'hôte (voir plus loin).
- L'alimentation : alimentation riche en gras, sucre, fibre, déséquilibrée...
- Traitement médicamenteux (notamment antibiotique) : ou on observe l'appauvrissement du microbiome c'est à dire une forte diminution de la diversité des micro-organismes présents.
- Les changements de régimes alimentaires drastiques (régime).
- Le mode d'accouchement : comme vu précédemment, le mode d'accouchement détermine la primo colonisation du tractus digestif.

Partie Bibliographique

Toutefois, le microbiote tente toujours de faire face aux perturbations pour se rapprocher de sa composition initiale.

De nombreuses observations illustrent par conséquent la capacité du microbiote intestinal dominant à résister aux modifications. L'administration d'une souche allochtone comme un probiotique ou d'un substrat exogène non absorbable comme un prébiotique conduit souvent à des modifications transitoires de l'équilibre microbien. Même un stress majeur, comme l'administration d'un antibiotique, peut être suivi du retour de la communauté à son profil initial d'espèces dominantes en un mois environ (De La Cochetière *et al.*, 2005), (Dethlefsen *et al.*, 2008). Cette capacité à récupérer sa constitution initiale après un stress, connue sous le nom de résilience, suggère une adaptation finement réglée du microbiote à l'intestin et même à l'hôte qui l'héberge. (Doré and Corthier, 2010).

1.4.4. La diversité du microbiote intestinal

Les phyla dominants vont constituer le noyau commun, on peut néanmoins noter une certaine hétérogénéité individuelle en ce qui concerne l'espèce la plus abondante dans un microbiote intestinal donné. L'analyse des genres bactériens ou des groupes phylogénétiques permettent cependant d'identifier des groupes dominants chez tous les individus.

Cette dominance par certains genres bactériens peut être classée en entérotipe autrement dit une signature bactérienne intestinale ; une composition spécifique en certains genres bactérien :

- Bacteroides : type 1, caractérisé par un nombre élevé de Bacteroides (phylum des Bacteroidetes), et associé aux régimes riches en viandes (lipides saturés) et protéines.
- Prevotella : type 2, caractérisé par la prédominance de Prevotella (phylum des Bacteroidetes), lié aux régimes riches en céréales (sucres et fibres).
- Ruminococcus : type 3, dominé par Ruminococcus (phylum des Firmicutes), favorisé par la consommation d'alcool et de lipides polyinsaturés. (Wu *et al.*, 2011).

Parmi les nombreux gènes bactériens collectivement codés par le microbiote, un noyau de gènes toujours présents est considéré nécessaire à l'adaptation des bactéries dans l'écosystème digestif.

Une étude publiée en 2016 (Turpin *et al.*, 2016) réalisé sur 1561 sujets dans le cadre du projet GEM (Genetic Environmental Microbial), des échantillons de selles ont été prélevés pour le séquençage de l'ADN ribosomal 16S, les trois phylums bactériens dominants dans les échantillons fécaux de la cohorte étaient des Firmicutes (abondance relative de $64,4 \pm 13,9\%$), Bacteroidetes ($26,7 \pm 14,8\%$), et Actinobactéries ($5,0 \pm 5,0\%$).

Partie Bibliographique

Des 127 genres identifiés, Blautia, Coprococcus, Ruminococcus, Bacteroides, Dorea, Roseburia, Faecalibacterium, Streptococcus et Oscillospira ont été trouvés chez tous les sujets. Les 118 genres restants ont été observés de façon irrégulière entre les sujets, conformément à l'idée d'un microbiome central qui coexiste avec des taxons bactériens très variables dans le microbiome intestinal humain.

1.4.5. Fonction du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est l'un des microbiotes les plus importants du corps humain du fait de son impact direct sur la santé de l'Homme et de ce qu'il accomplit.

Parmi les rôles qu'il exerce :

- Contribue à la digestion et dégradation des aliments ingérés, certaines enzymes humaines ne peuvent pas dégrader certains aliments (la dégradation de certaines molécules nécessite l'implication du microbiote).
- Produit de l'énergie pour le corps (métabolisme).
- A un rôle dans le maintien et la maturation du système immunitaire : De par sa présence il joue un rôle dans la maturation du système immunitaire, et représente une barrière contre une colonisation par des agents pathogènes.
- Première ligne de défense contre les agents pathogènes : En maintenant les populations d'agents pathogènes à un niveau qui les empêche d'exprimer une virulence.
- La colonisation par des microorganismes commensaux est essentielle au développement immunitaire.
- La régulation du stockage des lipides a été décrite chez la souris et son existence chez l'Homme a été suggérée.
- La production de composés bénéfiques :
 - Tels que les AGCC (acides gras à chaîne courte).
 - Production de vitamines : le microbiote participe à la synthèse vitaminique, les bactéries de la flore peuvent notamment produire de la biotine (vit B8), des folates (vit B9) et de la vitamine B12.
 - Elles participent également à la production de vitamine K, vitamine essentielle de la coagulation.
- Le microbiote peut de plus intervenir dans le métabolisme des xénobiotiques.

Partie Bibliographique

Les propriétés et les effets de ces microbiotes sont la résultante de l'action des espèces qui les composent, cette action dépend, à l'évidence, des capacités biologiques encodées dans les gènes de ces espèces. (Weissenbach and Sghir, 2016).

1.5. L'impact des gènes de l'hôte sur le microbiote intestinal

Les changements taxonomiques et fonctionnels de la composition du microbiome intestinal ont été impliqués dans de multiples maladies humaines. Bien que la communauté microbienne soit affectée par des facteurs environnementaux, on s'attend également à ce que l'hôte ait un certain degré d'influence génétique sur le microbiome. Des études du style *Genome-wide association study* (GWAS) révèlent que les variantes de nombreux gènes humains impliqués dans l'immunité et l'architecture intestinale sont associées à une composition modifiée du microbiome intestinal.

Une étude en 2015 (Blekhman *et al.*, 2015) faite sur 93 individus, a pu identifier des associations significatives entre la variation génétique de l'hôte et la composition du microbiome dans 10 des 15 sites corporels testés. En effet il existe un soutien pour une composante génétique de l'hôte dans la structuration des communautés microbiennes humaines.

Par exemple, les polymorphismes mononucléotidiques (SNP) dans le gène MEFV (un gène humain qui fournit des instructions pour fabriquer une protéine appelée pyrine. La pyrine est produite dans certains globules blancs qui jouent un rôle dans l'inflammation et dans la lutte contre les infections) sont associés à des changements dans la structure de la communauté bactérienne intestinale humaine (Khachatryan *et al.*, 2008).

Les Chercheurs ont également montré qu'un polymorphisme de perte de fonction dans le gène FUT2, qui est un facteur de risque connu de la maladie de Crohn, peut moduler le métabolisme énergétique du microbiome intestinal (Tong *et al.*, 2014).

Une étude en 2016 (Turpin *et al.*, 2016) parle d'héritabilité de taxons bactériens, un sous-ensemble de 270 personnes apparentées (principalement des frères et sœurs) de 123 familles de cette cohorte a été utilisé pour estimer l'héritabilité du microbiome, les analyses de l'héritabilité du microbiote ont montré que des facteurs génétiques additifs contribuaient à l'abondance de 94 des 249 taxons bactériens totaux.

1.6. Relation entre microbiote intestinal et diabète

Une étude récente utilisant un modèle de rat a révélé des différences significatives au moment de l'apparition du diabète dans les communautés bactériennes responsables de la modulation du diabète de type 1. Une hypothèse a alors été émise que le diabète de type 1 chez l'Homme pourrait également être lié à un microbiote intestinal spécifique.

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune chronique qui résulte de la destruction des cellules β pancréatiques provoquée par le dysfonctionnement de lymphocytes T (cellules du système immunitaire) qui se mettent à identifier les cellules β du pancréas comme des cellules étrangères à l'organisme du patient, et à les éliminer.

Chez les personnes souffrant de diabète de type 1 une élévation prolongée de la concentration de glucose dans le sang est provoquée par une production insuffisante – voire nulle – d'insuline ; une hormone produite par les cellules spécialisées du pancréas : les cellules β des îlots de Langerhans.

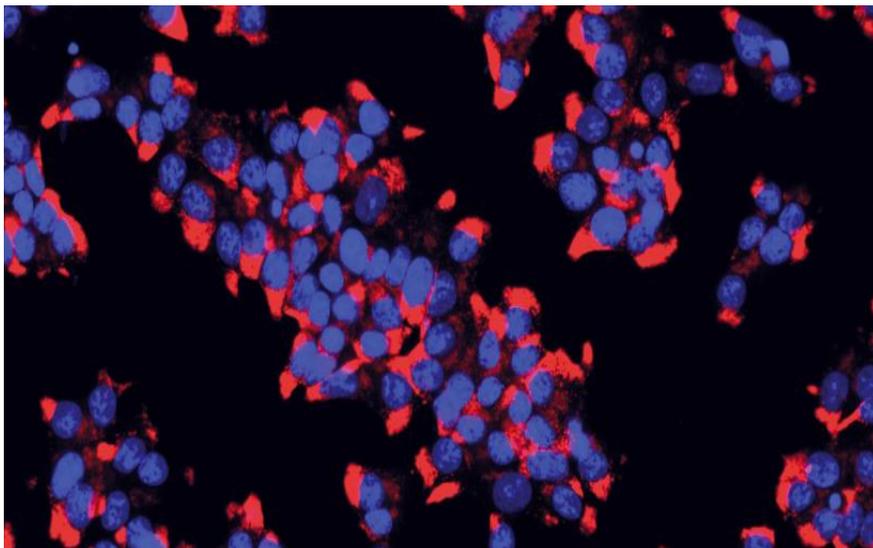


Figure 8 Cellules bêta pancréatique humaine. Les noyaux des cellules sont colorés en bleu et l'insuline contenue dans les cellules est en rouge par technique de fluorescence. (Ravassard et al., 2012) (©INSERM/U845/UMRS975/ENDOCELLS SAR)

Les spécialistes considèrent aujourd'hui le diabète de type 1 comme un continuum composé de trois stades :

Stade 1 : La présence d'autoanticorps dans le sang révèle une activation du système immunitaire contre les cellules β du pancréas, mais le patient est asymptomatique car la plupart des cellules β productrices d'insuline sont encore présentes et fonctionnelles et compensent pour le manque de cellules β .

Partie Bibliographique

Stade 2 : Le patient est toujours asymptomatique mais des tests métaboliques fins peuvent révéler une altération de la fonction pancréatique (un retard de sécrétion d'insuline).

Stade 3 : Les symptômes d'hyperglycémie amènent le patient à consulter : à ce stade, un nombre critique de cellules β a déjà été détruit. (Dossier réalisé avec la collaboration de Roberto Mallone, 10.04.19).

Pour illustrer le lien entre diabète de type 1 et microbiote, prenant l'exemple des acides chaîne courte (AGCC) qui sont produits par fermentation de fibres alimentaires ; ces molécules agissent à la fois comme substrats énergétiques utilisés par les colonocytes et l'hôte, et comme ligands pour les récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) (Melhem *et al.*, 2019). Ces GPCR, sous stimulation SCFA (*Short Chain Fatty Acid*), induisent la production du peptide YY (PYY), qui peut moduler la motilité intestinale et l'absorption des nutriments.

Les membres de la famille GPCR servent de lien entre le microbiote, système immunitaire et épithélium intestinal par lesquels tous ces composants participent de manière cruciale au maintien de l'homéostasie intestinale. L'altération de leur signalisation peut provoquer des maladies inflammatoires notamment le diabète

Il a été estimé que 10% des métabolites présents dans le sang des mammifères proviennent du microbiote intestinal et ces composés, dont les acides gras à chaîne courte (AGCC) principalement l'acétate, le propionate et le butyrate sont présentes dans la plupart des tissus hôtes (Fig.9).

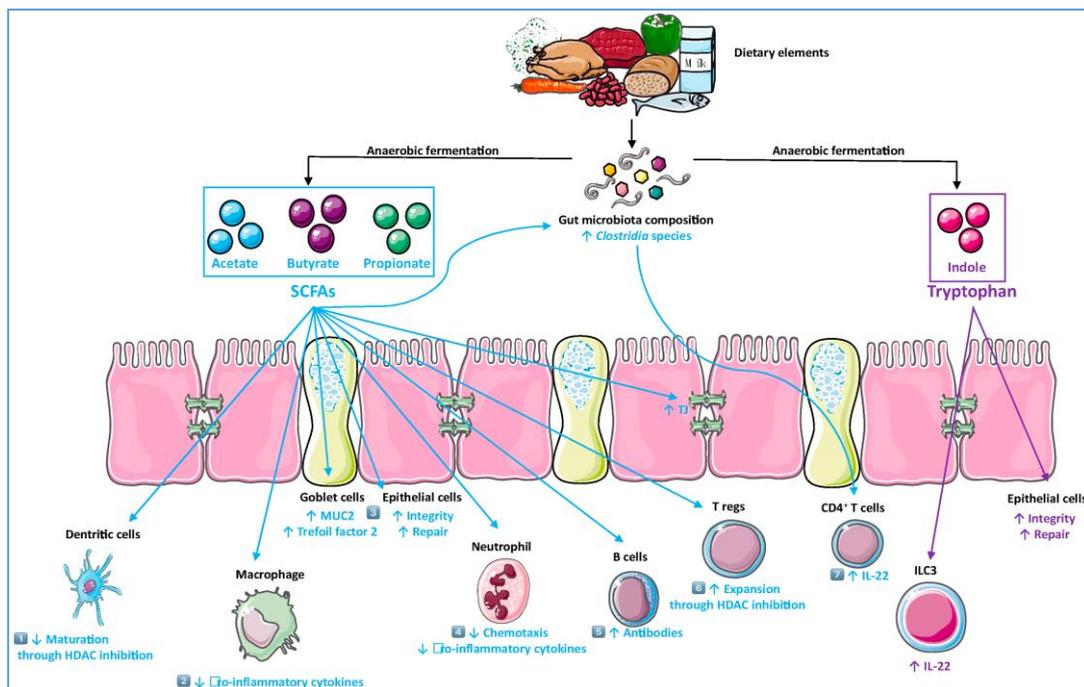


Figure 9 L'interaction des métabolites microbiens et leurs actions.

(Melhem *et al.*, 2019)

Partie Bibliographique

Les Acides gras à chaîne courtes (AGCC) trouvent leur origine dans les fibres alimentaires qui sont fermentées par le microbiote intestinal. Ces AGCC vont exercer des effets anti-inflammatoires, tels que (1) l'inhibition de la maturation des cellules dendritiques, (2) la réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires par les cellules immunitaires innées, (3) la promotion de la barrière intestinale via les cellules épithéliales et les cellules caliciformes, (4) réduisant l'infiltration de neutrophiles, (5) facilitant la production d'anticorps par les cellules B, (6) l'expansion des T régulateur, (7) améliorent l'intégrité épithéliale en augmentant les espèces de Clostridia dans l'intestin qui favorisent la production d'IL-22 par les cellules T CD4 +, Le tryptophane est dégradé en dérivés d'indole. Indoles exerce un effet anti-inflammatoire en favorisant la barrière épithéliale intestinale en soutenant les cellules lymphoïdes innées de type 3, les principaux producteurs d'IL-22. (Melhem *et al.*, 2019).

Il a récemment été démontré que les sujets atteints de DT1 hébergent des profils de microbiome intestinal distincts. Cependant le mécanisme reliant l'homéostasie microbienne intestinale au développement du T1D est inconnu. Des bactéries intestinales spécifiques telles que *Bacteroides dorei* (BD) et *Ruminococcus gnavus* (RG) montrent une abondance nettement accrue avant le développement de l'auto-immunité. Une hypothèse est que ces bactéries pourraient traverser la barrière intestinale endommagée et que leurs constituants provoquent une réponse des îlots humains qui provoque des anomalies métaboliques et une inflammation. Cette hypothèse a été testée par Abdellatif et al dans une étude réalisée en 2019 en exposant in vitro des îlots humains à BD et RG, après quoi une analyse ARN-Seq a été effectuée. Les bactéries ont altéré l'expression de nombreux gènes d'îlots.

Les gènes couramment régulés à la hausse par ces bactéries étaient les cytokines, les chimiokines et les enzymes, suggérant un effet significatif des bactéries intestinales sur les voies antimicrobiennes et biosynthétiques des îlots.

De plus, chaque bactérie présentait un ensemble unique de gènes différentiellement exprimés (DEG). L'analyse des voies d'ingéniosité des DEG a révélé que les principales voies et maladies activées comprenaient la signalisation TREM1 et la réponse inflammatoire, illustrant la capacité des bactéries à induire une inflammation des îlots.

Les données de l'étude (Abdellatif *et al.*, 2019) démontrent que les îlots produisent une réponse antibactérienne complexe. La réponse comprend à la fois des aspects symbiotiques et pathogènes.

Partie Bibliographique

Un autre exemple est cette étude en 2013 (Murri *et al.*, 2013) réalisée sur des enfants qui a pour objectif de quantifier et d'évaluer la différence dans la composition du microbiote intestinal entre les enfants atteints de diabète de type 1 et les enfants en bonne santé. Leurs principaux résultats ont montré que chez les enfants atteints de diabète, le nombre bactérien d'Actinobactéries et Firmicutes, et le rapport Firmicutes/Bacteroidetes ont tous été significativement diminués, la quantité de Bacteroidetes augmentant significativement par rapport aux enfants en bonne santé.

Au niveau du genre, une augmentation significative du nombre de Clostridium, Bacteroides et Veillonella et une diminution significative du nombre de Lactobacillus, Bifidobacterium, Blautia coccoides / Eubacterium rectale group et Prevotella chez les enfants atteints de diabète.

Il a également été constaté que le nombre de Bifidobacterium et Lactobacillus, et le rapport Firmicutes à Bacteroidetes étaient corrélés négativement et significativement avec le taux de glucose plasmatique tandis que la quantité de Clostridium était corrélée positivement et significativement avec le niveau de glucose plasmatique dans le groupe diabétique. La quantité de bactéries essentielles au maintien de l'intégrité intestinale était significativement plus faible chez les enfants diabétiques que chez les enfants sains.

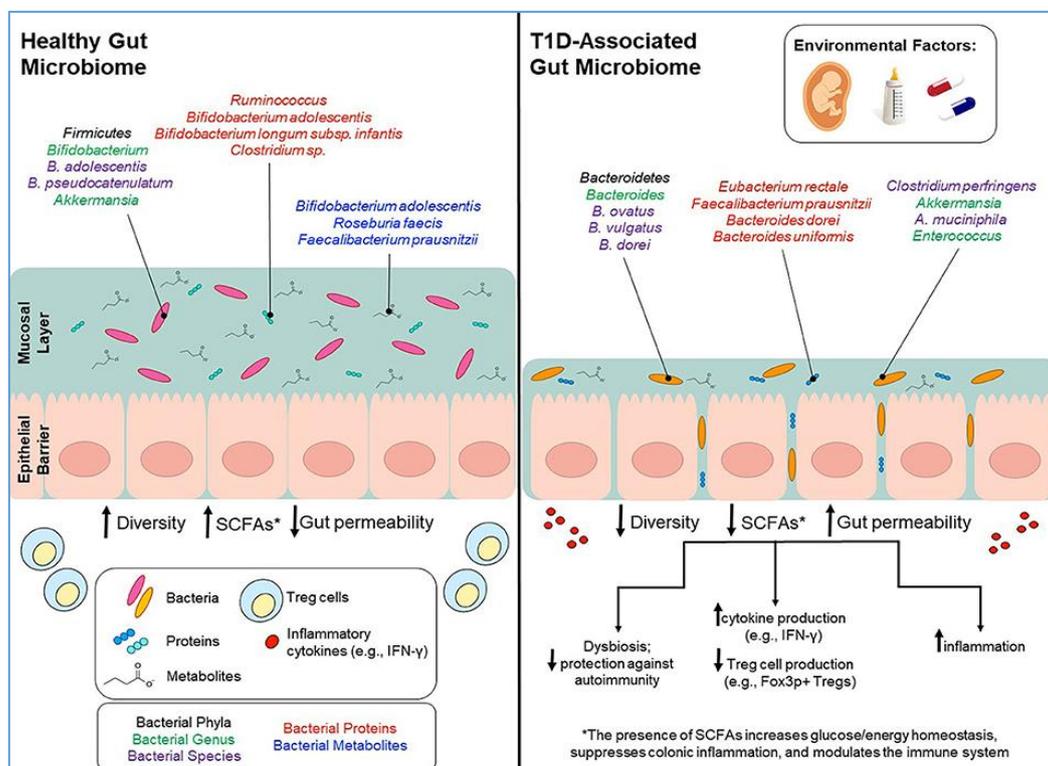


Figure 10 Les facteurs environnementaux modulent le microbiote intestinal.

(Dedrick *et al.*, 2020)

1.7. Méthode d'analyse du microbiote intestinal

Plusieurs méthodes existent pour analyser le microbiote intestinal, et chacune présente avantages comme inconvénients.

1.7.1. Culture *in vitro*

Pendant longtemps la mise en culture fut le seul moyen disponible d'identifier et d'étudier la population microbienne, technique qui se fait par l'intermédiaire du microbiote fécal qui permet d'isoler une souche bactérienne et de la cultiver. Elle consiste à cultiver des échantillons de selles dans un large panel de conditions différentes, en faisant varier les milieux, et les atmosphères.

Il fut assez vite constaté que certaines bactéries observées au microscope dans des mélanges ne se retrouvaient pas à la suite des tentatives de culture (Weissenbach and Sghir, 2016) les bactéries anaérobies strictes restent incultivables. Seulement 30% du microbiote est cultivable ce qui limite l'identification de toutes les souches présentes dans le microbiote, de plus les milieux de culture ne sont pas adaptés pour la culture de toutes les souches bactériennes, les conditions de conservation des échantillons, la composition peut être altérée entre toutes les étapes de manipulation.

Moore et Holdeman (Moore and Holdeman, 1974) ont ainsi identifié en 1974 cinq genres bactériens dominants :

- Bacteroides (Phylum des Bacteroidetes).
- Eubacterium (Phylum des Actinobacteria).
- Fusobacterium (Phylum des Firmicutes).
- Peptostreptococcus (Phylum des Firmicutes).
- Bifidobacterium (Phylum des Actinobacteria).

1.7.2. Séquençage de la sous-unité 16S ribosomique

Les progrès des techniques de biologie moléculaires ont permis une nouvelle approche pour l'étude du microbiote intestinal. La majorité des techniques moléculaires sont basées sur l'utilisation de l'acide ribonucléique ribosomique 16S (ARNr 16S).

Cette structure est présente chez toutes les bactéries, elle présente des régions très conservées et d'autres hypervariables, leur comparaison va donc permettre de différencier les espèces. (Dethlefsen *et al.*, 2008).

Le séquençage consiste à extraire l'ADN des bactéries puis à amplifier l'ADNr 16S codant pour l'ARNr 16S et à le séquencer.

Partie Bibliographique

Deux grands projets; MetaHit (Metagenomics of the Human Intestinal Tract) en Europe (Ehrlich, 2011) et the Human Microbiome Project (HMP) (Nash *et al.*, 2017), (Proctor *et al.*, 2019) ont utilisés des nouvelles techniques de séquençage afin de constituer une base de données référençant les gènes du métagénome intestinal humain. En comparant les séquences obtenues à cette base il est possible d'identifier les bactéries en présence.

Le gène ARNr 16S est un gène qui code pour le ribosome (la petite sous unité) gène hautement conservé, structure présente chez toutes les bactéries, il contient également des régions hypervariables ; régions qui procurent une signature spécifique des espèces. Les régions hypervariables contiennent les informations phylogénétiques nécessaire pour différencier les espèces entre elles. Il est à noter que le nombre de copie de l'ARNr 16S diffère selon l'espèce. (Johnson *et al.*, 2019)

Le protocole consiste à collecter les échantillons à analyser (malades, sains), de poursuivre avec une amplification du gène de l'ARNr 16S, vient ensuite le séquençage NGS (Next Generation Sequencing) ce qui va permettre de créer des bases de données référençant les gènes du métagénome intestinal humain.

L'ARN ribosomal est utilisé car il représente un marqueur phylogénétique, il est extrêmement conservé et universel. En effet les gènes d'ARN ribosomiques constituent un identifiant très stable et fiable des organismes procaryotes et eucaryotes, car ils jouent un rôle central dans la synthèse protéique, ce qui limite leur dérive évolutive et rend pratiquement impossible leur transfert horizontal. (Weissenbach and Sghir, 2016).

Partie Bibliographique

1.7.3. La métagénomique séquençage global aléatoire de l'ADN (*shotgun sequencing*) :

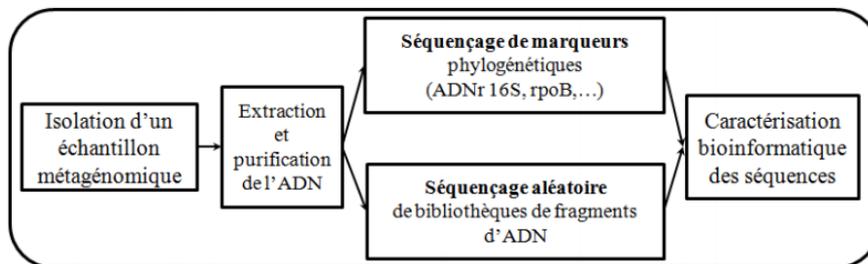


Figure 11 Méthode d'analyse par métagénomique.

(Almeida, 2013)

Il est possible de séquencer l'ensemble de l'ADN microbien du microbiote (et pas seulement les gènes codant pour l'ARNr 16S) afin de déterminer les gènes microbiens qui le composent et, donc, de mieux caractériser les micro-organismes présents et leurs fonctions (métagénomique). (Fig.11).

Ces nouvelles stratégies de dénombrement d'espèces visent à caractériser le matériel génétique contenu dans un échantillon sans passer par des étapes d'isolement cellulaire les méthodes de fragmentation aléatoire de l'ADN et séquençage sur des machines de seconde génération (ou NGS pour *Next Generation Sequencing*). (Weissenbach and Sghir, 2016).

Cette méthode permet de séquencer directement le contenu global de la partie dominante et sous-dominante des génomes de la flore microbienne.

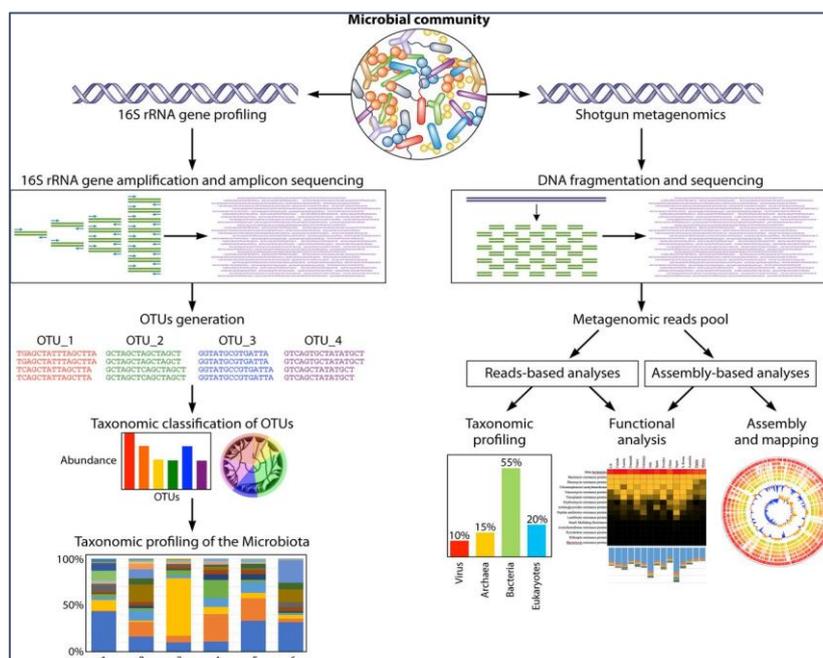


Figure 12 différentes méthodes d'analyse du microbiote.

(Milani et al., 2017)

1.8. La Contribution de la bio-informatique

Au cours de ces trente dernières années, la récolte de données en biologie a connu un énorme boom quantitatif grâce à l'avènement des nouvelles technologies servant à mieux comprendre l'ADN et d'autres composants du vivant. Les chercheurs se sont retrouvés donc confrontés à un nouveau problème ; la gestion et le stockage de ces données accumulées, c'est là que la bio-informatique -la rencontre entre informatique et biologie- a vu le jour et s'est avéré être d'une immense aide en vue de sa capacité de stockage et d'analyse de ces données.

La bio-informatique sert donc à stocker, traiter et analyser de grandes quantités de données biologiques. Le but est de mieux comprendre et mieux connaître les phénomènes et processus biologiques. (Institut Suisse de Bioinformatique).

1.8.1 La métagénomique

Les microbiomes jouent un rôle essentiel dans la santé, les maladies et l'environnement de l'hôte. L'étude du microbiote et des communautés microbiennes a été facilitée par l'avènement des nouvelles technologies notamment les techniques de séquençage.

Il est possible maintenant d'étudier la dynamique du microbiome en étudiant le contenu en ADN (métagénomique), l'expression de l'ARN (méta transcriptomique), l'expression de ses protéines (méta protéomique) ou petites molécules (métabolomique) (Fig.13) :

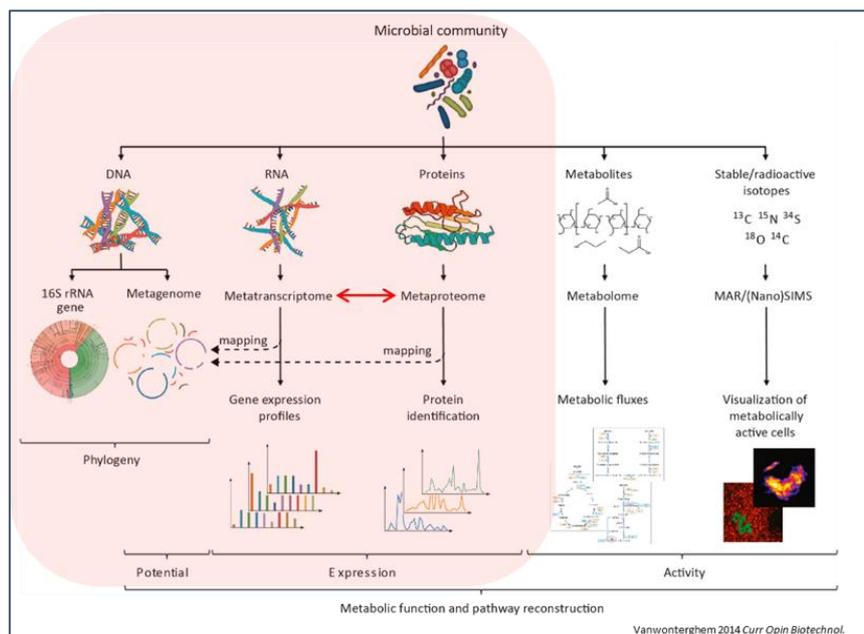


Figure 13 Différents niveaux d'analyse d'une communauté microbienne.

(Jagtap, et al ; 2018)

Partie Bibliographique

1.8.2 La méta transcriptomique

L'analyse méta-transcriptomique permet de comprendre comment le microbiome répond à l'environnement en étudiant l'analyse fonctionnelle des gènes exprimés par le microbiome. Il peut également estimer la composition taxonomique de la population microbienne. Il fournit aux scientifiques la confirmation des cadres de lecture ouverts (ORF) prédits et l'identification potentielle de nouveaux sites de transcription et / ou de traduction à partir de génomes microbiens. Le méta-transcriptomique peut permettre une génération plus complète de bases de données de séquences protéiques pour la méta-protéomique. (Weissenbach and Sghir, 2016).

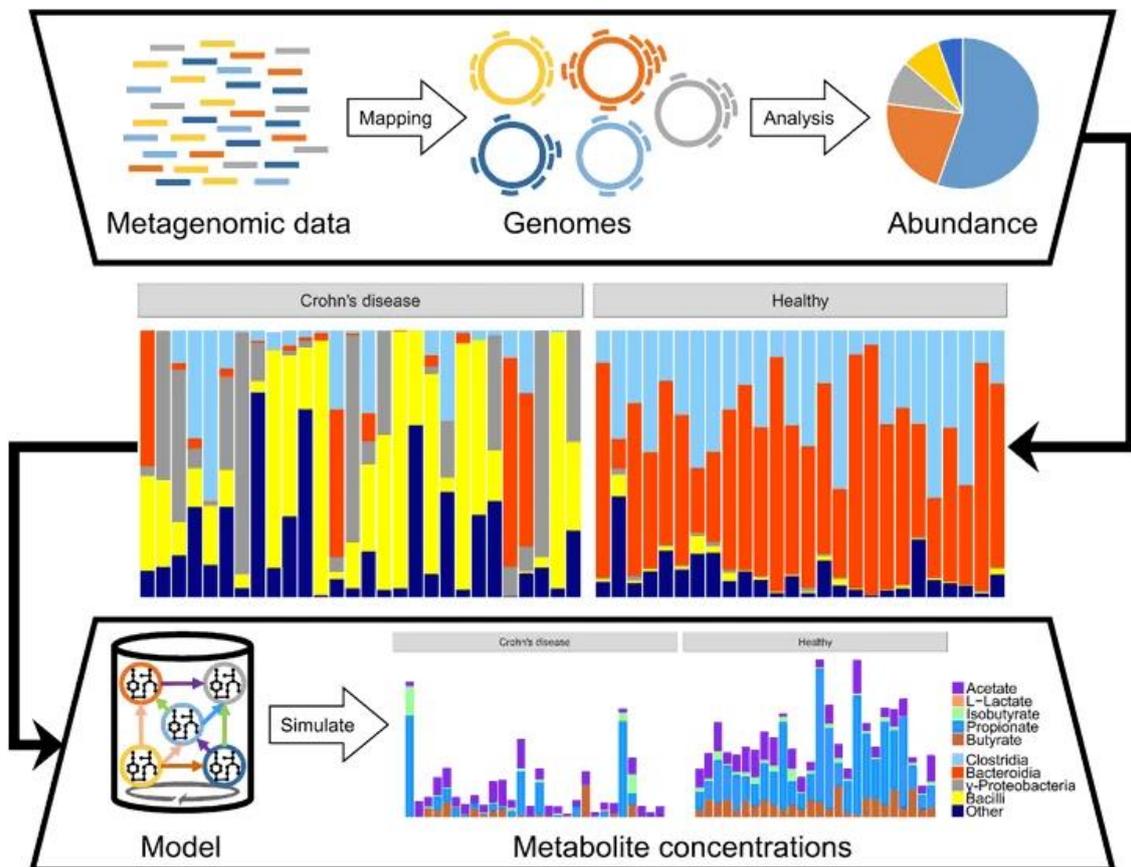


Figure 14 Framework utilisé pour créer des modèles métaboliques personnalisés des communautés microbiennes intestinales.

(Bauer and Thiele, 2018)

Partie

Matériel et Méthodes

Matériel et Méthodes

1. Matériel et méthodes

Notre étude est une étude *in silico* réalisé pendant une période de 6 mois allant du mois d'avril 2020 à Septembre 2020.

Notre principal objectif est d'identifier des marqueurs microbiens pour le diagnostic précoce du diabète de type 1 en comparant le microbiote d'individu sain et de diabétique et en utilisant les outils bio-informatiques à notre disposition pour mener à bien cette étude comparative.

Ce présent travail est une thématique proposée par Mme Eddaikra qui s'est déroulé par visioconférence pendant la période de confinement liée à la pandémie covid19 du mois d'Avril jusqu'au mois de juillet 2020

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel biologique

Les échantillons biologiques de notre travail sont des données de métagénomiques ou méta-transcriptomiques) brutes du séquençage global aléatoire de l'ADN (*shotgun sequencing*), se trouvant dans l'intestin humain. Les identifiants de nos échantillons sont les suivants :

Tableau I : Caractéristique de chaque échantillon.

RUN ID	SRR3313039	SRR3313071
Age	6 ans	5 ans
Sexe	Male	Male
Phénotype	Sain	Diabète de type 1
Pays	Luxembourg	Luxembourg
Type d'expérience	Métagénomique	Métagénomique
Instrument model	Illumina HiSeq 2000	Illumina HiSeq 2000
Identifiant du projet	PRJNA289586	PRJNA289586

Matériel et Méthodes

2.1.2. Matériel non biologique

Notre étude a nécessité l'utilisation de matériel informatique (ordinateur portable) et d'une connexion internet à haut débit.

Afin de réaliser notre étude *in silico* et répondre à notre problématique, nous avons utilisés des outils bio-informatiques pour le traitement de nos échantillons moléculaires qui sont des bases de données à accès libre (Open Source) nécessitant des interfaces web, des logiciels, des softwares et des algorithmes.

Nous avons téléchargé ces données à partir des bases de données open sources :

- GMrepo (<https://gmrepo.humangut.info/home>) : une base de données de métagénomies intestinaux humains.
- NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) : Base de données donnant accès à des informations biomédicales et génomiques.

La totalité de notre travail a été réalisé avec la plateforme Galaxy (<http://usegalaxy.org>).

2.2. Méthode

Le protocole de notre étude est schématisé par l'organigramme de la fig.15 ci-dessous.

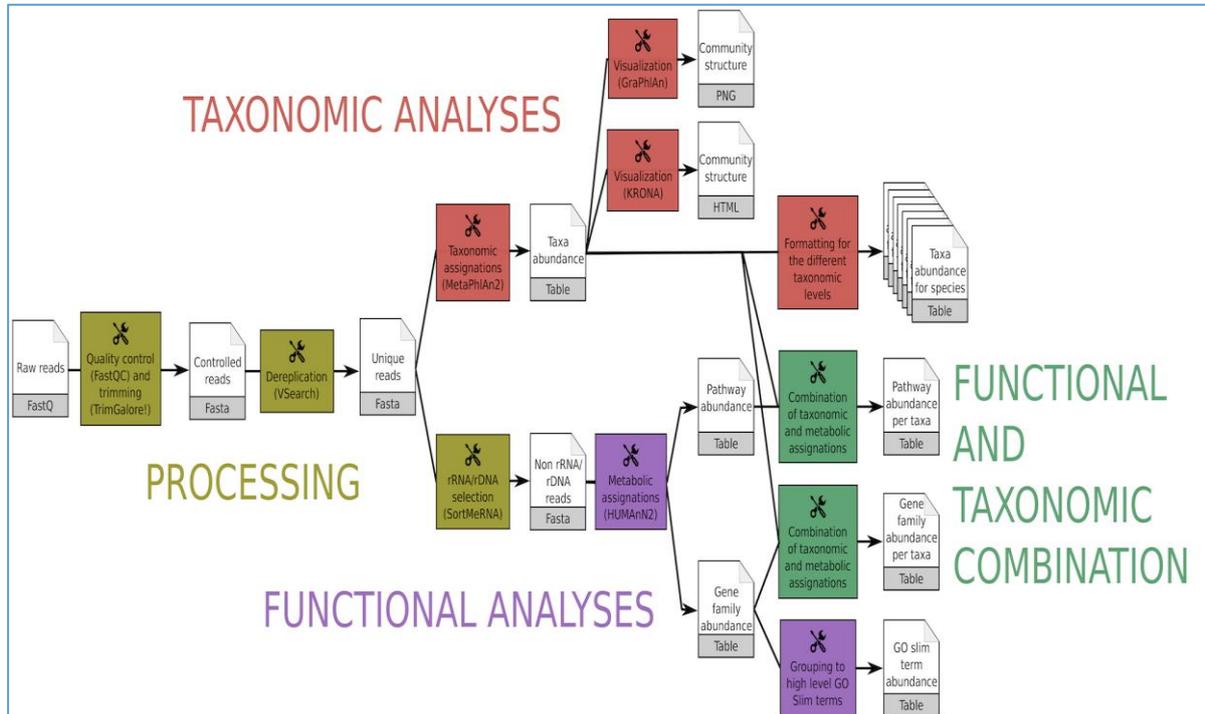


Figure 15 Workflow suivi pour l'étude du microbiome intestinal humain.

<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.5371396.v3>

Matériel et Méthodes

Ce Workflow représente l'analyse des données métagénomiques (ou méta-transcriptomique) brutes du séquençage global aléatoire de l'ADN (*shotgun sequencing*), l'étude de ces données se base sur une combinaison de différents outils bio-informatiques nécessaires afin de tirer des conclusions sur le microbiote de chaque individu et la communauté microbienne qui l'abrite.

Le workflow consiste en :

- Traitement avec contrôle qualité / découpage (FastQC et Trim Galore) et déréplication (VSearch).
- Analyses taxonomiques avec affectation (MetaPhlan2) et visualisation (KRONA, GraPhlan).
- Analyses fonctionnelles avec affectation métabolique et reconstruction de voies (HUMAN2).
- Combinaison fonctionnelle et taxonomique avec des outils développés combinant les résultats HUMAN2 et MetaPhlan2.

2.2.1 Obtention des données biologiques

- **Base de données GMrepo**

Principe : GMrepo (Data Repository For Human Gut Microbiota) (<https://gmrepo.humangut.info/home>) est une base de données de métagénomiques intestinaux humains annotés de manière cohérente. Son objectif principal est de faciliter la réutilisation et l'accessibilité des données métagénomiques humaines. GMrepo organise les échantillons collectés en fonction de leurs phénotypes associés et inclut toutes les métadonnées possibles telles que l'âge, le sexe, le pays, l'indice de masse corporelle (IMC) et l'utilisation récente d'antibiotiques. Pour faciliter l'accès aux informations pertinentes, GMrepo est équipé d'un générateur de requêtes graphiques, permettant aux utilisateurs de faire des requêtes personnalisées, complexes et biologiquement pertinentes.

À ce jour, GMrepo contient 58 903 échantillons / analyses d'intestin humain (dont 17 618 métagénomiques et 41 285 amplicons) provenant de 253 projets concernant 92 phénotypes. (Wu. *et al.* 2019).

Protocol de récupération des données brutes

- Le lien (<https://gmrepo.humangut.info/home>) nous permet d'accéder à la base de données GMrepo.
- Dans l'onglet recherche de la page d'accueil nous allons filtrer notre recherche en utilisant des mots clés spécifiques pour notre étude.

Matériel et Méthodes

- Une fois la recherche lancée une liste de projets d'études et d'échantillons est générée, *le projet ID* va nous diriger vers l'étude, *le Run ID* va nous diriger vers l'échantillon.
- En ouvrant le numéro du *Run ID* dans la base de données NCBI SRA (*sequence read archive*) apparaissent tous les détails de l'échantillon choisi.
- Dans *Data Access* il y a possibilité de télécharger l'échantillon sur notre ordinateur ou, à partir de la plateforme Galaxy d'insérer le SRA de l'échantillon choisi et de le télécharger directement dans l'instance de Galaxy.

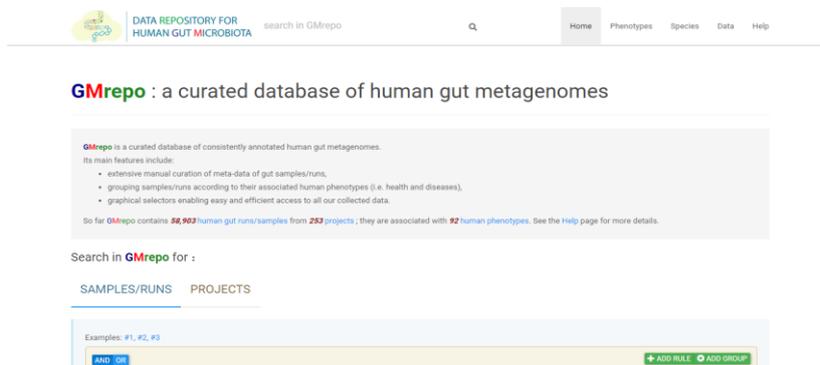


Figure 16 Interface de la base de données GMrepo.

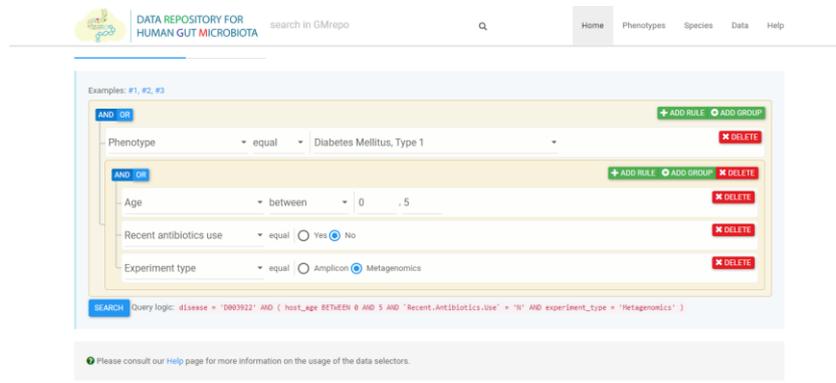


Figure 17 Recherche lancée avec la base de données GMrepo.

2.2.2 Analyse des données par l’outil Galaxy

Principe : L'instance principale de Galaxy sur <http://usegalaxy.org> est une installation du logiciel Galaxy combinée à de nombreux outils et données courants ; ce site est accessible depuis 2007 à toute personne qui souhaite analyser gratuitement ses données. Le site fournit un espace processeur et disque considérable, ce qui permet d'analyser de grands ensembles de données. Son objectif est de développer et de maintenir un système qui permet aux chercheurs sans expertise informatique d'effectuer des analyses informatiques via le Web.

Protocole d’analyse

a. Traitement des données brutes

- Le lien <http://usegalaxy.org> nous permet d’accéder à l’instance principale de Galaxy. La création d’un compte est nécessaire pour pouvoir manipuler les données.
- Pour intégrer les données téléchargées de la base de données citée ci- dessus sur la plateforme Galaxy, nous cliquons sur *Get Data* en sélectionnant le format adéquat.
- Une boîte de dialogue va apparaître où nous pourrions sélectionner les paramètres souhaités, puis lancer le téléchargement.
- Après cela, le premier élément téléchargé va s’afficher dans l'historique dans le volet droit de Galaxy. Il passera par les états gris (en préparation), jaune (en cours) pour devenir vert (prêt).
- Nous pouvons maintenant effectuer toute sorte de manipulation sur notre fichier.

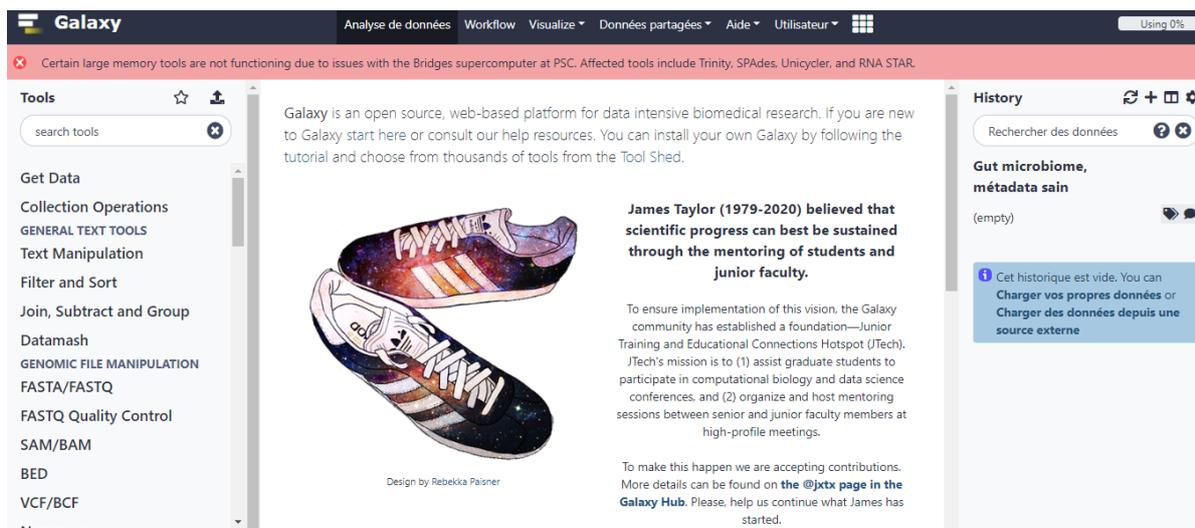


Figure 18 Interface de la plateforme Galaxy.

b. Pre-processing : le pré-traitement par un control de qualité

- L'outil **FastQC** :

Principe : En utilisant le logiciel **FastQC** un outil de contrôle qualité pour les données de séquence à haut débit. Il peut être téléchargé en suivant ce lien <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>, il est également présent comme un module intégré dans l'instance de Galaxy. **FastQC** vise à fournir un moyen simple d'effectuer des contrôles de qualité sur les données de séquences brutes provenant de pipelines de séquençage à haut débit. Il fournit une impression rapide sur vos données avant de faire une analyse plus approfondie. Il donne un aperçu rapide pour dire dans quels domaines il peut y avoir des problèmes et génère des graphiques et tableaux récapitulatifs pour évaluer rapidement les données.

Etales d'analyse

- Pour analyser notre séquence et avoir un premier coup d'œil, nous exécutons le programme et sélectionnons le fichier de séquence à contrôler.
- En raison de la taille de ces fichiers, leur ouverture peut prendre quelques minutes.
- **FastQC** va alors générer un rapport et une évaluation rapide pour savoir si les résultats du contrôle semblent normaux (coche verte), légèrement anormal (triangle orange) ou très inhabituel (une croix rouge).

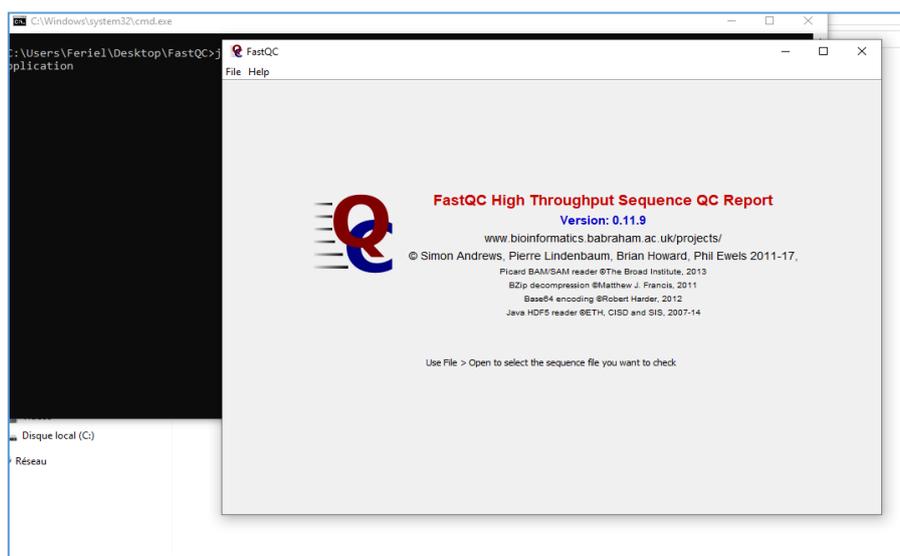


Figure 19 Interface du logiciel **FastQC**.

- **L'outil Trim Galore**

Principe

Trim Galore est un logiciel utilisé dans le pré-traitement des séquences brutes il peut être téléchargé suivant ce lien <https://anaconda.org/bioconda/trim-galore>, c'est un module qui fait également partie de la plateforme Galaxy. Cette étape supprimera les adaptateurs Illumina des lectures. Vous devez sélectionner l'un des jeux d'adaptateurs prédéfinis et définir les paramètres pour les critères de correspondance. Pour *trimmer* (découper) l'adaptateur, **Trim Galore** utilise les 13 premières paires de bases des adaptateurs standard Illumina ('AGATCGGAAGAGC') par défaut mais accepte également d'autres séquences d'adaptateurs.

Trim sequences, *Trimmomatic* ou encore *Cutadapt* sont des logiciels qui peuvent également retirer les adaptateurs et découper les séquences brutes afin d'optimiser les séquences et retirer les erreurs qui ont pu être introduites lors du séquençage.

Étapes d'analyse

- Sur le volet gauche de l'interface de Galaxy, nous allons sélectionner l'outil **Trim Galore**, une boîte de dialogue s'ouvre avec les différents paramètres possibles pour découper et *trimmer* la séquence.
- Nous sélectionnons le fichier à traiter (déjà présent dans l'historique de Galaxy) sous le format FASTQ.
- Nous réglons les options selon le but recherché et on exécute le travail, Galaxy va alors générer un nouveau fichier.
- Sur ce nouveau jeu de données, nous allons effectuer un autre contrôle de qualité avec l'outil **FastQC** pour attester de la qualité de la suppression des adaptateurs et primers.

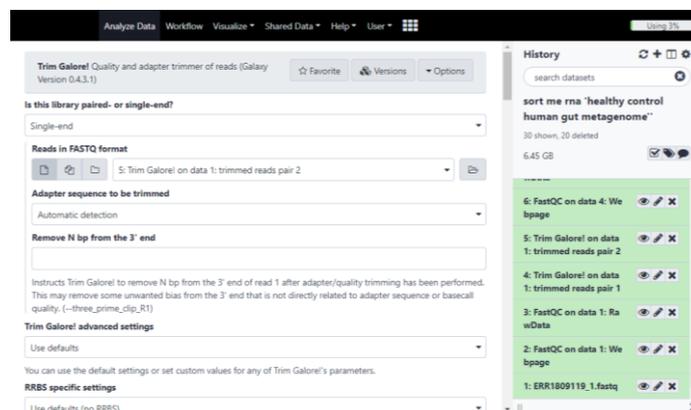


Figure 20 Interface de l'outil Trim Galore sur la plateforme Galaxy.

c. Déréplication de la séquence

• Outil Vsearch dereplication

Principe

Vsearch est un outil open source gratuit pour le traitement et la préparation de données de séquences nucléotidiques de métagénomique, de génomique et de génomique de population. La déréplication, une étape de calcul souvent prise en compte lors de la génération et de l'analyse d'ensembles de données génomiques. En théorie, la déréplication identifie des groupes de génomes identiques ou très similaires dans un ensemble de données donné sur la base d'une coupure d'identité de séquence fournie par l'utilisateur, et les réduit à un seul génome représentatif. Cette étape est utilisée pour calculer l'abondance des lectures.

Etapes d'analyse

- Dans le volet gauche de l'interface de Galaxy nous allons sélectionner l'outil **Vsearch dereplication**.
- Une boîte de dialogue s'ouvre, on sélectionne le fichier sous format FASTA, nous réglons les paramètres selon le but recherché et nous exécutons le travail.
- Galaxy va alors générer un nouveau fichier qui se trouvera dans l'historique à droite de l'interface de Galaxy.

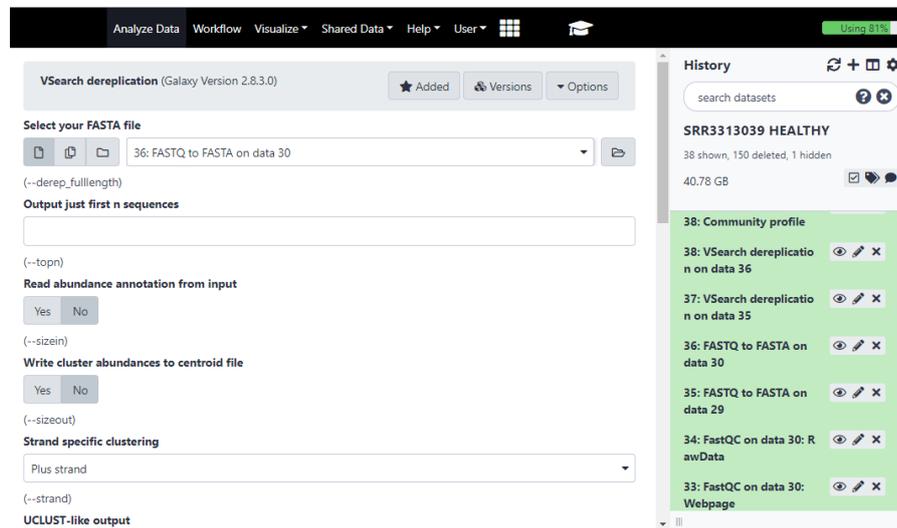


Figure 21 Interface de l'outil VSearch Dereplication sur la plateforme Galaxy.

d. Analyse taxonomique

- Outil **MetaPhlAn 2.0**

Principe

MetaPhlAn (*Metagenomic Phylogenetic Analysis*) est un outil informatique permettant de profiler la structure et la composition des communautés microbiennes (bactéries, archées, eucaryotes et virus) à partir de données de séquençage métagénomiques (*shotgun sequencing*). **MetaPhlAn** s'appuie sur des gènes marqueurs spécifiques au clade uniques identifiés à partir de ~ 17 000 génomes de référence (~ 13 500 bactériens et archéens, ~ 3 500 viraux et ~ 110 eucaryotes), permettant une attribution taxonomique sans ambiguïté, car les marqueurs **MetaPhlAn** sont spécifiques au clade, une estimation précise de l'abondance relative des organismes (en termes de nombre de cellules plutôt que de fraction de lectures). Le logiciel **MetaPhlAn** est téléchargeable à partir du lien <https://huttenhower.sph.harvard.edu/metaphlan> et fonctionne sous système d'exploitation Linux, un module est également intégré au sein de l'application Galaxy.

Etapes d'analyse

- Dans le volet gauche de l'interface de Galaxy sous **Metagenomic Analysis**, nous sélectionnons **MetaPhlAn2**.
- Dans **input file** nous allons sélectionner le fichier issu de la déréplication précédente.
- On règle les options disponibles pour l'analyse de ces séquences.
- On clique sur exécuter. Trois fichiers sont alors générés (de différents formats) présentant le profil microbien de l'échantillon.

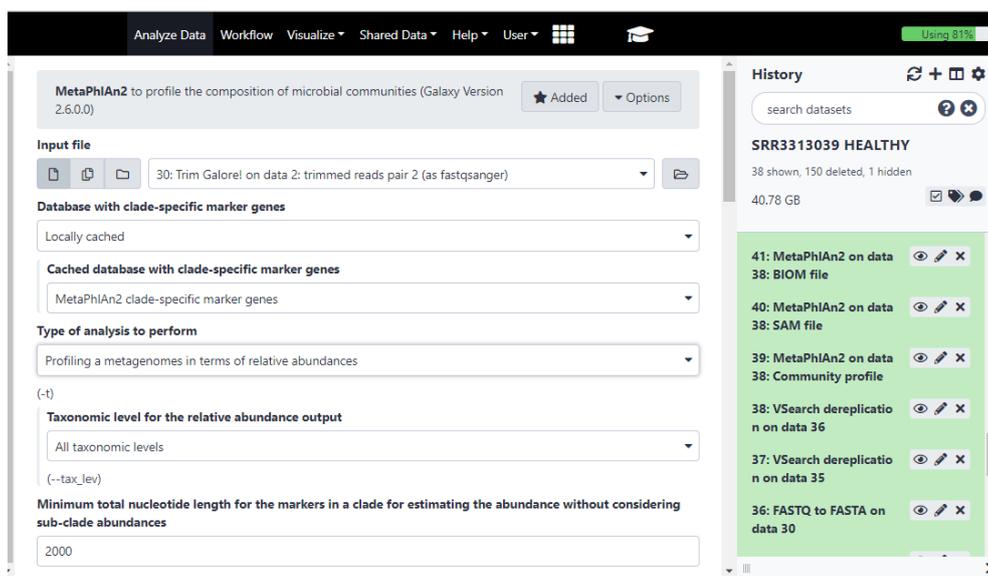


Figure 22 Interface de l'outil **MetaPhlAn** indiquant le profil microbien présent au sein de notre échantillon.

• Outil Format MetaPhlAn2

Principe

Format MetaPhlAn2 est un module intégré dans l'instance de Galaxy. C'est un outil permettant l'étude des métagénomés, il aide à simplifier les données pour une interprétation facile. Il utilise l'output de **MetaPhlan2** contenant le contenu de la communauté (abondance) à tous les niveaux taxonomiques (du royaume aux souches) 9 fichiers sont générés contenant l'abondance à différents niveaux taxonomiques.

Étapes d'analyse

- Dans le volet gauche de Galaxy sous l'onglet **Metagenomic Analysis** se trouve l'outil **Format MetaPhlAn2**.
- Insérer le fichier « *community profile* » provenant de l'outil **MetaPhlan** comme fichier d'entrée et exécuter le travail.
- 9 fichiers sont générés un fichier par niveau taxonomique, se trouvant tous dans l'historique de Galaxy.

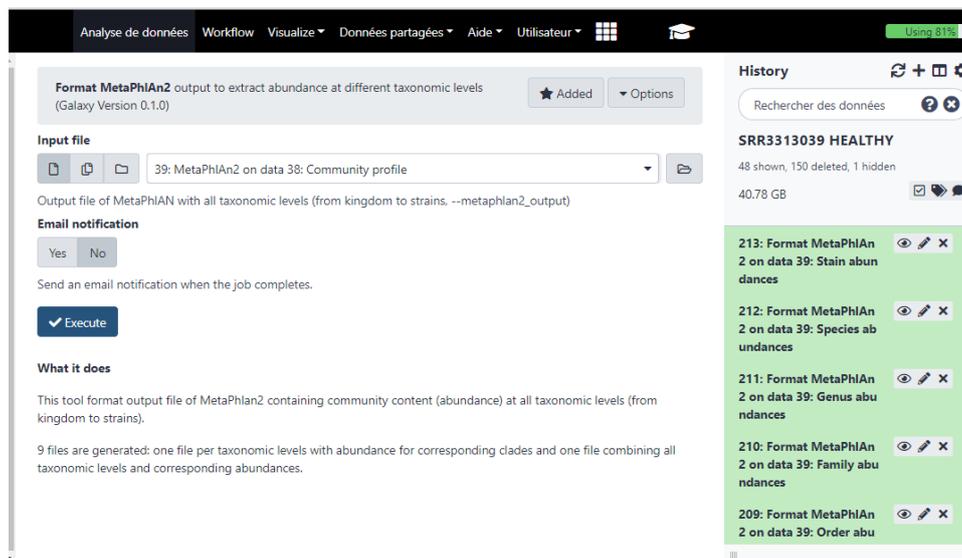


Figure 23 Interface de l'outil Format MetaPhlAn.

- **Outil Krona**

Principe

Cet outil convertit le fichier de résultats standard d'un profilage métagénomique en un graphique à secteurs, il permet d'explorer les données hiérarchiques avec des graphiques circulaires à plusieurs niveaux et zoomés. Les graphiques Krona peuvent être créés à l'aide d'un modèle Excel ou de Krona Tools, qui inclut la prise en charge de plusieurs outils de bio-informatiques et de formats de données brutes.

Krona peut être disponible en suivant ce lien <https://anaconda.org/bioconda/krona>, il est également disponible en tant que module intégré dans la plateforme Galaxy.

Étapes d'analyse

- Dans le volet gauche de l'interface de Galaxy, nous avons sélectionné « **Krona** » sous l'onglet **NCBI Blast**.
- Dans « *What is the type of your input data* » on sélectionne « *tabular* », dans « *input file* » on sélectionne le fichier adéquat (*MetaPhlAn dataset*) et on exécute le travail.
- Galaxy va générer un fichier HTML

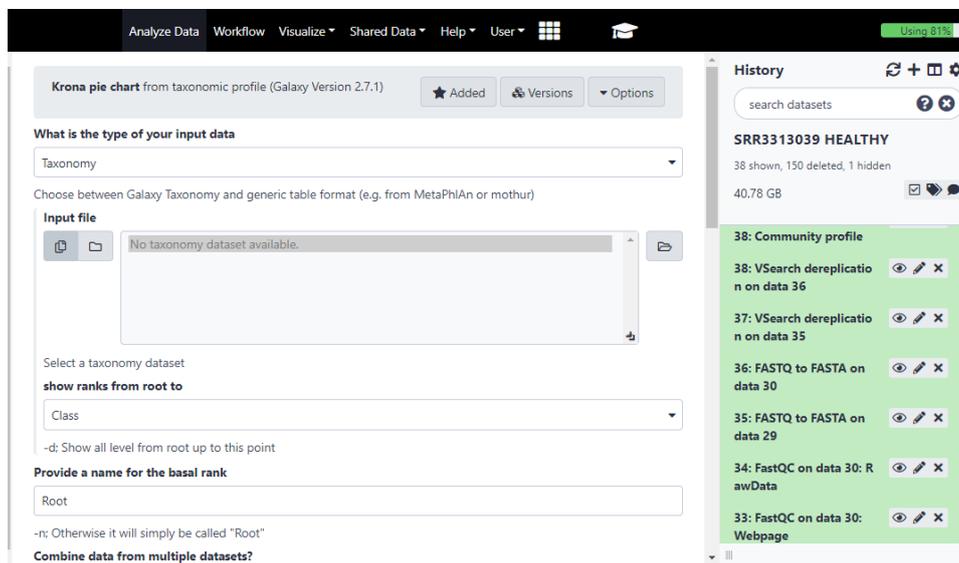


Figure 24 Interface de l'outil de visualisation Krona.

- **Outil GraPhIAn**

Principe

GraPhIAn est un outil logiciel pour produire des représentations circulaires de haute qualité des arbres taxonomiques et phylogénétiques. **GraPhIAn** se concentre sur des représentations concises, intégratives, informatives et prêtes à être publiées d'investigations guidées par la phylogénétique et la taxonomie.

Etapes d'analyse

- Dans le volet gauche de Galaxy nous allons sélectionner **Export to GraPhIAn**, dans *input file* nous allons choisir l'output de MetaPhlAn, régler la liste d'option et cliquer sur exécuter.
- Galaxy va générer deux fichiers.
- Avec un autre outil **Generation, personalization and annotation of tree** nous allons choisir les deux fichiers générés précédemment et exécuter le travail.
- Galaxy va générer un nouveau fichier qui apparaîtra dans l'historique à droite de l'écran.
- Avec l'outil **GraPhIAn** nous allons choisir le fichier générer précédemment l'output de **Generation, personalization and annotation of tree**, régler les paramètres et exécuter le travail.
- Galaxy va alors générer un nouveau fichier.

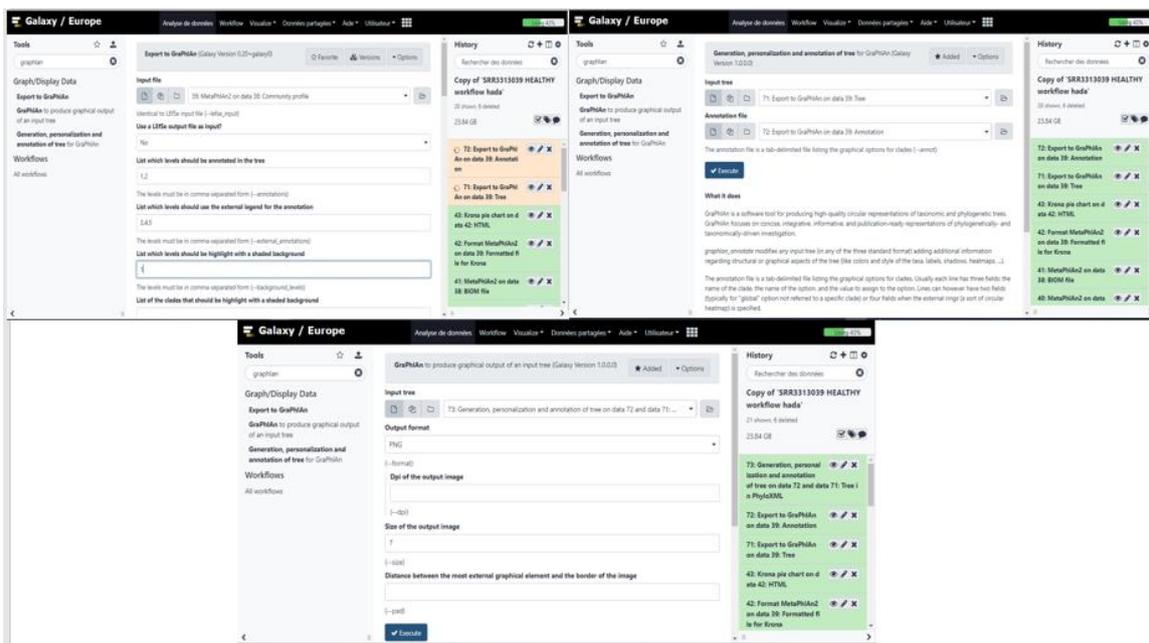


Figure 25 Etapes de travail avec l'outil GraPhIAn.

e. Analyse fonctionnelle

- L'outil SortMeRna

Principe

SortMeRNA est un outil pour le filtrage, le mapping et la lecture OTU des données NGS (*Next Generation Sequencing*) dans les données méta-transcriptomiques et métagénomiques. L'algorithme de base permet des analyses rapides et sensibles des séquences de nucléotides. La principale application de **SortMeRNA** est la filtration de l'ARN ribosomal à partir de données méta-transcriptomiques. Ce logiciel est disponible à télécharger en suivant ce lien <https://bioinfo.lifl.fr/sortmerna/sortmerna.php>, **SortMeRna** est également présent en tant que module intégré dans la plateforme Galaxy.

Etapas d'analyse

- Dans le volet gauche de l'interface de Galaxy sous *annotation* se trouve l'outil *Filter with SortMeRna*.
- On sélectionne les fichiers à importer, on règle les paramètres et on exécute le travail.

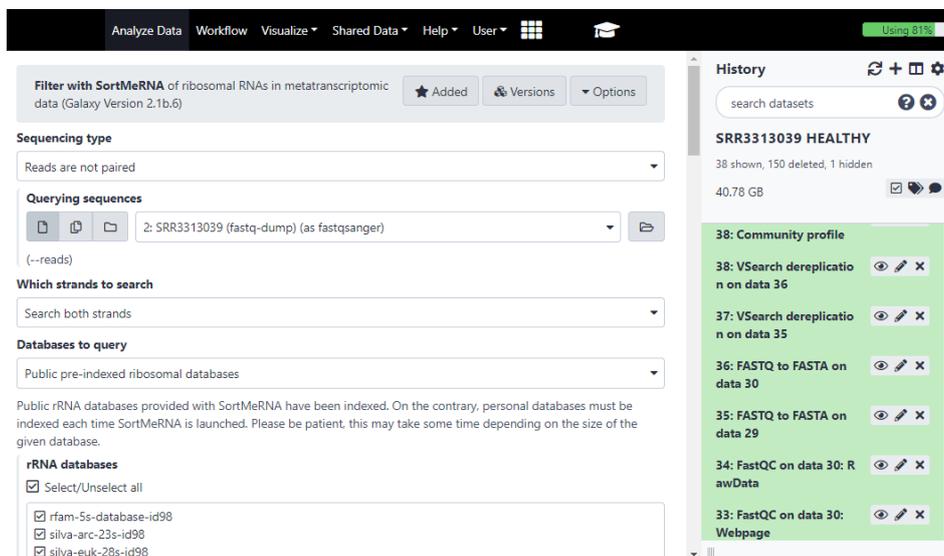


Figure 26 Interface de l'outil SortMeRna.

Matériel et Méthodes

- **Outil HUMAnN2**

Principe

HUMAnN2 est un pipeline pour profiler efficacement et précisément la présence / absence et l'abondance de voies microbiennes dans une communauté à partir de données de séquençage métagénomique ou méta-transcriptomique (généralement des millions de courtes lectures d'ADN / ARN). Ce processus, appelé profilage fonctionnel, vise à décrire le potentiel métabolique d'une communauté microbienne et de ses membres. Plus généralement, le profilage fonctionnel répond à la question "Que font (ou sont capables de faire) les microbes de ma communauté d'intérêt ?"

Disponible en suivant ce lien <http://huttenhower.sph.harvard.edu/humann>, **HUMAnN2** est également présent dans la plateforme Galaxy en tant que module intégré.

Étapes d'analyse

- Dans le volet gauche de l'interface Galaxy sous *Metagenomic Analysis* se trouve l'outil **HUMAnN2**.
- On sélectionne le fichier d'entrée (*input file*), on règle les paramètres et on exécute le travail.
- Galaxy va générer 3 fichiers différents : présence/absence et abondance de voies microbiennes et des familles de gènes.

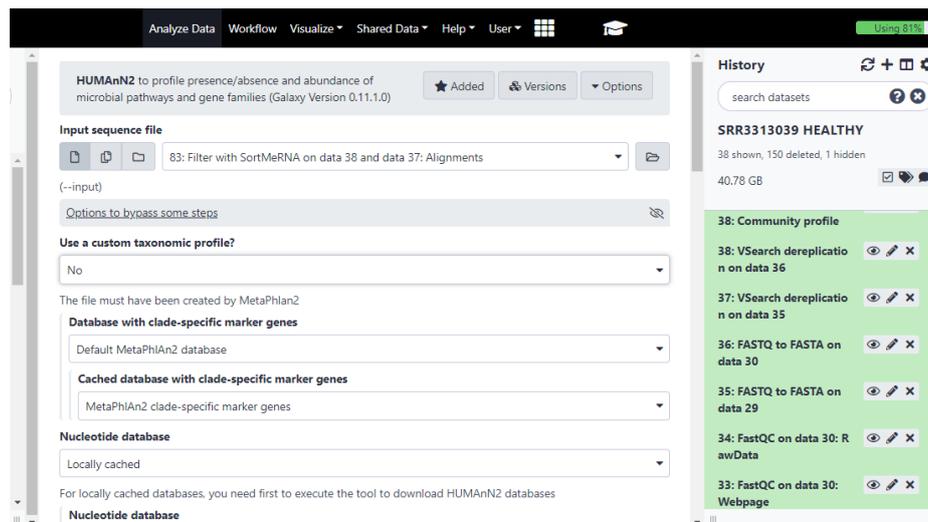


Figure 27 Interface de l'outil HUMAnN2.

- **Outil Renormalize a HUMAnN2 generated table**

Principe

Renorm HUMAnN2 est un outil pour renormaliser une table, soit en copies par million, soit en abondance relative. Chaque niveau d'une table stratifiée sera normalisé en utilisant le schéma souhaité. Il est souvent complémentaire à **HUMAnN2** et disponible en tant que module intégré dans la plateforme Galaxy.

Etapas d'analyse

- Dans le volet gauche de Galaxy sous l'onglet **Metagenomic Analysis** se trouve l'outil **Renormalize a HUMAnN2 generated table**.
- On insère le fichier adéquat, règle les paramètres de « Schéma de normalisation » sous abondance relatif, et « Niveau de normalisation » sous Normalisation de tous les niveaux par total communautaire.
- Et nous réglons le reste des paramètres, pour exécuter le travail.
- Galaxy va générer un nouveau fichier disponible dans l'historique de Galaxy.

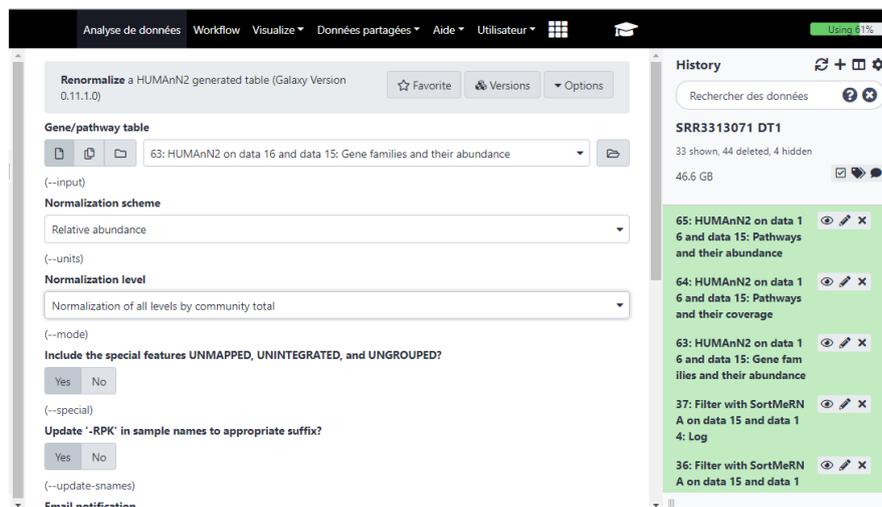


Figure 28 Interface de l'outil « Renormalize a HUMAnN2 generated table ».

- Nous exécutons cet outil pour normaliser les abondances des familles de gènes (*Normalized gene families*) et également identifier les familles de gènes impliquées dans les voies (*Normalized pathways*).

- L'outil « Unpack pathway »

Principe

« Unpack pathway abundances to show genes included » est un outil utilisé dans le but d'identifier les familles de gènes impliquées dans les voies et connaître les plus espèces les plus abondantes.

Cet utilitaire décompresse les chemins pour afficher les gènes de chacun. Il ajoute un autre niveau de stratification au tableau d'abondance des voies en incluant les abondances des familles de gènes. Il est disponible en tant que module intégré dans la plateforme Galaxy.

Etapas d'analyse

- Dans le volet gauche de l'interface Galaxy sous l'onglet **Metagenomic Analysis** se trouve l'outil **Unpack pathway abundances to show genes included**.
- Dans input files nous insérons les fichiers préalablement générés par la normalisation « Gene family or abundance file » et « Pathway abundance file ». On règle les paramètres souhaités et exécute le travail.
- Galaxy va alors générer un nouveau fichier disponible dans l'historique de Galaxy.

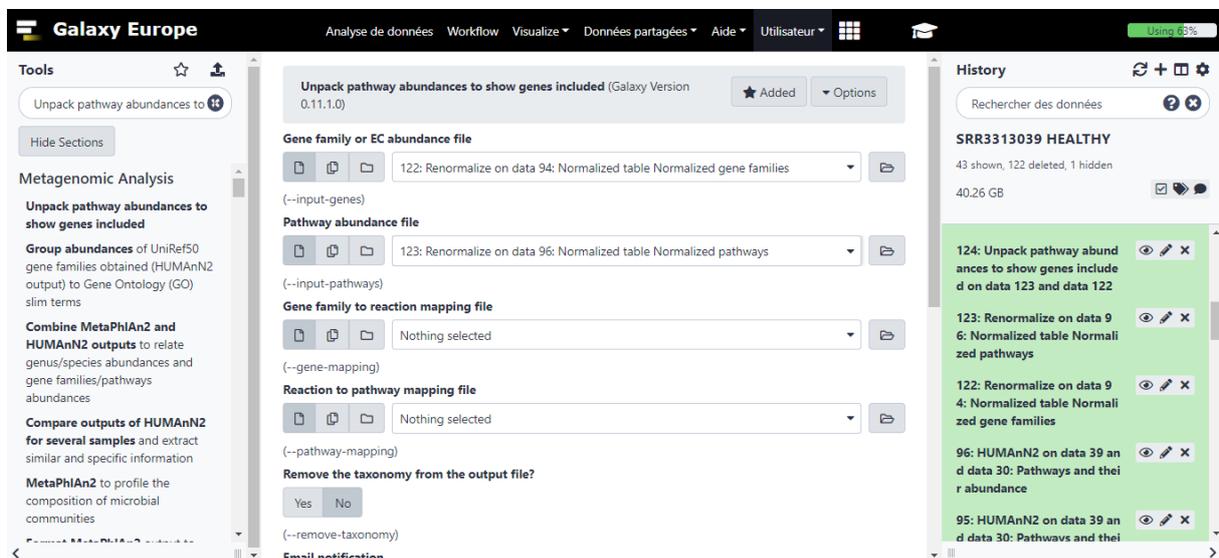


Figure 29 Interface de l'outil Unpack pathway abundances to show genes included.

f. Analyse fonctionnelle et taxonomique

Permet de regrouper les abondances en termes GO slim

- L’outil **Group abundances**

Principe

Cet outil aide à construire une vue d'ensemble, nous pourrions identifier et utiliser des catégories de gènes en utilisant les familles de gènes. L'analyse de Gene Ontology (GO) est largement utilisée pour réduire la complexité et mettre en évidence les processus biologiques à l'échelle du « *genome-wide expression study* ». Il existe un outil dédié qui regroupe et convertit les abondances des familles de gènes UniRef50 générées avec **HUMAnN2** en termes GO slim. L'outil décrit ici contient des scripts pour regrouper les abondances d'UniRef50 obtenues à l'aide du script principal **HUMAnN2** (familles de gènes) pour aller en termes GO slim. GO slim est un sous-ensemble des termes de l'ensemble GO.

Étapes d'analyse

- Dans le volet gauche de l'interface Galaxy, sous l'onglet « **Metagenomic Analysis** », se trouve l'outil « **Group abundances** ».
- Après avoir sélectionné le fichier adéquat « **HUMAnN2 output with UniRef50 gene family abundance** », on règle les paramètres et exécute le travail.
- Galaxy va générer 3 fichiers : abondances en termes GO slim regroupés en 3 groupes (fonctions moléculaires, processus biologiques et composants cellulaires).

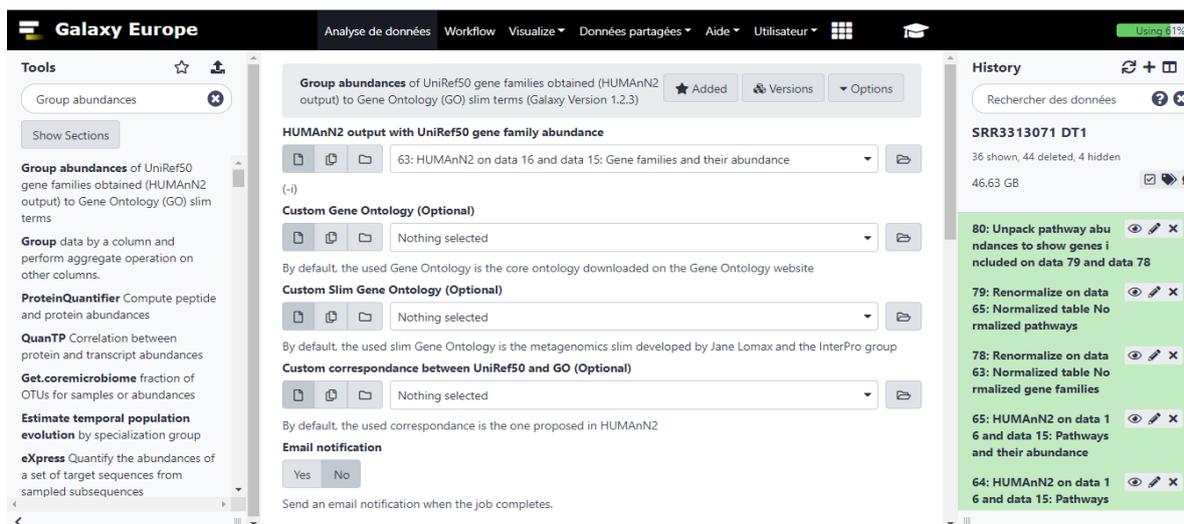


Figure 30 Interface et réglage de l'outil **Group abundances**.

- **L’outil Combine MetaPhlAn2 and HUMAnN2 outputs**

Principe

Cet outil est intégré dans la plateforme Galaxy. Il est utilisé pour l’analyse fonctionnelle et taxonomique car il combine les outputs de **MetaPhlAn2** et de **HUMAnN2**. Pour chaque famille / voie de gène et la stratification taxonomique correspondante, on obtient l’abondance relative de cette famille / voie de gène et l’abondance relative des espèces et du genre correspondants.

Etapes d’analyse

- Dans le volet gauche de Galaxy sous l’onglet **Metagenomic Analysis** se trouve l’outil **Combine MetaPhlAn2 and HUMAnN2 outputs**.
- On sélectionne l’output de **MetaPhlAn2** qui contient l’abondance relative des différents niveaux taxonomiques, l’output de **HUMAnN2** contenant l’abondance relative des familles de gènes ou des voies biologiques.
- On précise la caractéristique du fichier de **HUMAnN2** (**gene families**, ou **pathways**).
- On exécute le travail, Galaxy génère un fichier combinant les informations de **MetaPhlAn2** et **HUMAnN2**.

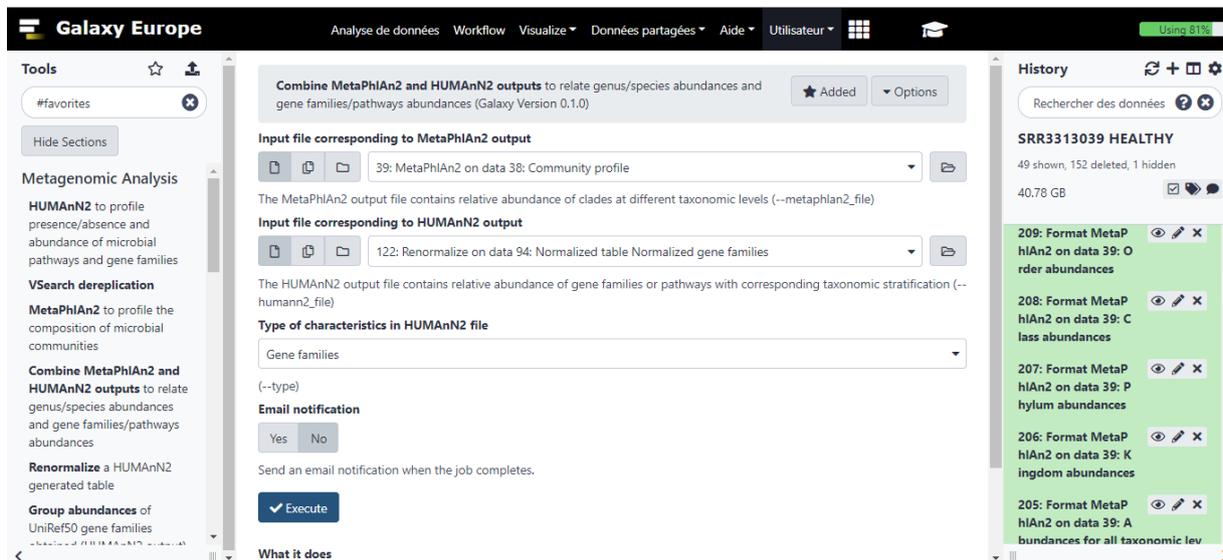


Figure 31 Interface et réglage de l’outil **MetaPhlAn2 and HUMAnN2 outputs**.

Résultats

3. Résultats

Rappelons que notre étude est une étude in silico qui utilise des outils bio-informatique pour comprendre et étudier le microbiote intestinal humain et son rôle dans la pathogenèse du diabète de type 1.

Dans cette partie, nous allons présenter les résultats de nos analyses bio-informatiques ultérieures.

3.1 Résultats de l'analyse par Galaxy

- **Résultat FastQC**

La figure ci-dessous (Fig.32) montre le résultat du **FastQC** de l'échantillon avant traitement. **FastQC Report** montre un aperçu de la qualité de l'échantillon brute ainsi que des informations sur les séquences présentes telle que le pourcentage en CG ou encore la longueur des séquences. On peut également observer un graphe qui représente le score de qualité par base.



Figure 32 Résultat du FastQC pour l'échantillon brute du diabète de type 1.

- **Résultats de Vsearch dereplication**

La déréduplication identifie des groupes de génomes identiques ou très similaires dans un ensemble de données et les réduit à un seul génome représentatif. La figure ci-dessous (Fig.34) montre le résultat de l'application de *Vsearch dereplication* sur la séquence, il est à noter que la valeur d'abondance est écrite à côté du nom de la séquence.

The screenshot shows the Galaxy Europe interface. At the top, there is a navigation bar with 'Analyze Data', 'Workflow', 'Visualize', 'Shared Data', 'Help', and 'User' menus. A green status bar in the top right corner indicates 'Using 61%'. On the left, a 'Tools' sidebar lists various bioinformatics tools, including 'HUMAN2', 'Trim Galore!', 'Vsearch dereplication', 'MetaPhlan2', 'Krona pie chart', 'Generation, personalization and annotation of tree for GraPhlAn', 'Filter with SortMeRNA', and 'GraPhlAn'. The main panel displays a list of sequences with their abundance values. A warning banner at the top of the main panel reads: 'This dataset is large and only the first megabyte is shown below. Show all | Save'. The sequences listed are:

```
>18767/1
CTGCTGGTGGCAGCAATCCAATTCATGGGTTTTCAATCTCTGCATAATAGCTTTGTAGAAAGTTCTGATGAGAGCTGT
CATAAGCAGGAAT
>846690/1
CAACCTGTTCAAGACAGACTTTGGTTAAAGACCATGCTTTCTGGTTAAACCAAGCGTATTACCTCAAGTCGCTTTATGGG
GTAAGGGGATTTTG
>8906/2
CCTCAAGTCGCTTTATGGGGTAAGGGGATTTGTGTCTGCACATTTCTGTTGCAAGAAATATGTACAATAAAATGAA
TTTTGTGCGCTTTGC
>32382/2
AGCAACACTATCTTTAACTTCTCACCTTCAATACACATTAATAACAATCAAAACACTTATCAACACTAGCTTTTAGTT
CATCATATAAGTA
>184465/1
GAGCATCAAATGGCTCCATAATCGAAAAAATCCCCCAAAAGGAGTGGTTCTCAGATTTTATTGTACTTTTGCCATG
TCATTGAGATTTT
>232953/2
ATGTATACTGACTAACGATTACAAGTCGAGTGAAGAGACATCGTGGAAATCTACAATCTCTGGTGGCAAGGAACGCA
TCTTCGATGACATG
>198322/2
TGGTTAAAGACCATGCTTTTCTGGTTAAACCAAGCGTATTACCTCAAGTCGCTTTATGGGGTAAGGGGATTTGTGTCTGC
GACATTTCTGTGT
>56164/1
CAGCTCTCATCAGAACTTCTACAAAGCTATTATGCAGAGATTGAAACCCATGAATTTGGATTGCGTCCACCAGCAGA
ATCAAGACTTTGT
>211360/1
AAGACAGACTTTGGTTAAAGACCATGCTTTCTGGTTAAACCAAGCGTATTACCTCAAGTCGCTTTATGGGGTAAGGGGAT
TTTGTGTCTGCGAC
>15618/2
TTCTGGTTAAACCAAGCGTATTACCTCAAGTCGCTTTATGGGGTAAGGGGATTTGTGTCTGCGGATTTCTGTTGTGCA
```

The right sidebar shows the 'History' section with a search bar and a list of datasets. The current dataset is 'SRR3313039 HEALTHY', which is 40.78 GB in size. Below this, there is a list of analysis steps, including '38: Community profile', '38: VSearch dereplication on data 36', '37: VSearch dereplication on data 35', '36: FASTQ to FASTA on data 30', '35: FASTQ to FASTA on data 29', '34: FastQC on data 30: RawData', and '33: FastQC on data 30: Webpage'. Each step has a visibility icon and a close icon.

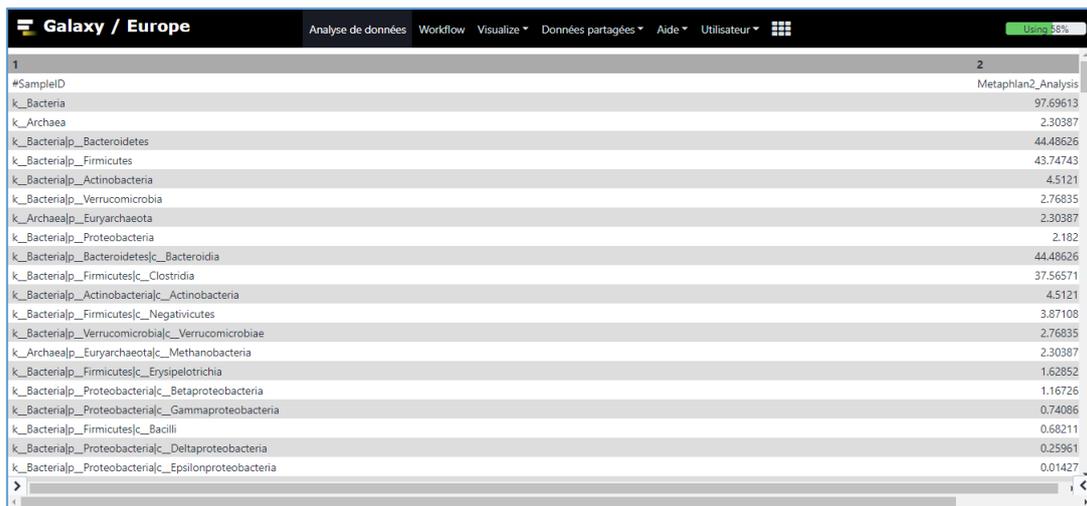
Figure 34 Résultat de l'outil Vsearch d'un échantillon sain.

Résultats

3.2 Résultats de l'analyse taxonomique

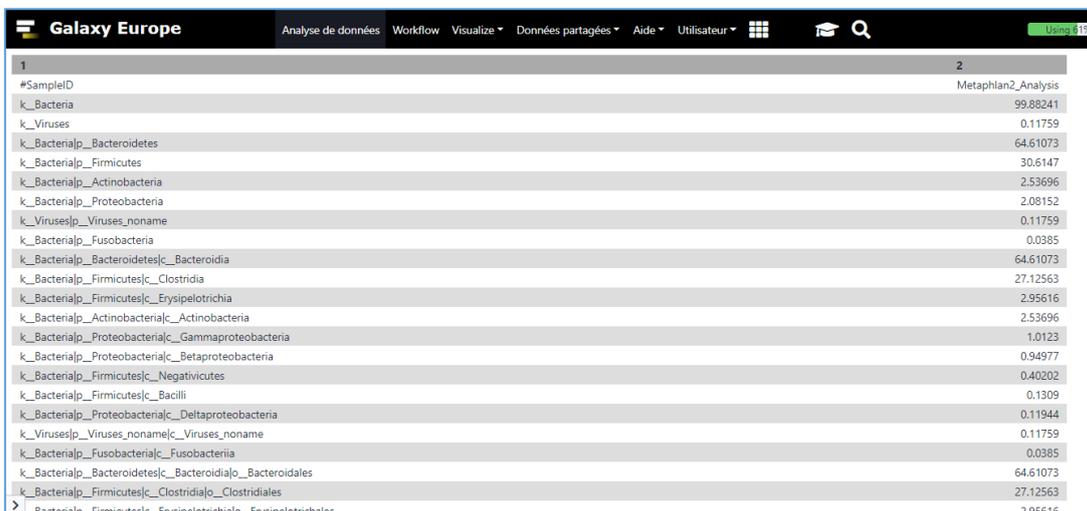
- **Résultats de MetaPhlAn**

Les figures ci-dessous (fig.35,36) montrent un tableau indiquant l'output de *MetaPhlAn* qui désigne la population microbienne globale présente au sein de l'échantillon ainsi que le pourcentage de chaque espèce présente.



1	2
#SampleID	Metaphlan2_Analysis
k_Bacteria	97.69613
k_Archaea	2.30387
k_Bacterialp_Bacteroidetes	44.48626
k_Bacterialp_Firmicutes	43.74743
k_Bacterialp_Actinobacteria	4.5121
k_Bacterialp_Verrucomicrobia	2.76835
k_Archaealp_Euryarchaeota	2.30387
k_Bacterialp_Proteobacteria	2.182
k_Bacterialp_Bacteroidetes c_Bacteroidia	44.48626
k_Bacterialp_Firmicutes c_Clostridia	37.56571
k_Bacterialp_Actinobacteria c_Actinobacteria	4.5121
k_Bacterialp_Firmicutes c_Negativicutes	3.87108
k_Bacterialp_Verrucomicrobia c_Verrucomicrobiae	2.76835
k_Archaealp_Euryarchaeota c_Methanobacteria	2.30387
k_Bacterialp_Firmicutes c_Erysipelotrichia	1.62852
k_Bacterialp_Proteobacteria c_Betaproteobacteria	1.16726
k_Bacterialp_Proteobacteria c_Gammaproteobacteria	0.74086
k_Bacterialp_Firmicutes c_Bacilli	0.68211
k_Bacterialp_Proteobacteria c_Deltaproteobacteria	0.25961
k_Bacterialp_Proteobacteria c_Epsilonproteobacteria	0.01427

Figure 35 Résultat du traitement de l'échantillon (sain) par l'outil *MetaPhlAn*.



1	2
#SampleID	Metaphlan2_Analysis
k_Bacteria	99.88241
k_Viruses	0.11759
k_Bacterialp_Bacteroidetes	64.61073
k_Bacterialp_Firmicutes	30.6147
k_Bacterialp_Actinobacteria	2.53696
k_Bacterialp_Proteobacteria	2.08152
k_Viruses p_Viruses_noname	0.11759
k_Bacterialp_Fusobacteria	0.0385
k_Bacterialp_Bacteroidetes c_Bacteroidia	64.61073
k_Bacterialp_Firmicutes c_Clostridia	27.12563
k_Bacterialp_Firmicutes c_Erysipelotrichia	2.95616
k_Bacterialp_Actinobacteria c_Actinobacteria	2.53696
k_Bacterialp_Proteobacteria c_Gammaproteobacteria	1.0123
k_Bacterialp_Proteobacteria c_Betaproteobacteria	0.94977
k_Bacterialp_Firmicutes c_Negativicutes	0.40202
k_Bacterialp_Firmicutes c_Bacilli	0.1309
k_Bacterialp_Proteobacteria c_Deltaproteobacteria	0.11944
k_Viruses p_Viruses_noname c_Viruses_noname	0.11759
k_Bacterialp_Fusobacteria c_Fusobacteria	0.0385
k_Bacterialp_Bacteroidetes c_Bacteroidia o_Bacteroidales	64.61073
k_Bacterialp_Firmicutes c_Clostridia o_Clostridiales	27.12563
k_Bacterialp_Firmicutes c_Erysipelotrichia o_Erysipelotrichales	2.95616

Figure 36 Résultat du traitement de l'échantillon (DT1) par l'outil *MetaPhlAn*.

Chaque lignée contient un taxon et son abondance relative trouvés pour l'échantillon en question. Le fichier commence par des taxons de haut niveau (royaume : k__) et va vers des taxons plus précis.

Résultats

- **Résultats de “Format MetaPhlAn2 output Extract abundance at the different taxonomic levels”**

Cet outil sert à extraire l’abondance à différents niveaux taxonomiques. Le fichier généré par cet outil contient le contenu de la communauté (abondance) à tous les niveaux taxonomiques (du royaume aux souches).

9 fichiers sont générés : un fichier par niveaux taxonomiques avec abondance pour les clades correspondants et un fichier combinant tous les niveaux taxonomiques et les abondances correspondantes.

Phylum

1	2
phylum	abundance
Bacteroidetes	44.48626
Firmicutes	43.74743
Actinobacteria	4.5121
Verrucomicrobia	2.76835
Euryarchaeota	2.30387
Proteobacteria	2.182

Figure 37 Abondance des phyla chez l'individu sain

1	2
phylum	abundance
Bacteroidetes	64.61073
Firmicutes	30.6147
Actinobacteria	2.53696
Proteobacteria	2.08152
Viruses noname	0.11759
Fusobacteria	0.0385

Figure 38 Abondance des phyla chez l'individu diabétique.

Résultats

Classe

1	2
class	abundance
Bacteroidia	44.48626
Clostridia	37.56571
Actinobacteria	4.5121
Negativicutes	3.87108
Verrucomicrobiae	2.76835
Methanobacteria	2.30387
Erysipelotrichia	1.62852
Betaproteobacteria	1.16726
Gammaproteobacteria	0.74086
Bacilli	0.68211
Deltaproteobacteria	0.25961
Epsilonproteobacteria	0.01427

Figure 39 Abondance des classes chez l'individu sain

1	2
class	abundance
Bacteroidia	64.61073
Clostridia	27.12563
Erysipelotrichia	2.95616
Actinobacteria	2.53696
Gammaproteobacteria	1.0123
Betaproteobacteria	0.94977
Negativicutes	0.40202
Bacilli	0.1309
Deltaproteobacteria	0.11944
Viruses noname	0.11759
Fusobacteriia	0.0385

Figure 40 Abondance des classes chez l'individu diabétique.

Espèce

1	2
species	abundance
Prevotella copri	31.16743
Ruminococcus bromii	7.6309
Eubacterium rectale	4.85973
Faecalibacterium prausnitzii	4.0355
Dialister succinatiphilus	3.84482
Roseburia inulinivorans	3.73731
Alistipes putredinis	3.0344
Akkermansia muciniphila	2.76835
Ruminococcus lactaris	2.51348
Methanobrevibacter smithii	2.30387
Bifidobacterium adolescentis	2.23493

Figure 41 Principales espèces présentes chez l'individu sain.

1	2
species	abundance
Prevotella copri	50.46098
Roseburia inulinivorans	6.64805
Prevotella stercorea	6.29411
Faecalibacterium prausnitzii	6.02558
Ruminococcus torques	4.14712
Eubacterium bifforme	2.20629
Collinsella aerofaciens	1.35888
Bacteroides finegoldii	1.19537
Ruminococcus sp 5 1 39BFAA	1.11863
Roseburia intestinalis	1.06549
Eubacterium rectale	0.91448
Dorea formicigenerans	0.90016
Bacteroides vulgatus	0.88678
Bacteroides ovatus	0.81149

Figure 42 Principales espèces présentes chez l'individu diabétique.

Résultats

• Résultats de Krona

Les figures ci-dessous (Fig43,44) représentent la visualisation graphique de la communauté microbienne présente au sein de chaque échantillon, représentation établie par l'utilisation de l'outil **Krona** ou on peut observer la diversité présente au niveau de chaque échantillon.

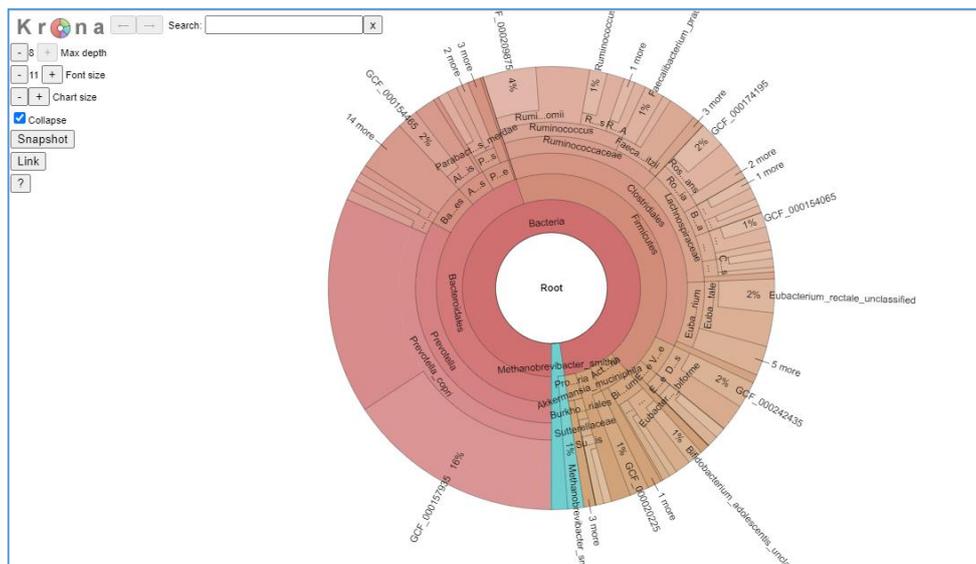


Figure 43 Représentation graphique de la population microbienne (échantillon sain).

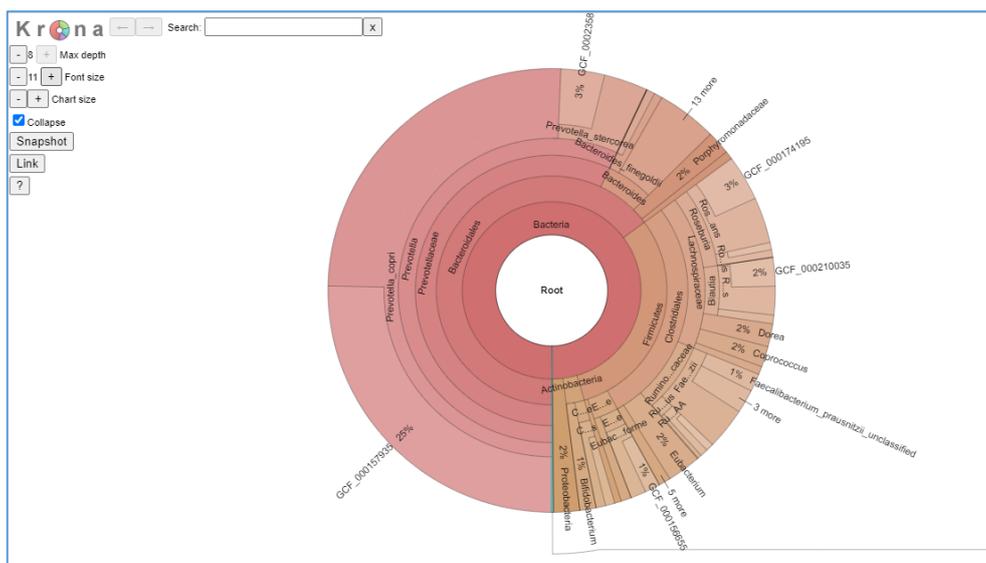


Figure 44 Représentation graphique de la population microbienne (échantillon DT1).

Résultats

• Résultats de GraPhlAn

Les figures ci-dessous (Fig.45,46) désignent une représentation graphique de la population microbienne présente au sein de l'échantillon, résultat de l'analyse de la séquence par l'outil *GraPhlAn*. *GraPhlAn* est un outil permettant de produire des représentations circulaires de haute qualité d'arbres taxonomiques et phylogénétiques.

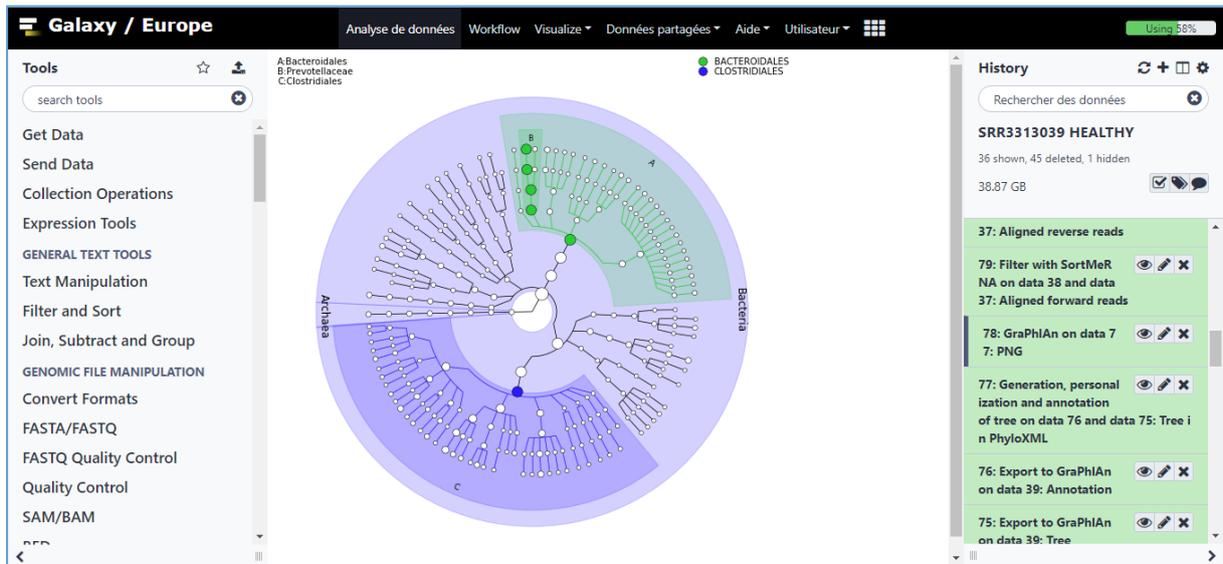


Figure 45 Résultat du traitement de l'échantillon sain par *GraPhlAn*.



Figure 46 Résultat du traitement de l'échantillon de DT1 par *GraPhlAn*.

3.3 Résultats de l'analyse fonctionnelle

- **Résultats de SortMeRna**

Les résultats de l'utilisation de l'outil SortMeRna sont indiqués dans les figures ci-dessous (Fig.47,48). **SortMeRna** a comme objectif principal de filtrer les séquences d'ARNr. Plusieurs fichiers sont générés qui montrent les alignements et un fichier **Log** qui contient les informations nécessaires quant au pourcentage de séquences d'ARNr dans l'échantillon.

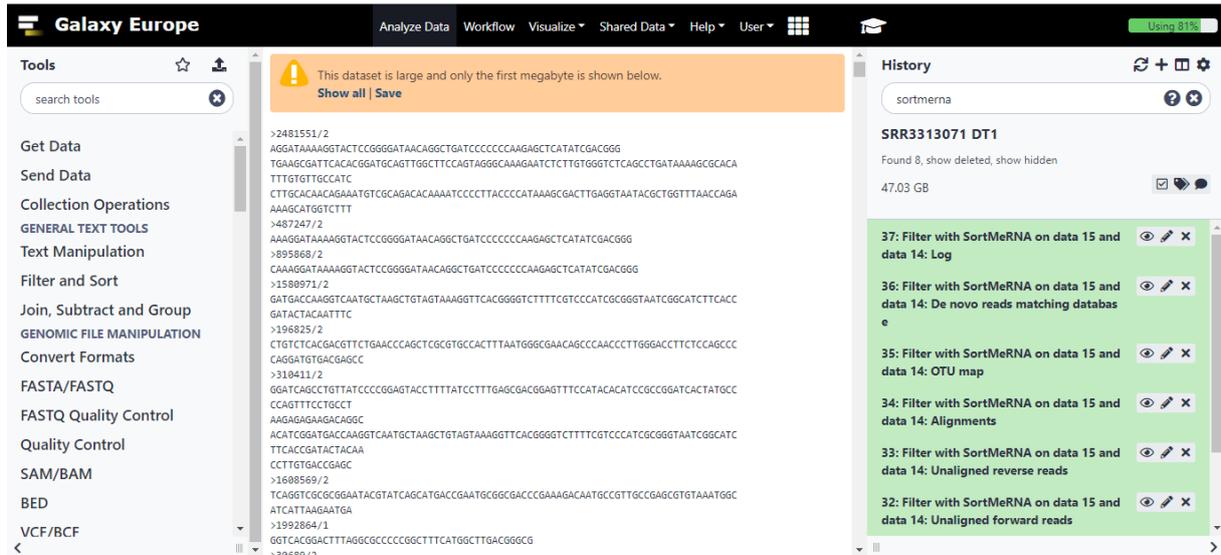


Figure 47 Résultat de l'outil SortMeRna.

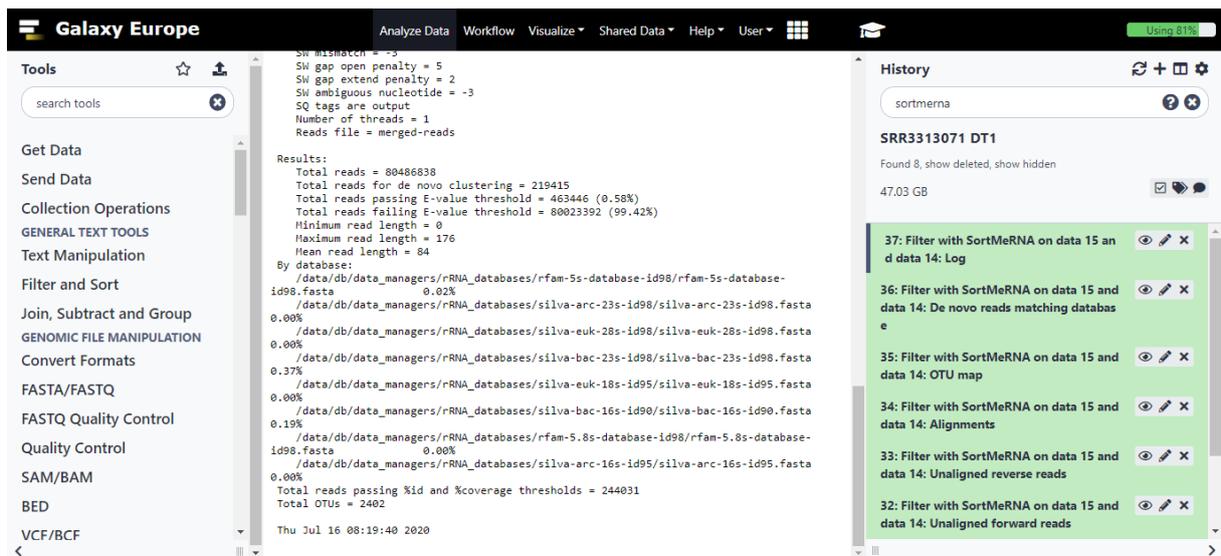


Figure 48 Résultat de l'outil SortMeRna.

Résultats

• Résultats de HUMAnN2

Les figures ci-dessous (Fig.49,50) indiquent la présence/absence et l'abondance des voies microbiennes dans une communauté donnée, processus visant à décrire le profilage fonctionnel de la communauté en question.

L'outil **HUMAnN2** génère 3 fichiers : un fichier avec l'abondance des familles de gènes (abundance of gene families), un fichier avec l'abondance des voies (of pathways), un fichier avec la présence/absence des voies (coverage of pathways). Les figures ci-après indiquent l'abondance des familles de gènes :

# Gene Family	humann2_Abundance-RPKs
# Gene Family	humann2_Abundance-RPKs
UNMAPPED	24035976.0000000000
UniRef50_unknown	360497.8338714688
UniRef50_unknown g__Prevotella.s__Prevotella_copri	186171.9681981298
UniRef50_unknown g__Prevotella.s__Prevotella_stercorea	17383.6754404147
UniRef50_unknown g__Citrobacter.s__Citrobacter_freundii	16160.2342059730
UniRef50_unknown g__Faecalibacterium.s__Faecalibacterium_prausnitzii	14008.5665956240
UniRef50_unknown g__Roseburia.s__Roseburia_inulinivorans	12418.5004963521
UniRef50_unknown g__Ruminococcus.s__Ruminococcus_bromii	8564.0223416533
UniRef50_unknown g__Parabacteroides.s__Parabacteroides_merdae	5535.1919157350
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_massiliensis	5003.8275928796
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_ovatus	4843.1922321734
UniRef50_unknown g__Dorea.s__Dorea_longicatena	4559.3636840455
UniRef50_unknown g__Blautia.s__Ruminococcus_obeum	4544.6127732874
UniRef50_unknown g__Alistipes.s__Alistipes_putredinis	4418.5719237642
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_caccae	4342.0546462725
UniRef50_unknown g__Ruminococcus.s__Ruminococcus_sp_5_1_39BFAA	4107.0433420842
UniRef50_unknown g__Ruminococcus.s__Ruminococcus_lactaris	3661.1695372913
UniRef50_unknown g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_adolescentis	3618.8263456409
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_vulgatus	3609.4021871004
UniRef50_unknown g__Eubacterium.s__Eubacterium_rectale	3496.5566994942
UniRef50_unknown g__Blautia.s__Ruminococcus_torques	3252.6528959542
UniRef50_unknown g__Parabacteroides.s__Parabacteroides_distasonis	3026.4983573881
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_uniformis	2923.3051129333
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_dorei	2893.5843739494

Figure 49 Résultats de l'abondance des familles de gènes dans l'échantillon sain.

Résultats

# Gene Family	humann2_Abundance-RPKs
# Gene Family	humann2_Abundance-RPKs
UNMAPPED	73230.0000000000
UniRef50_H6R3P7	9044.4579504392
UniRef50_H6R3P7 g__Bacteroides.s__Bacteroides_ovatus	9044.4579504392
UniRef50_A7AJP8	8734.5530364183
UniRef50_A7AJP8 g__Parabacteroides.s__Parabacteroides_merdae	8734.5530364183
UniRef50_C7T763: Conserved protein	8722.1415581468
UniRef50_C7T763: Conserved protein g__Blautia.s__Ruminococcus_obeum	5706.4467937456
UniRef50_C7T763: Conserved protein g__Streptococcus.s__Streptococcus_salivarius	3015.6947644011
UniRef50_F5XS62	5747.1938370366
UniRef50_F5XS62 g__Faecalibacterium.s__Faecalibacterium_prausnitzii	2231.5944091796
UniRef50_F5XS62 g__Eubacterium.s__Eubacterium_ventriosum	990.1812644606
UniRef50_F5XS62 g__Peptostreptococcaceae_noname.s__Clostridium_bartlettii	777.6226219195
UniRef50_F5XS62 g__Dorea.s__Dorea_longicatena	737.1793422524
UniRef50_F5XS62 g__Ruminococcus.s__Ruminococcus_lactaris	564.8902172590
UniRef50_F5XS62 g__Blautia.s__Ruminococcus_torques	335.3977676860
UniRef50_F5XS62 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_longum	110.3282142796
UniRef50_I9GGP8	5453.5678052635
UniRef50_I9GGP8 g__Bacteroides.s__Bacteroides_fragilis	5453.5678052635
UniRef50_B0TIG5	5344.2772130252
UniRef50_B0TIG5 g__Dorea.s__Dorea_longicatena	3073.1055498711
UniRef50_B0TIG5 g__Faecalibacterium.s__Faecalibacterium_prausnitzii	2271.1716631541
UniRef50_D0TK99	5269.5745906782
UniRef50_D0TK99 g__Bacteroides.s__Bacteroides_uniformis	3014.9736349045
UniRef50_D0TK99 g__Bacteroides.s__Bacteroides_sp.2.1.22	2254.6009557737

Figure 50 L'abondance des familles de gènes dans l'échantillon du DT1.

Ces résultats détaillent l'abondance de chaque famille de gènes dans la communauté. Les familles de gènes sont des groupes de séquences codant pour des protéines liées à l'évolution qui remplissent souvent des fonctions similaires. Ici, nous avons utilisé les familles de gènes UniRef50 : les séquences d'une famille de gènes ont au moins 50% d'identité de séquence.

L'abondance des familles de gènes au niveau de la communauté est stratifiée pour montrer les contributions des espèces connues et inconnues. Les contributions de l'abondance des espèces individuelles se résument à l'abondance totale de la communauté.

Résultats

L'abondance des familles de gènes est rapportée en RPK (reads per kilobase). Ce paramètre est utilisé pour normaliser la longueur du gène. Il reflète le nombre de copies relatif du gène (ou du transcrit) dans la communauté.

- **Résultats de Renormalize a HUMAnN2 generated table**

Dans cette partie de l'analyse, les abondances des familles de gènes et des voies sont exprimées en RPK (*reads per kilobase*) en tenant compte de la longueur du gène mais pas de la profondeur de séquençage de l'échantillon. (Fig51,52).

# Gene Family	humann2_Abundance-RELAB
# Gene Family	humann2_Abundance-RELAB
UNMAPPED	0.54254
UniRef50_unknown	0.00872351
UniRef50_unknown g__Prevotella.s__Prevotella_copri	0.00502202
UniRef50_unknown g__Prevotella.s__Prevotella_stercora	0.000413259
UniRef50_unknown g__Citrobacter.s__Citrobacter_freundii	0.000328434
UniRef50_unknown g__Faecalibacterium.s__Faecalibacterium_prausnitzii	0.000293432
UniRef50_unknown g__Roseburia.s__Roseburia_inulinivorans	0.000257155
UniRef50_unknown g__Ruminococcus.s__Ruminococcus_bromii	0.000181471
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_massiliensis	0.000151161
UniRef50_unknown g__Parabacteroides.s__Parabacteroides_merdae	0.000110429
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_ovatus	9.79042e-05
UniRef50_unknown g__Blautia.s__Ruminococcus_obeum	9.25e-05
UniRef50_unknown g__Dorea.s__Dorea_longicatena	9.16293e-05
UniRef50_unknown g__Alistipes.s__Alistipes_putredinis	8.86692e-05
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_caccae	8.59206e-05
UniRef50_unknown g__Methanobrevibacter.s__Methanobrevibacter_smithii	8.51524e-05
UniRef50_unknown g__Ruminococcus.s__Ruminococcus_sp_5_1_39BFAA	8.32823e-05
UniRef50_unknown g__Ruminococcus.s__Ruminococcus_lactaris	7.39826e-05
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_vulgatus	7.26876e-05
UniRef50_unknown g__Eubacterium.s__Eubacterium_rectale	7.19177e-05
UniRef50_unknown g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_adolescentis	7.18121e-05
UniRef50_unknown g__Blautia.s__Ruminococcus_torques	6.55374e-05

Figure 51 Tableau représentant les familles de gènes chez l'individu sain.

# Gene Family	humann2_Abundance-RELAB
# Gene Family	humann2_Abundance-RELAB
UNMAPPED	0.524546
UniRef50_unknown	0.00995303
UniRef50_unknown g__Prevotella.s__Prevotella_copri	0.00513045
UniRef50_unknown g__Prevotella.s__Prevotella_stercora	0.00156449
UniRef50_unknown g__Roseburia.s__Roseburia_inulinivorans	0.000435427
UniRef50_unknown g__Faecalibacterium.s__Faecalibacterium_prausnitzii	0.000373879
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_massiliensis	0.000323635
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_vulgatus	0.000178727
UniRef50_unknown g__Blautia.s__Ruminococcus_torques	0.000132966
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_ovatus	0.000122944
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_uniformis	0.000110944
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_finegoldii	0.000109722
UniRef50_unknown g__Escherichia.s__Escherichia_coli	0.00010579
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_dorei	0.000105187
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_xylanisolvens	9.47207e-05
UniRef50_unknown g__Sutterella.s__Sutterella_wadsworthensis	6.21089e-05
UniRef50_unknown g__Parabacteroides.s__Parabacteroides_distans	6.20709e-05
UniRef50_unknown g__Ruminococcus.s__Ruminococcus_sp_5_1_39BFAA	6.19237e-05
UniRef50_unknown g__Erysipelotrichaceae_noname.s__Eubacterium_biforme	5.97926e-05
UniRef50_unknown g__Bacteroides.s__Bacteroides_fragilis	5.27128e-05
UniRef50_unknown g__Dorea.s__Dorea_formicigenerans	5.21641e-05
UniRef50_unknown g__Blautia.s__Ruminococcus_obeum	5.03416e-05

Figure 52 Tableau représentant les familles de gènes chez l'individu diabétique.

Résultats

- **L'outil Unpack pathway abundances to show genes included**

Nous aimerions savoir quelles familles de gènes sont impliquées dans nos voies les plus abondantes et quelles espèces. Pour cela, nous utilisons cet outil pour décompresser les abondances des voies pour afficher les gènes inclus. On a obtenu comme résultats les figures ci-dessous. (Fig.53,54).

# Pathway	humann2_Abundance-RELAB1CMET2-PWY: N10-formyl-tetrahydrofolate biosynthesis
# Pathway	humann2_Abundance-RELAB1CMET2-PWY: N10-formyl-tetrahydrofolate biosynthesis
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea	2.72457e-05
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_Q384E2: Bifunctional protein FoI	6.6375e-06
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_F2KZK0: 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase	6.5888e-06
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_R7LHD4: Dihydrofolate reductase	8.29408e-06
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_Q7UID0: Thymidylate synthase	1.07045e-05
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_Q73WG1: Serine hydroxymethyltransferase	9.88047e-06
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_R5M798: Methylene tetrahydrofolate reductase	9.64955e-05
1CMET2-PWY g__Eubacterium_s__Eubacterium_rectale	1.35653e-05
1CMET2-PWY g__Eubacterium_s__Eubacterium_rectale UniRef50_E05281: Methionine synthase Meth	3.93576e-06
1CMET2-PWY g__Eubacterium_s__Eubacterium_rectale UniRef50_D49X4: Dihydrofolate reductase	5.25757e-06
1CMET2-PWY g__Eubacterium_s__Eubacterium_rectale UniRef50_G4ZCQ7: Methylene tetrahydrofolate reductase	3.21652e-05
1CMET2-PWY g__Eubacterium_s__Eubacterium_rectale UniRef50_D4LL6: 5,10-methylenetetrahydrofolate synthetase	4.28001e-06
1CMET2-PWY g__Eubacterium_s__Eubacterium_rectale UniRef50_B35U1: Bifunctional protein FoI	4.5664e-06
1CMET2-PWY g__Eubacterium_s__Eubacterium_rectale UniRef50_Q73WG1: Serine hydroxymethyltransferase	4.0302e-06
1CMET2-PWY g__Alitipes_s__Alitipes_putredinis	1.1252e-05
1CMET2-PWY g__Alitipes_s__Alitipes_putredinis UniRef50_X8VGF7: 5,10-methylenetetrahydrofolate synthetase	3.70979e-06
1CMET2-PWY g__Alitipes_s__Alitipes_putredinis UniRef50_A45V76: Dihydrofolate reductase	3.47155e-06
1CMET2-PWY g__Alitipes_s__Alitipes_putredinis UniRef50_Q5M0P7: Bifunctional protein FoI	3.329e-06
1CMET2-PWY g__Alitipes_s__Alitipes_putredinis UniRef50_P9A0M5: Thymidylate synthase	3.07726e-06
1CMET2-PWY g__Alitipes_s__Alitipes_putredinis UniRef50_Q73WG1: Serine hydroxymethyltransferase	3.32789e-06
1CMET2-PWY g__Alitipes_s__Alitipes_putredinis UniRef50_L3Y1B3: Methylene tetrahydrofolate reductase	3.29502e-06
1CMET2-PWY g__Akkeermansia_s__Akkeermansia_muciniphila	7.60503e-06
1CMET2-PWY g__Akkeermansia_s__Akkeermansia_muciniphila UniRef50_I0544: Methylene tetrahydrofolate reductase	2.76553e-06
1CMET2-PWY g__Akkeermansia_s__Akkeermansia_muciniphila UniRef50_F48QN7: Thymidylate synthase	5.80893e-06
1CMET2-PWY g__Akkeermansia_s__Akkeermansia_muciniphila UniRef50_R6J559: Dihydrofolate reductase	1.70985e-06
1CMET2-PWY g__Akkeermansia_s__Akkeermansia_muciniphila UniRef50_A8PC1: Serine hydroxymethyltransferase	2.17355e-06
1CMET2-PWY g__Akkeermansia_s__Akkeermansia_muciniphila UniRef50_A9K61: Thymidylate synthase	2.35677e-06
1CMET2-PWY g__Akkeermansia_s__Akkeermansia_muciniphila UniRef50_A0M554: Bifunctional protein FoI	2.25752e-06
1CMET2-PWY g__Akkeermansia_s__Akkeermansia_muciniphila UniRef50_R7DX86: 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase	1.40882e-06
1CMET2-PWY g__Citrobacter_s__Citrobacter_freundii	3.501e-06
1CMET2-PWY g__Citrobacter_s__Citrobacter_freundii UniRef50_P0A8Q3: Dihydrofolate reductase	6.89783e-07
1CMET2-PWY g__Citrobacter_s__Citrobacter_freundii UniRef50_P0AEZ1: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase	1.27259e-06
1CMET2-PWY g__Citrobacter_s__Citrobacter_freundii UniRef50_F7YL81: 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase	1.03397e-06

Figure 53 Abondance des familles de gènes impliquées dans les voies métaboliques (sain).

# Pathway	humann2_Abundance-RELAB1CMET2-PWY: N10-formyl-tetrahydrofolate biosynthesis
# Pathway	humann2_Abundance-RELAB1CMET2-PWY: N10-formyl-tetrahydrofolate biosynthesis
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea	8.26891e
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_Q384E2: Bifunctional protein FoI	1.87347e
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_F2KZK0: 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase	1.96176e
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_R7LHD4: Dihydrofolate reductase	2.40156e
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_Q7UID0: Thymidylate synthase	3.39178e
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_Q73WG1: Serine hydroxymethyltransferase	2.20107e
1CMET2-PWY g__Prevotella_s__Prevotella_stercorea UniRef50_R5M798: Methylene tetrahydrofolate reductase	3.22222e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_vulgatus	9.60093e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_vulgatus UniRef50_F3ZP58: Dihydrofolate reductase	2.26658e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_vulgatus UniRef50_A0M554: Bifunctional protein FoI	3.27676e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_vulgatus UniRef50_F3ZL45: 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase	1.38766e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_vulgatus UniRef50_Q7UID0: Thymidylate synthase	3.67197e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_vulgatus UniRef50_Q73WG1: Serine hydroxymethyltransferase	2.4685e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_vulgatus UniRef50_R5M798: Methylene tetrahydrofolate reductase	5.22874e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_finegoldii	4.11434e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_finegoldii UniRef50_A0M554: Bifunctional protein FoI	1.11078e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_finegoldii UniRef50_F3ZL45: 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase	1.33195e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_finegoldii UniRef50_R7LHD4: Dihydrofolate reductase	9.6235e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_finegoldii UniRef50_Q7UID0: Thymidylate synthase	1.08254e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_finegoldii UniRef50_Q73WG1: Serine hydroxymethyltransferase	1.18705e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_finegoldii UniRef50_R5M798: Methylene tetrahydrofolate reductase	1.52537e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_uniformis	3.807e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_uniformis UniRef50_A0M554: Bifunctional protein FoI	1.08398e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_uniformis UniRef50_R6EDC8: Dihydrofolate reductase	1.24427e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_uniformis UniRef50_F3ZL45: 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase	1.26796e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_uniformis UniRef50_Q7UID0: Thymidylate synthase	9.98522e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_uniformis UniRef50_Q73WG1: Serine hydroxymethyltransferase	1.07304e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_uniformis UniRef50_R5M798: Methylene tetrahydrofolate reductase	9.10421e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_ovatus	2.88337e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_ovatus UniRef50_F3ZP58: Dihydrofolate reductase	4.24506e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_ovatus UniRef50_A0M554: Bifunctional protein FoI	1.16962e
1CMET2-PWY g__Bacteroides_s__Bacteroides_ovatus UniRef50_F3ZL45: 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase	3.77771e

Figure 54 Abondance des familles de gènes impliquées dans les voies métaboliques (DT1).

Résultats

3.4 Résultats de l'analyse fonctionnelle et taxonomique

Group abundances into GO slim terms

- **Résultats de Group abundances**

Les familles de gènes peuvent être une longue liste d'identifiants et parcourir les familles de gènes une par une pour identifier les plus intéressantes peut être fastidieux. **Group abundances** est un outil qui aide à construire une vue d'ensemble, nous avons obtenu 3 fichiers à partir de l'exécution de cet outil (pour chaque échantillon) ; les abundances de termes GO slim sont regroupés en 3 groupes : 1. fonctions moléculaires, 2. processus biologiques 3. Composants cellulaires. Chez l'individu sain on observe : (Fig55,56,57).

1	2	3
GO id	GO name	Abundance
GO:0000150	recombinase activity	55987.829
GO:0000150 g_Alistipes.s_Alistipes_putredinis	recombinase activity g_Alistipes.s_Alistipes_putredinis	1015.182
GO:0000150 g_Alistipes.s_Alistipes_shahii	recombinase activity g_Alistipes.s_Alistipes_shahii	262.905
GO:0000150 g_Anaerostipes.s_Anaerostipes_hadrus	recombinase activity g_Anaerostipes.s_Anaerostipes_hadrus	95.074
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_caccae	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_caccae	140.406
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_cellulosilyticus	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_cellulosilyticus	142.115
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_clarus	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_clarus	7.663
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_dorei	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_dorei	283.294
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_finegoldii	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_finegoldii	28.525
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_massiliensis	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_massiliensis	64.822
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_ovatus	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_ovatus	2441.341
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_1_1_6	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_1_1_6	287.397
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_2_1_22	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_2_1_22	132.734
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_thetaiotaomicron	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_thetaiotaomicron	23.535
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_uniformis	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_uniformis	73.208
GO:0000150 g_Bacteroides.s_Bacteroides_vulgatus	recombinase activity g_Bacteroides.s_Bacteroides_vulgatus	84.395
GO:0000150 g_Barnesiella.s_Barnesiella_intestinihominis	recombinase activity g_Barnesiella.s_Barnesiella_intestinihominis	12.237
GO:0000150 g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_longum	recombinase activity g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_longum	176.542
GO:0000150 g_Blautia.s_Ruminococcus_obeum	recombinase activity g_Blautia.s_Ruminococcus_obeum	1786.238
GO:0000150 g_Blautia.s_Ruminococcus_torques	recombinase activity g_Blautia.s_Ruminococcus_torques	1718.867
GO:0000150 g_Citrobacter.s_Citrobacter_freundii	recombinase activity g_Citrobacter.s_Citrobacter_freundii	4.357
GO:0000150 g_Clostridiaceae_noname.s_Clostridiaceae_bacterium_JC118	recombinase activity g_Clostridiaceae_noname.s_Clostridiaceae_bacterium_JC118	1.672
GO:0000150 g_Clostridium.s_Clostridium_leptum	recombinase activity g_Clostridium.s_Clostridium_leptum	244.438
GO:0000150 g_Collinsella.s_Collinsella_aerofaciens	recombinase activity g_Collinsella.s_Collinsella_aerofaciens	58.356

Figure 55 Tableau représentant les résultats de l'abondance des fonctions moléculaires chez l'individu sain.

Résultats

1	2	3
GO id	GO name	Abundance
GO:000160	phosphorelay signal transduction system	317293.019
GO:000160 g_Akkermansia.s_Akkermansia_muciniphila	phosphorelay signal transduction system g_Akkermansia.s_Akkermansia_muciniphila	1409.12
GO:000160 g_Alistipes.s_Alistipes_finegoldii	phosphorelay signal transduction system g_Alistipes.s_Alistipes_finegoldii	583.536
GO:000160 g_Alistipes.s_Alistipes_putredinis	phosphorelay signal transduction system g_Alistipes.s_Alistipes_putredinis	3374.159
GO:000160 g_Alistipes.s_Alistipes_shahii	phosphorelay signal transduction system g_Alistipes.s_Alistipes_shahii	378.529
GO:000160 g_Anaerostipes.s_Anaerostipes_hadrus	phosphorelay signal transduction system g_Anaerostipes.s_Anaerostipes_hadrus	2171.79
GO:000160 g_Bacteroidales_noname.s_Bacteroidales_bacterium_ph8	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroidales_noname.s_Bacteroidales_bacterium_ph8	192.246
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_caccae	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_caccae	3319.623
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_cellulosilyticus	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_cellulosilyticus	782.602
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_clarus	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_clarus	381.856
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_dorei	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_dorei	1989.954
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_finegoldii	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_finegoldii	1522.297
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_massiliensis	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_massiliensis	2661.793
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_ovatus	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_ovatus	5130.455
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_1_1_6	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_1_1_6	3841.945
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_2_1_22	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_2_1_22	772.622
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_thetaiotaomicron	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_thetaiotaomicron	1158.627
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_uniformis	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_uniformis	2331.478
GO:000160 g_Bacteroides.s_Bacteroides_vulgatus	phosphorelay signal transduction system g_Bacteroides.s_Bacteroides_vulgatus	2945.849
GO:000160 g_Barnesiella.s_Barnesiella_intestinihominis	phosphorelay signal transduction system g_Barnesiella.s_Barnesiella_intestinihominis	142.457
GO:000160 g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_adolescentis	phosphorelay signal transduction system g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_adolescentis	1932.575
GO:000160 g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_catenuatum	phosphorelay signal transduction system g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_catenuatum	319.316
GO:000160 g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_longum	phosphorelay signal transduction system g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_longum	703.794
GO:000160 g_Blautia.s_Ruminococcus_obeum	phosphorelay signal transduction system g_Blautia.s_Ruminococcus_obeum	8774.75
GO:000160 g_Blautia.s_Ruminococcus_torques	phosphorelay signal transduction system g_Blautia.s_Ruminococcus_torques	5830.355
GO:000160 g_Burkholderiales_noname.s_Burkholderiales_bacterium_1_1_47	phosphorelay signal transduction system g_Burkholderiales_noname.s_Burkholderiales_bacterium_1_1_47	156.429
GO:000160 g_Campylobacter.s_Campylobacter_hominis	phosphorelay signal transduction system g_Campylobacter.s_Campylobacter_hominis	12.958
GO:000160 g_Citrobacter.s_Citrobacter_freundii	phosphorelay signal transduction system g_Citrobacter.s_Citrobacter_freundii	3386.675
GO:000160 g_Clostridiaceae_noname.s_Clostridiaceae_bacterium_JC118	phosphorelay signal transduction system g_Clostridiaceae_noname.s_Clostridiaceae_bacterium_JC118	26.464

Figure 56 Tableau représentant les résultats de l'abondance des processus biologiques chez l'individu sain.

1	2	3
GO id	GO name	Abundance
GO:0005575	cellular_component	336439.767
GO:0005575 g_Akkermansia.s_Akkermansia_muciniphila	cellular_component g_Akkermansia.s_Akkermansia_muciniphila	5295.429
GO:0005575 g_Alistipes.s_Alistipes_finegoldii	cellular_component g_Alistipes.s_Alistipes_finegoldii	567.716
GO:0005575 g_Alistipes.s_Alistipes_putredinis	cellular_component g_Alistipes.s_Alistipes_putredinis	5025.573
GO:0005575 g_Alistipes.s_Alistipes_shahii	cellular_component g_Alistipes.s_Alistipes_shahii	529.169
GO:0005575 g_Anaerostipes.s_Anaerostipes_hadrus	cellular_component g_Anaerostipes.s_Anaerostipes_hadrus	1223.587
GO:0005575 g_Bacteroidales_noname.s_Bacteroidales_bacterium_ph8	cellular_component g_Bacteroidales_noname.s_Bacteroidales_bacterium_ph8	452.21
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_caccae	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_caccae	2022.234
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_cellulosilyticus	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_cellulosilyticus	503.842
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_clarus	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_clarus	498.408
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_dorei	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_dorei	822.977
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_finegoldii	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_finegoldii	283.251
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_massiliensis	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_massiliensis	740.874
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_ovatus	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_ovatus	1923.743
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_1_1_6	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_1_1_6	897.354
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_2_1_22	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_sp_2_1_22	415.144
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_thetaiotaomicron	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_thetaiotaomicron	615.42
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_uniformis	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_uniformis	1298.124
GO:0005575 g_Bacteroides.s_Bacteroides_vulgatus	cellular_component g_Bacteroides.s_Bacteroides_vulgatus	2079.581
GO:0005575 g_Barnesiella.s_Barnesiella_intestinihominis	cellular_component g_Barnesiella.s_Barnesiella_intestinihominis	181.073
GO:0005575 g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_adolescentis	cellular_component g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_adolescentis	3280.482
GO:0005575 g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_catenuatum	cellular_component g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_catenuatum	1109.999
GO:0005575 g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_longum	cellular_component g_Bifidobacterium.s_Bifidobacterium_longum	1150.494
GO:0005575 g_Blautia.s_Ruminococcus_obeum	cellular_component g_Blautia.s_Ruminococcus_obeum	3846.373

Figure 57 Tableau représentant les résultats de l'abondance des Composants cellulaires chez l'individu sain.

Résultats

Chez l'individu atteint de DT1 les résultats sont comme suit : (Fig58,59,60).

1	2	3
GO id	GO name	Abundance
GO:0000150	recombinase activity	48570.096
GO:0000150 g__Acidaminococcus.s__Acidaminococcus_intestini	recombinase activity g__Acidaminococcus.s__Acidaminococcus_intestini	403.749
GO:0000150 g__Alistipes.s__Alistipes_putredinis	recombinase activity g__Alistipes.s__Alistipes_putredinis	92.335
GO:0000150 g__Alistipes.s__Alistipes_shahii	recombinase activity g__Alistipes.s__Alistipes_shahii	132.373
GO:0000150 g__Anaerostipes.s__Anaerostipes_hadrus	recombinase activity g__Anaerostipes.s__Anaerostipes_hadrus	241.946
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_dorei	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_dorei	936.732
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_faecis	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_faecis	3023.878
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_finegoldii	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_finegoldii	93.531
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_fragilis	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_fragilis	2797.296
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_massiliensis	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_massiliensis	77.14
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_ovatus	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_ovatus	409.836
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_salysariae	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_salysariae	18.632
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_sp_2_1_22	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_sp_2_1_22	298.078
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_stercoris	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_stercoris	30.935
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_thetaiotaomicron	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_thetaiotaomicron	2.009
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_uniformis	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_uniformis	115.962
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_vulgatus	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_vulgatus	309.74
GO:0000150 g__Bacteroides.s__Bacteroides_xylanisolvens	recombinase activity g__Bacteroides.s__Bacteroides_xylanisolvens	569.601
GO:0000150 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_catenuatum	recombinase activity g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_catenuatum	15.27
GO:0000150 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_longum	recombinase activity g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_longum	114.736
GO:0000150 g__Bilophila.s__Bilophila_wadsworthia	recombinase activity g__Bilophila.s__Bilophila_wadsworthia	2.169
GO:0000150 g__Blautia.s__Ruminococcus_obeum	recombinase activity g__Blautia.s__Ruminococcus_obeum	1729.141
GO:0000150 g__Blautia.s__Ruminococcus_torques	recombinase activity g__Blautia.s__Ruminococcus_torques	2914.587
GO:0000150 g__Catenibacterium.s__Catenibacterium_mitsuokai	recombinase activity g__Catenibacterium.s__Catenibacterium_mitsuokai	19.024

Figure 58 Tableau représentant les résultats de l'abondance des fonctions moléculaires (DT1)

1	2	3
GO id	GO name	Abundance
GO:0000160	phosphorelay signal transduction system	288670.315
GO:0000160 g__Alistipes.s__Alistipes_finegoldii	phosphorelay signal transduction system g__Alistipes.s__Alistipes_finegoldii	77.907
GO:0000160 g__Alistipes.s__Alistipes_putredinis	phosphorelay signal transduction system g__Alistipes.s__Alistipes_putredinis	253.614
GO:0000160 g__Alistipes.s__Alistipes_shahii	phosphorelay signal transduction system g__Alistipes.s__Alistipes_shahii	571.166
GO:0000160 g__Alloprevotella.s__Alloprevotella_tanneriae	phosphorelay signal transduction system g__Alloprevotella.s__Alloprevotella_tanneriae	143.291
GO:0000160 g__Anaerostipes.s__Anaerostipes_hadrus	phosphorelay signal transduction system g__Anaerostipes.s__Anaerostipes_hadrus	1116.282
GO:0000160 g__Bacteroidales.noname.s__Bacteroidales_bacterium_ph8	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroidales.noname.s__Bacteroidales_bacterium_ph8	159.002
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_dorei	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_dorei	2153.444
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_faecis	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_faecis	844.24
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_finegoldii	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_finegoldii	2105.347
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_fragilis	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_fragilis	440.131
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_massiliensis	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_massiliensis	1830.133
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_ovatus	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_ovatus	4617.016
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_salysariae	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_salysariae	1043.336
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_sp_2_1_22	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_sp_2_1_22	698.725
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_stercoris	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_stercoris	974.613
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_thetaiotaomicron	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_thetaiotaomicron	4089.695
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_uniformis	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_uniformis	3773.529
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_vulgatus	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_vulgatus	6329.196
GO:0000160 g__Bacteroides.s__Bacteroides_xylanisolvens	phosphorelay signal transduction system g__Bacteroides.s__Bacteroides_xylanisolvens	1503.266
GO:0000160 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_adolescentis	phosphorelay signal transduction system g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_adolescentis	322.043
GO:0000160 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_bifidum	phosphorelay signal transduction system g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_bifidum	33.701
GO:0000160 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_catenuatum	phosphorelay signal transduction system g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_catenuatum	164.418
GO:0000160 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_longum	phosphorelay signal transduction system g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_longum	180.281
GO:0000160 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_pseudocatenuatum	phosphorelay signal transduction system g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_pseudocatenuatum	760.315
GO:0000160 g__Bilophila.s__Bilophila_wadsworthia	phosphorelay signal transduction system g__Bilophila.s__Bilophila_wadsworthia	303.133
GO:0000160 g__Blautia.s__Ruminococcus_obeum	phosphorelay signal transduction system g__Blautia.s__Ruminococcus_obeum	4721.648
GO:0000160 g__Blautia.s__Ruminococcus_torques	phosphorelay signal transduction system g__Blautia.s__Ruminococcus_torques	8996.201
GO:0000160 g__Catenibacterium.s__Catenibacterium_mitsuokai	phosphorelay signal transduction system g__Catenibacterium.s__Catenibacterium_mitsuokai	1309.091

Figure 59 Tableau représentant les résultats de l'abondance des processus biologiques (DT1).

Résultats

1	2	3
GO id	GO name	Abundance
GO:0005575	cellular_component	302051.389
GO:0005575 g__Alistipes.s__Alistipes_finegoldii	cellular_component g__Alistipes.s__Alistipes_finegoldii	180.73
GO:0005575 g__Alistipes.s__Alistipes_putredinis	cellular_component g__Alistipes.s__Alistipes_putredinis	252.258
GO:0005575 g__Alistipes.s__Alistipes_shahii	cellular_component g__Alistipes.s__Alistipes_shahii	468.075
GO:0005575 g__Alloprevotella.s__Alloprevotella_tannerae	cellular_component g__Alloprevotella.s__Alloprevotella_tannerae	191.966
GO:0005575 g__Anaerostipes.s__Anaerostipes_hadrus	cellular_component g__Anaerostipes.s__Anaerostipes_hadrus	557.944
GO:0005575 g__Bacteroidales_noname.s__Bacteroidales_bacterium_ph8	cellular_component g__Bacteroidales_noname.s__Bacteroidales_bacterium_ph8	229.665
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_dorei	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_dorei	1282.21
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_faecis	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_faecis	488.227
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_finegoldii	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_finegoldii	2352.109
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_fragilis	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_fragilis	154.949
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_massiliensis	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_massiliensis	1590.454
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_ovatus	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_ovatus	1669.14
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_salysiae	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_salysiae	444.785
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_sp_2_1_22	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_sp_2_1_22	541.297
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_stercoris	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_stercoris	1142.087
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_thetaiotaomicron	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_thetaiotaomicron	640.713
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_uniformis	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_uniformis	2427.383
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_vulgatus	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_vulgatus	4425.367
GO:0005575 g__Bacteroides.s__Bacteroides_xylanisolvens	cellular_component g__Bacteroides.s__Bacteroides_xylanisolvens	667.473
GO:0005575 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_adolescentis	cellular_component g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_adolescentis	628.407
GO:0005575 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_bifidum	cellular_component g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_bifidum	67.611
GO:0005575 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_catulatum	cellular_component g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_catulatum	588.02
GO:0005575 g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_longum	cellular_component g__Bifidobacterium.s__Bifidobacterium_longum	340.064

Figure 60 Tableau représentant les résultats de l'abondance des Composants cellulaires (DT1).

L'analyse de Gene Ontology (GO) est largement utilisée pour réduire la complexité et mettre en évidence les processus biologiques, l'outil dédié a cela est l'outil **Group Abundances** qui regroupe et convertit les abondances des familles de gènes UniRef50 générées avec **HUMAN2** en termes GO slim. Les propriétés des produits géniques sont décrites selon trois axes :

- **Les composants cellulaires** auxquels ils s'appliquent, qu'il s'agisse du milieu intracellulaire ou de l'environnement extracellulaire.
- **Les fonctions moléculaires** réalisées, par exemple structurelles ou catalytiques pour une protéine.
- **Les processus biologiques**, c'est-à-dire les transformations moléculaires nécessaires au fonctionnement d'entités biologiques intégrées

On peut le voir dans la Figure 55 par exemple, ou elle représente les fonctions moléculaires chez l'individu sain, on peut noter que toutes les espèces qui apparaissent dans le tableau présentent une activité de recombinaison, le tableau indique également l'abondance de chaque espèce, ainsi qu'un identifiant GO qu'on pourra utiliser dans la base de données de GO.

Résultats

- **Résultats de Combine MetaPhlan2 and HUMAnN2 outputs**

Avec **MetaPhlan2** nous avons étudié « Quels micro-organismes sont présents dans mon échantillon ? » et avec **HUMAnN2** « Quelles fonctions sont remplies par les micro-organismes dans mon échantillon ? ». En utilisant **Combine MetaPhlan2 and HUMAnN2 outputs** nous obtenant une combinaison de résultats fonctionnels et taxonomiques. Par conséquent, pour chaque famille / voie de gène et la stratification taxonomique correspondante, nous allons maintenant extraire l'abondance relative de cette famille / voie de gène et l'abondance relative de l'espèce et du genre correspondants. L'abondance des voies liées aux abondances des genres / espèces : (Fig61,62).

1	2	3	4	5	6	7
genus	genus_abundance	species	species_abundance	pathways_id	pathways_name	pathways_abundance
Prevotella	32.65633	Prevotella_copri	31.16743	UNINTEGRATED		17.92158770838946
Faecalibacterium	4.0355	Faecalibacterium_prausnitzii	4.0355	UNINTEGRATED		2.546278253622328
Eubacterium	6.99934	Eubacterium_rectale	4.85973	UNINTEGRATED		1.668518855638
Roseburia	4.77727	Roseburia_inulinivorans	3.73731	UNINTEGRATED		1.655368864656987
Ruminococcus	11.74423	Ruminococcus_bromii	7.6309	UNINTEGRATED		1.4698489918967192
Prevotella	32.65633	Prevotella_stercorea	1.4889	UNINTEGRATED		1.3725090586577995
Dialister	3.84482	Dialister_succinatiphilus	3.84482	UNINTEGRATED		1.1044192425285402
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_ovatus	0.81159	UNINTEGRATED		1.0350592900994102
Alistipes	3.41934	Alistipes_putredinis	3.0344	UNINTEGRATED		0.9460633511377201
Blautia	2.72816	Ruminococcus_obeum	1.0618	UNINTEGRATED		0.903641380233041
Ruminococcus	11.74423	Ruminococcus_lactaris	2.51348	UNINTEGRATED		0.8026954494673124
Parabacteroides	2.31269	Parabacteroides_merdae	1.45628	UNINTEGRATED		0.7676704734893673
Dorea	2.72646	Dorea_longicatena	2.12625	UNINTEGRATED		0.7656424748802803
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_vulgatus	0.40284	UNINTEGRATED		0.6271805698450702
Blautia	2.72816	Ruminococcus_torques	1.65689	UNINTEGRATED		0.6166985770341974
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_caccae	1.25143	UNINTEGRATED		0.6122185801068256
Ruminococcus	11.74423	Ruminococcus_sp_5_1_39BFAA	1.59986	UNINTEGRATED		0.5883795964569118
Roseburia	4.77727	Roseburia_intestinalis	0.33693	UNINTEGRATED		0.5859145981475432
Coprococcus	1.58654	Coprococcus_comes	1.24171	UNINTEGRATED		0.5571566178713478
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_uniformis	0.33128	UNINTEGRATED		0.5457756256770582
Citrobacter	0.53766	Citrobacter_freundii	0.24625	UNINTEGRATED		0.5307136360073992
Erysipelotrichaceae_noname	1.61933	Eubacterium_biforme	1.58798	UNINTEGRATED		0.49677465928461595
Parabacteroides	2.31269	Parabacteroides_distasonis	0.81918	UNINTEGRATED		0.48561166694081015
Akkermansia	2.76835	Akkermansia_muciniphila	2.76835	UNINTEGRATED		0.45490368800203096
Bifidobacterium	3.49484	Bifidobacterium_adolescentis	2.23493	UNINTEGRATED		0.4478016928729699
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_dorei	0.1656	UNINTEGRATED		0.4384236993049137
Sutterella	1.14407	Sutterella_wadsworthensis	1.14407	UNINTEGRATED		0.42522670835613585
Methanobrevibacter	2.30387	Methanobrevibacter_smithii	2.30387	UNINTEGRATED		0.41469871557681237
Dorea	2.72646	Dorea_formicigenans	0.60021	UNINTEGRATED		0.390381732254737

Figure 61 Résultats de l'abondance des voies liée à l'abondance des genres/espèces chez l'individu sain.

Résultats

1	2	3	4	5	6	7
genus	genus_abundance	species	species_abundance	pathways_id	pathways_name	pathways_abundance
Prevotella	56.75851	Prevotella_copri	50.46098	UNINTEGRATED		18.06628509764533
Prevotella	56.75851	Prevotella_stercorea	6.29411	UNINTEGRATED		3.9498167419107117
Faecalibacterium	6.02558	Faecalibacterium_prausnitzii	6.02558	UNINTEGRATED		3.7493769072477185
Roseburia	7.73176	Roseburia_inulinivorans	6.64805	UNINTEGRATED		2.972257548270942
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_vulgatus	0.88678	UNINTEGRATED		1.6678786242152903
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_uniformis	0.56378	UNINTEGRATED		1.538928730582318
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_ovatus	0.81149	UNINTEGRATED		1.5343887343272296
Blautia	4.77821	Ruminococcus_torques	4.14712	UNINTEGRATED		1.2668089550460297
Escherichia	0.7312	Escherichia_coli	0.7242	UNINTEGRATED		0.8606252900951556
Roseburia	7.73176	Roseburia_intestinalis	1.06549	UNINTEGRATED		0.8201353234941551
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_dorei	0.0824	UNINTEGRATED		0.8123423299223694
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_massiliensis	0.53375	UNINTEGRATED		0.7534823784742363
Sutterella	0.60529	Sutterella_wadsworthensis	0.60529	UNINTEGRATED		0.7306583973010766
Erysipelotrichaceae_noname	2.20745	Eubacterium_bifforme	2.20629	UNINTEGRATED		0.6130284943305725
Parabacteroides	0.86356	Parabacteroides_distasonis	0.40442	UNINTEGRATED		0.5143675757131032
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_finegoldii	1.19537	UNINTEGRATED		0.5139095760908937
Eubacterium	2.43204	Eubacterium_rectale	0.91448	UNINTEGRATED		0.5071755816455704
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_faecis	0.12509	UNINTEGRATED		0.4702326121187547
Dorea	1.65764	Dorea_formicigenerans	0.90016	UNINTEGRATED		0.4701336122004169
Ruminococcus	1.40383	Ruminococcus_sp_5_1_39BFAA	1.11863	UNINTEGRATED		0.43912263778047045
Blautia	4.77821	Ruminococcus_obeum	0.6293	UNINTEGRATED		0.42149165232375896
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_thetaiotaomicron	0.35602	UNINTEGRATED		0.4081956632912348
Dorea	1.65764	Dorea_longicatena	0.75748	UNINTEGRATED		0.3808126858786587
Coprococcus	1.5019	Coprococcus_comes	0.62669	UNINTEGRATED		0.3761836896969834
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_fragilis	0.01044	UNINTEGRATED		0.3645876992621797
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_stercoris	0.45926	UNINTEGRATED		0.362137701283112
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_xylanisolvans	0.01454	UNINTEGRATED		0.35184970976937785
Collinsella	1.35888	Collinsella_aerofaciens	1.35888	UNINTEGRATED		0.3477727131323741
Eubacterium	2.43204	Eubacterium_ventriosum	0.47061	UNINTEGRATED		0.32780772960091004

Figure 62 Résultats de l'abondance des voies liée à l'abondance des genres/espèces chez l'individu diabétique.

Pour chaque famille / voie de gène et la stratification taxonomique correspondante, on obtient l'abondance relative de cette famille / voie métabolique et l'abondance relative des espèces et du genre correspondant. Pour chaque gène ou voie métabolique on peut utiliser l'identifiant dans la base de données correspondante pour obtenir plus d'informations.

Résultats

L'abondance des familles de gènes liée à l'abondance des genres / espèces : (Fig63,64).

1	2	3	4	5	6	7
genus	genus_abundance	species	species_abundance	gene_families_id	gene_families_name	gene_families_abundance
Prevotella	32.65633	Prevotella_copri	31.16743	UniRef50_unknown		0.5022017571571765
Prevotella	32.65633	Prevotella_stercora	1.4889	UniRef50_unknown		0.0413258001661037
Citrobacter	0.53766	Citrobacter_freundii	0.24625	UniRef50_unknown		0.0328493841183747
Faecalibacterium	4.0355	Faecalibacterium_prausnitzii	4.0355	UniRef50_unknown		0.029343185810917643
Roseburia	4.77727	Roseburia_inulinivorans	3.73731	UniRef50_unknown		0.025715487565113986
Ruminococcus	11.74423	Ruminococcus_bromii	7.6309	UniRef50_unknown		0.01814709122485971
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_massiliensis	0.35666	UniRef50_unknown		0.01511609269051815
Parabacteroides	2.31269	Parabacteroides_merdae	1.45628	UniRef50_unknown		0.011042894660138717
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_ovatus	0.81159	UniRef50_unknown		0.00979041526578302
Blautia	2.72816	Ruminococcus_obeum	1.0618	UniRef50_unknown		0.00924999527106388
Dorea	2.72646	Dorea_longicatena	2.12625	UniRef50_unknown		0.009162925569209616
Alistipes	3.41934	Alistipes_putredinis	3.0344	UniRef50_unknown		0.008866915712347047
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_caccae	1.25143	UniRef50_unknown		0.008592055845257268
Methanobrevibacter	2.30387	Methanobrevibacter_smithii	2.30387	UniRef50_unknown		0.008515235882404045
Ruminococcus	11.74423	Ruminococcus_sp_5_1_39BFAA	1.59986	UniRef50_unknown		0.008328225972833865
Ruminococcus	11.74423	Ruminococcus_lactaris	2.51348	UniRef50_unknown		0.007398256422526499
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_vulgatus	0.40284	UniRef50_unknown		0.00726875648514701
Eubacterium	6.99934	Eubacterium_rectale	4.85973	UniRef50_unknown		0.007191766522375991
Bifidobacterium	3.49484	Bifidobacterium_adolescentis	2.23493	UniRef50_unknown		0.007181206527482343
Blautia	2.72816	Ruminococcus_torques	1.65689	UniRef50_unknown		0.006553736830899267
Parabacteroides	2.31269	Parabacteroides_distasonis	0.81918	UniRef50_unknown		0.00604713707586877
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_uniformis	0.33128	UniRef50_unknown		0.005868117162434978
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_dorei	0.1656	UniRef50_unknown		0.005783067203561421
Bacteroides	4.95736	Bacteroides_sp_1_1_6	0.75566	UniRef50_unknown		0.004547757800903065
Coprococcus	1.58654	Coprococcus_comes	1.24171	UniRef50_unknown		0.004535137807005543
Erysipelotrichaceae_noname	1.61933	Eubacterium_biforme	1.58798	UniRef50_unknown		0.004319037911502008
Bacteroidales_noname	0.20445	Bacteroidales_bacterium_ph8	0.20445	UniRef50_unknown		0.004103788015587452
Dorea	2.72646	Dorea_formicigenerans	0.60021	UniRef50_unknown		0.003952538088725307
Dialister	3.84482	Dialister_succinatiphilus	3.84482	UniRef50_unknown		0.0033581683761365255

Figure 63 Résultats de l'abondance des familles de gènes liée à l'abondance des genres/espèces (sain).

1	2	3	4	5	6	7
genus	genus_abundance	species	species_abundance	gene_families_id	gene_families_name	gene_families_abundance
Prevotella	56.75851	Prevotella_copri	50.46098	UniRef50_unknown		0.5130447800389292
Prevotella	56.75851	Prevotella_stercora	6.29411	UniRef50_unknown		0.15644893292461762
Roseburia	7.73176	Roseburia_inulinivorans	6.64005	UniRef50_unknown		0.043542681331659186
Faecalibacterium	6.02558	Faecalibacterium_prausnitzii	6.02558	UniRef50_unknown		0.03738788397044602
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_massiliensis	0.53375	UniRef50_unknown		0.032363486124589246
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_vulgatus	0.88678	UniRef50_unknown		0.017872692337322287
Blautia	4.77821	Ruminococcus_torques	4.11712	UniRef50_unknown		0.013296594299263468
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_ovatus	0.81449	UniRef50_unknown		0.012294394728943097
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_uniformis	0.56378	UniRef50_unknown		0.011094395243426789
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_finegoldii	1.19537	UniRef50_unknown		0.010972195295818377
Escherichia	0.7312	Escherichia_coli	0.7242	UniRef50_unknown		0.010578995464397533
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_dorei	0.0824	UniRef50_unknown		0.010518695490250337
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_xylanisolvens	0.01454	UniRef50_unknown		0.009472065938978725
Sutterella	0.60529	Sutterella_wadsworthensis	0.60529	UniRef50_unknown		0.006210887337165327
Parabacteroides	0.86356	Parabacteroides_distasonis	0.40442	UniRef50_unknown		0.0062070873387945254
Ruminococcus	1.40383	Ruminococcus_sp_5_1_39BFAA	1.11863	UniRef50_unknown		0.0061923673451055265
Erysipelotrichaceae_noname	2.20745	Eubacterium_biforme	2.20629	UniRef50_unknown		0.005979257436473541
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_fragilis	0.01044	UniRef50_unknown		0.005271277140010343
Dorea	1.65764	Dorea_formicigenerans	0.90016	UniRef50_unknown		0.00521640776353511
Blautia	4.77821	Ruminococcus_obeum	0.6293	UniRef50_unknown		0.005034157841672321
Dorea	1.65764	Dorea_longicatena	0.75748	UniRef50_unknown		0.00474639796504551
Collinsella	1.35888	Collinsella_aerofaciens	1.35888	UniRef50_unknown		0.0038938983305432983
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_thetaiotaomicron	0.35602	UniRef50_unknown		0.0038063283680877455
Parabacteroides	0.86356	Parabacteroides_merdae	0.33971	UniRef50_unknown		0.0036735884249982165
Coprococcus	1.5019	Coprococcus_comes	0.62669	UniRef50_unknown		0.003540748481951562
Catenibacterium	0.71731	Catenibacterium_mitsuokai	0.71731	UniRef50_unknown		0.003526808487928147
Roseburia	7.73176	Roseburia_intestinalis	1.06549	UniRef50_unknown		0.00346414851479277
Bacteroides	5.53301	Bacteroides_stercoris	0.45926	UniRef50_unknown		0.0034568585179182583
Eubacterium	2.43204	Eubacterium_ramulus	0.45279	UniRef50_unknown		0.003271708597298804

Figure 64 Résultats de l'abondance des familles de gènes liée à l'abondance des genres/espèces (DT1).

Discussion

4. Discussion

Pour notre étude concernant la détection de marqueurs microbiens dans le cas du diabète de type 1, nous avons étudié deux microbiomes issus d'enfants âgés de 5 et 6 ans respectivement diabétique et sain, dans le but d'évaluer la contribution du microbiote intestinal dans le dysfonctionnement des cellules β pancréatiques et l'élévation du processus inflammatoire conduisant à la production d'auto anticorps.

Le diabète de type 1 (DT1) est la deuxième maladie auto-immune la plus courante chez les enfants ('Standards of medical care in diabetes--2015: summary of revisions', 2015). C'est un processus inflammatoire auto-immun chronique qui affecte les cellules bêta productrices d'insuline du pancréas, ce qui entraîne une production moindre d'insuline (Tsalamandris *et al.*, 2019). La destruction de 90% des cellules bêta est un point critique où les manifestations cliniques émergent (Jamshidi *et al.*, 2019). Certes le diabète est une maladie multifactorielle, cependant une hypothèse a été suggéré quant au rôle important des facteurs environnementaux tels que les bactéries colonisatrices de l'intestin (Dedrick *et al.*, 2020).

A partir de notre travail, nous allons détailler les différences observées entre les deux microbiomes issu d'un enfant de 5 ans atteint de diabète de type 1 et un enfant de 6 ans sain, et comparer l'abondance des phylums bactériens pour pouvoir établir un lien entre les taxons présents/absents et la survenue de la pathologie.

Différents mécanismes ont été suggérés sur le rôle du microbiote intestinal dans la pathogenèse du DT1 :

1. Chez les patients atteints de DT1, certaines bactéries augmentent la dégradation de la mucine, se traduisant par une intégrité réduite et une perméabilité accrue de la muqueuse intestinale qui conduit à une pénétration bactérienne, la pénétration de ces dernières dans la muqueuse intestinale entraîne une stimulation du système immunitaire et la production d'anticorps contre elles.
2. Plus le microbiote intestinal ingère et fermente les fibres plus il produit des acides gras à chaîne courte (AGCC).
3. Le butyrate est l'un des sous-produits les plus importants du métabolisme du microbiote et joue un rôle important dans l'induction du T-reg colique, la régulation à la baisse des macrophages pro-inflammatoires et l'amélioration de l'intégrité des barrières intestinales en augmentant la production de mucine. (Hamer *et al.*, 2008) (Furusawa *et al.*, 2013).

Discussion

En gardant ces mécanismes à l'esprit, nous allons discuter des mécanismes attribuables à certaines bactéries plus en détails :

La bactérie *Akkermansia muciniphila*, bactérie qui module la perméabilité intestinale, agit sur la mucine et a des effets sur l'inflammation au niveau du tube digestif, mais aussi au niveau hépatique et sanguin (Dedrick *et al.*, 2020). Elle semble aussi avoir un rôle clé dans le métabolisme glucidique et lipidique, puisqu'un faible taux d'*Akkermansia muciniphila* est plus fréquemment retrouvé chez les personnes souffrant d'obésité, de diabète, de syndrome métabolique, ou de pathologies inflammatoires intestinales ou hépatiques. (Dedrick *et al.*, 2020) (Lukovac *et al.*, 2014).

En analysant nos échantillons, nous avons constatés que l'espèce *Akkermansia muciniphila* est absente chez l'individu diabétique et présente chez l'individu sain ce qui peut confirmer le rôle qu'elle possède sur la modulation de l'inflammation. (Cani and Everard, 2014) (Schneeberger *et al.*, 2015).

D'après notre analyse le microbiote intestinal des deux enfants est principalement composé de Bacteroidetes et de Firmicutes, suivis des Protéobactéries et d'Actinobactéries, en cohérence avec la littérature des études précédentes, notamment l'étude réalisé en 2017 par Traversi et al.

En effet le microbiote intestinal de l'individu sain est principalement composé de 44.48% de Bactéroidetes de la population microbienne totale et de 43.74% de Firmicutes, quant à l'individu atteint de diabète de type 1 son microbiome est principalement composé de 64.61% Bactéroidetes et de 30.61% Firmicutes. On remarque que l'abondance des Bactéroidetes est nettement plus élevée chez le diabétique. Selon une étude réalisée en 2014, León et Barca ont comparé le microbiome intestinal chez des patients avec un DT1 et des témoins sains, les résultats ont montré que les patients atteints de DT1 nouvellement diagnostiqués avaient une abondance accrue de Bacteroides.

D'une autre étude les données de pyroséquençage 16S ont montré que les enfants avec des auto-anticorps d'îlots positifs avaient un rapport Bacteroidetes / Firmicutes plus élevé (Knip and Honkanen, 2017).

Les genres Bacteroides et Prevotella sont deux sous-groupes importants du Phylum des Bacteroidetes qui selon la littérature ont augmenté dans la plupart des échantillons de patients atteints de DT1. (Davis-Richardson *et al.*, 2014) (De Goffau *et al.*, 2013).

Les résultats de notre analyse bio-informatique des deux échantillons montrent que l'individu sain présente un taux de Bactéroides de 4.95% de la population microbienne entière versus un taux de Bactéroides de 5.53% chez l'individu atteint de DT1. Ce qui corroborent l'augmentation des Bacteroides observés chez les individus atteint de DT1.

Discussion

Quant au genre *Prevotella* un taux de 32.65% est retrouvé chez l'individu sain avec *Prevotella_copri* comme l'espèce la plus abondante avec un taux de 31.16%, on remarque que *Prevotella_copri* occupe le plus grand pourcentage sachant que 31% du total viens de *Prevotella_copri*.

Quant à l'individu atteint de DT1 *Prevotella* atteint 56.75% de la population microbienne totale avec *Prevotella_copri* comme espèce la plus abondante 31.16%. On remarque ici que le taux de *Prevotella* est très élevé chez le diabétique par rapport à l'individu sain.

D'après l'étude réalisé en 2019 par Jamshidi et al, les altérations bactériennes les plus courantes chez les patients atteints de DT1 par rapport aux individus sains comprenaient *Prevotella* (entre autres), d'après l'étude de Wright et al réalisé en 2000, *Prevotella* est responsable de la dégradation de la mucine. Nous pouvons suggérer comme hypothèse qu'une dégradation accrue de la mucine peut provoquer une perméabilité intestinale élevée et que l'infiltration de bactéries dans la circulation sanguine contribue à une inflammation accrue. Une réponse inflammatoire sévère peut favoriser l'auto-immunité, y compris la destruction auto-immune des cellules β pancréatiques, provoquant le diabète de type 1.

Cependant l'étude de Leiva-Gea et Coll en 2018, rapporte que le genre *Prevotella* est un important producteur de succinate, ce dernier est un métabolite bactérien qui entraîne une inhibition de la production hépatique de glucose et améliore le contrôle glycémique et le métabolisme énergétique grâce à l'activation de la gluconéogenèse intestinale.

Les genres *Bacteroides* et *Prevotella* peuvent également affecter la composition microbienne intestinale par plusieurs mécanismes. Le succinate (cité précédemment) et l'acétate sont les principaux sous-produits du métabolisme anaérobie dans ce phylum qui compromettent les jonctions épithéliales serrées, diminuent l'intégrité de la muqueuse intestinale, bloquent la différenciation T-reg et activent les voies inflammatoires. (Leiva-Gea *et al.*, 2018).

En effet, des études récentes indiquent que le succinate peut activer les cellules immunitaires via son récepteur de surface spécifique, le récepteur 1 du succinate (SUCNR1), et augmenter l'inflammation. En revanche, le rôle du succinate dans les processus inflammatoires au sein du système immunitaire de la muqueuse intestinale n'est pas clair. (Connors, Dawe and Van Limbergen, 2019).

Leiva-Gea et coll en 2018, rapportent que le phylum Actinobactérie, qui comprend le genre *Bifidobacterium* ; taxon producteur de butyrate (AGCC) a des effets anti-inflammatoires.

Ce phylum Actinobactérie augmente la barrière intestinale par modulation des cytokines (Leiva-Gea *et al.*, 2018). En effet, *Bifidobacterium* induit le développement de T-reg qui

Discussion

entraîne une suppression de la réponse immunitaire par régulation de la production d'IL10 (Qi *et al.*, 2016).

En ce qui concerne notre analyse un taux de *Bifidobacterium* de 3.49484% est retrouvé chez l'individu sain avec *Bifidobacterium_adolescentis* comme espèce la plus abondante 2.23493% suivie de *Bifidobacterium_longum* 1.11269% cette dernière est connue pour inhiber la croissance des bactéries pathogènes et stimuler le système immunitaire, plusieurs souches ont été sélectionnées pour leurs effets probiotiques.

Quant à l'individu diabétique un taux de 1.16662% est observé, avec *Bifidobacterium_adolescentis* 0.47086% comme espèce la plus abondante, *Bifidobacterium_longum* arrive en troisième position avec un taux de 0.23195% seulement.

Le troisième phylum important est celui des Firmicutes, qui se compose de plusieurs sous-groupes notables : Roseburia, Ruminococcus, Lactobacillus, Blautia, et Faecalibacterium :

- Ruminococcus est un taxon producteur de butyrate (AGCC), son association au DT1 est controversée, les Ruminococcus ont été signalés en déclin dans certaines études et en augmentation dans d'autres. (Abdellatif *et al.*, 2019)

Dans le cas de nos échantillons, l'individu sain compte près de 11.74% de Ruminococcus, avec *Ruminococcus_bromii* comme espèce la plus abondante et présente à un taux de 7.63%.

Quant à l'individu atteint de DT1 son taux de Ruminococcus est de 1.40% avec espèce la plus abondante *Ruminococcus_torques* 4.14%, on remarque un déclin évident dans le taux de Ruminococcus présent dans l'échantillon de l'individu diabétique.

- *Faecalibacterium prausnitzii*, principale bactérie productrice de butyrate dans l'intestin humain produit des AGCC qui ont des effets anti-inflammatoires lors de la fermentation des fibres pendant de la digestion, on la retrouve présente chez les deux individus à des taux plus ou moins similaire, 4.0355% chez l'individu sain contre 6.02558% chez le diabétique.

Il est à noter que cette bactérie a un rôle anti-inflammatoire sur l'intestin (Sokol *et al.*, 2008) il a été montré que les patients souffrant de Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) telles que la maladie de Crohn ou la rectocolite ulcéraire hémorragique, avaient des taux abaissés de *Faecalibacterium prausnitzii* par rapport à une population saine.

- Roseburia tout comme Faecalibacterium ont des effets anti-inflammatoires, leur présence peut augmenter la fonction de barrière intestinale en modulant la production de cytokines et la synthèse du butyrate. Son association est controversée, Roseburia a

Discussion

été signalés en déclin dans certaines études et en augmentation dans d'autres (Jamshidi *et al.*, 2019).

On retrouve *Roseburia* présente chez l'individu sain avec un taux de 4.77727%, *Roseburia_inulinivorans* 3.73731% comme espèce la plus abondante.

Quant à l'individu atteint de DT1 son taux de *Roseburia* est de 7.73176% avec *Roseburia_inulinivorans* 6.64805% comme espèce la plus abondante, cette dernière contribue à la formation de butyrate à partir d'une variété de substrats polysaccharidiques alimentaires dans le gros intestin humain.

- *Blautia* est également un taxon producteur de butyrate qui ont diminué dans la plupart des articles examinés et jouent un rôle important dans la régulation de la glycémie, le métabolisme des lipides et la régulation de la différenciation des lymphocytes T.

Dans le cas de nos échantillons, un taux de 2.72816% est retrouvé chez l'individu sain en comparaison avec un taux de 4.77821% chez l'individu atteint de DT1.

- Nous observons que la bactérie *Lactobacillus* est absente des deux échantillons.

L'étude de Venegas *et al.* en 2019 rapporte que les acides gras à chaîne courte (AGCC) sont des produits de la fermentation des glucides réalisée par des bactéries anaérobies présentes dans le côlon. En effet les AGCC jouent un rôle énergétique important, les colonocytes utilisent l'oxydation du butyrate pour produire de l'énergie, l'acétate (un AGCC) est utilisé comme source d'énergie par différents tissus, comme le rein et les muscles.

Une étude en 2018 (Zheng, Li and Zhou, 2018) a montré que l'abondance des bactéries productrices d'acides gras à chaîne courte (AGCC) ainsi que des bactéries productrices de lactate a été réduite chez les patients atteints de DT1, ce qui corrobore avec l'analyse de nos échantillons qui montre que la plupart des producteurs d'AGCC ont été réduits et ont pu contribuer à l'inflammation de bas grade observé dans le DT1.

Notre analyse a également montré la présence de *Fusobacterium* chez l'individu diabétique et son absence chez l'individu sain. *Fusobacterium* est une bactérie invasive adhérente et inflammatoire, elle peut amener son hôte à produire des facteurs inflammatoires et induire une suppression immunitaire (Wu, Li and Fu, 2019), nous pouvons soumettre l'hypothèse que ce mécanisme peut être la cause de l'inflammation observé dans le DT1.

Une autre particularité à tirer de nos analyses entre les deux microbiotes est la présence de *Methanobrevibacter smithii* dans le microbiote de l'individu sain et son absence chez le diabétique. *Methanobrevibacter smithii* est une espèce d'archée, elle absorbe l'hydrogène H₂ et le dioxyde de carbone CO₂, produit notamment par la fermentation bactérienne des polysaccharides, pour former du méthane CH₄ et de l'eau H₂O, ce qui augmente globalement la quantité d'énergie libérée par l'absorption des aliments. (Samuel *et al.*, 2007).

Discussion

Il n'est pas encore tout à fait clair si la dysbiose rencontrée dans la pathologie du DT1 est une cause ou une conséquence de la maladie. Cependant il est probable que ces altérations du microbiote pourraient être impliquées dans l'immunomodulation du diabète. Ainsi, le microbiote semble avoir un rôle direct, voire causal, dans la médiation des connexions entre l'environnement, l'apport alimentaire et les maladies chroniques.

Ce qui laisse penser que la dysbiose intervient dans la survenue du diabète est cette étude finlandaise réalisée en 2014 (Davis-Richardson *et al.*, 2014) qui a évalué les enfants à haut risque génétique pour le DT1, les suivant de la naissance jusqu'à leurs 2,2 ans, a montré que les espèces *Bacteroides dorei* et *Bacteroides vulgatus* ont été trouvés en plus grand nombre dans les cas de DT1 par rapport aux témoins avant la séroconversion, ce qui suggère que des changements précoces dans la composition du microbiote pourraient être utiles pour prédire l'auto-immunité du DT1 chez les nourrissons génétiquement sensibles.

Discussion

For our study concerning the detection of microbial markers in type 1 diabetes, we studied two microbiomes from children aged 5 and 6 years respectively diabetic and healthy, with the aim of evaluating the contribution of the intestinal microbiota in the dysfunction of pancreatic β cells and the elevation of the inflammatory process leading to the production of auto antibodies.

Type 1 diabetes (T1D) is the second most common autoimmune disease in children ('Standards of medical care in diabetes--2015: summary of revisions', 2015).

It is a chronic autoimmune inflammatory process that affects the insulin-producing beta cells of the pancreas, resulting in decreased insulin production (Tsalamandris et al., 2019). The destruction of 90% of beta cells is a critical point where clinical manifestations emerge (Jamshidi et al., 2019). Although diabetes is a multifactorial disease, a hypothesis has been suggested that environmental factors such as colonizing bacteria in the gut play an important role (Dedrick et al., 2020).

Based on our work, we will detail the differences observed between the two microbiomes from a 5-year-old child with type 1 diabetes and a healthy 6-year-old child, and compare the abundance of bacterial phylums to be able to establish a link between the present/absent taxa and the occurrence of the pathology.

Different mechanisms have been suggested for the role of the intestinal microbiota in the pathogenesis of T1D:

1. In patients with T1D, certain bacteria increase mucin degradation, resulting in reduced integrity and increased permeability of the intestinal mucosa leading to bacterial penetration. The penetration of these bacteria into the intestinal mucosa leads to a stimulation of the immune system and the production of antibodies against them.
2. The more the intestinal microbiota ingests and ferments fiber, the more short-chain fatty acids (SCFAs) it produces.
3. Butyrate is one of the most important by-products of the microbiota's metabolism and plays an important role in the induction of colonic T-reg, the down-regulation of pro-inflammatory macrophages and the improvement of the integrity of the intestinal barriers by increasing mucin production. (Hamer et al., 2008) (Furusawa et al., 2013).

Discussion

With these mechanisms in mind, we will discuss the mechanisms attributable to certain bacteria in more detail:

Akkermansia muciniphila, a bacterium that modulates intestinal permeability, acts on mucin and has effects on inflammation in the gastrointestinal tract, but also in the liver and blood (Dedrick et al., 2020). It also appears to have a key role in carbohydrate and lipid metabolism, since low levels of *Akkermansia muciniphila* are more frequently found in people suffering from obesity, diabetes, metabolic syndrome, or inflammatory bowel or liver diseases. (Dedrick et al., 2020) (Lukovac et al., 2014).

In analyzing our samples, we found that the *Akkermansia muciniphila* species is absent in the diabetic individual and present in the healthy individual, which may confirm its role in the modulation of inflammation. (Cani and Everard, 2014) (Schneeberger et al., 2015).

According to our analysis, the intestinal microbiota of both children is mainly composed of Bacteroidetes and Firmicutes, followed by Proteobacteria and Actinobacteria, consistent with the literature of previous studies, notably the study conducted in 2017 by Traversi et al. In fact, the intestinal microbiota of healthy individuals is mainly composed of 44.48% Bacteroidetes of the total microbial population and 43.74% Firmicutes, while the intestinal microbiota of individuals with type 1 diabetes is mainly composed of 64.61% Bacteroidetes and 30.61% Firmicutes. It is noticeable that the abundance of Bacteroidetes is much higher in the diabetic individual. According to a study carried out in 2014, León and Barca compared the intestinal microbiome in patients with T1D and healthy controls, the results showed that patients with newly diagnosed T1D had an increased abundance of Bacteroides.

In another study the 16S pyrosequencing data showed that children with positive islet autoantibodies had a higher Bacteroidetes/firmicutes ratio (Knip and Honkanen, 2017).

The genera Bacteroides and Prevotella are two important Phylum subgroups of Bacteroidetes that have been reported in the literature to be increased in most samples from patients with T1D. (Davis-Richardson et al., 2014) (De Goffau et al., 2013).

The results of our bioinformatics analysis of the two samples show that the healthy individual has a Bacteroid level of 4.95% of the entire microbial population versus a Bacteroid level of 5.53% in the T1D individual. This corroborates the increase in Bacteroides observed in individuals with T1D.

Discussion

As for the genus *Prevotella*, a rate of 32.65% is found in healthy individuals with *Prevotella_copri* as the most abundant species with a rate of 31.16%, we note that *Prevotella_copri* occupies the largest percentage knowing that 31% of the total comes from *Prevotella_copri*.

As for the individual with T1D *Prevotella* reaches 56.75% of the total microbial population with *Prevotella_copri* as the most abundant species 31.16%. It can be noted here that the rate of *Prevotella* is very high in diabetics compared to healthy individuals.

According to the study conducted in 2019 by Jamshidi et al, the most common bacterial alterations in T1D patients compared to healthy individuals included *Prevotella* (among others), according to the study by Wright et al conducted in 2000, *Prevotella* is responsible for mucin degradation. We can suggest as a hypothesis that increased mucin degradation may cause high intestinal permeability and that infiltration of bacteria into the bloodstream contributes to increased inflammation. A severe inflammatory response can promote autoimmunity, including autoimmune destruction of pancreatic β cells, leading to type 1 diabetes.

However, the study by Leiva-Gea et Coll in 2018, reports that the genus *Prevotella* is an important producer of succinate, which is a bacterial metabolite that causes inhibition of hepatic glucose production and improves glycemic control and energy metabolism through activation of intestinal gluconeogenesis.

The genera *Bacteroides* and *Prevotella* can also affect intestinal microbial composition through several mechanisms. Succinate (mentioned above) and acetate are the main by-products of anaerobic metabolism in this phylum that compromise tight epithelial junctions, decrease intestinal mucosal integrity, block T-reg differentiation and activate inflammatory pathways. (Leiva-Gea et al., 2018).

Indeed, recent studies indicate that succinate can activate immune cells via its specific surface receptor, succinate receptor 1 (SUCNR1), and increase inflammation. However, the role of succinate in inflammatory processes within the immune system of the intestinal mucosa is unclear. (Connors, Dawe and Van Limbergen, 2019).

Leiva-Gea et al in 2018, report that the phylum Actinobacterium, which includes the genus *Bifidobacterium*; butyrate-producing taxon (SCFA) has anti-inflammatory effects.

This phylum Actinobacterium increases the intestinal barrier by modulation of cytokines (Leiva-Gea et al., 2018). Indeed, *Bifidobacterium* induces the development of T-reg which leads to a suppression of the immune response by regulating IL10 production (Qi et al., 2016).

Discussion

As far as our analysis is concerned, a Bifidobacterium rate of 3.49484% is found in healthy individuals with *Bifidobacterium_adolescentis* as the most abundant species 2.23493% followed by *Bifidobacterium_longum* 1.11269% the latter is known to inhibit the growth of pathogenic bacteria and stimulate the immune system, several strains have been selected for their probiotic effects.

As for the diabetic individual a rate of 1.16662% is observed, with *Bifidobacterium_adolescentis* 0.47086% as the most abundant species, *Bifidobacterium_longum* comes in third place with a rate of only 0.23195%.

The third important phylum is that of Firmicutes, which consists of several notable subgroups: Roseburia, Ruminococcus, Lactobacillus, Blautia, and Faecalibacterium:

- Ruminococcus is a butyrate-producing taxon (SCFA), its association with DT1 is controversial, Ruminococcus has been reported to be declining in some studies and increasing in others. (Abdellatif et al., 2019).

In the case of our samples, the healthy individual has nearly 11.74% Ruminococcus, with *Ruminococcus_bromii* as the most abundant species and present at a rate of 7.63%.

As for the individual with T1D, the Ruminococcus rate is 1.40% with *Ruminococcus_torques* as the most abundant species at 4.14%, there is a clear decline in the rate of Ruminococcus present in the sample of the diabetic individual.

- *Faecalibacterium_prausnitzii*, the main butyrate-producing bacterium in the human intestine, produces AGCCs that have anti-inflammatory effects during the fermentation of fibres during digestion. It is present in both individuals at more or less similar levels, 4.0355% in the healthy individual versus 6.02558% in the diabetic individual.

It should be noted that this bacterium has an anti-inflammatory role on the intestine (Sokol et al., 2008). It has been shown that patients suffering from Chronic Inflammatory Bowel Diseases (IBD) such as Crohn's disease or ulcerative colitis, had lower levels of *Faecalibacterium_prausnitzii* compared to a healthy population.

- Both Roseburia and *Faecalibacterium* have anti-inflammatory effects, their presence may increase intestinal barrier function by modulating cytokine production and butyrate synthesis. Its association is controversial, Roseburia has been reported to be declining in some studies and increasing in others (Jamshidi et al., 2019).

Discussion

We find *Roseburia* present in the healthy individual with a rate of 4.77727%, *Roseburia_inulinivorans* 3.73731% as the most abundant species.

As for the individual reaching T1D, the *Roseburia* rate is 7.73176% with *Roseburia_inulinivorans* 6.64805% as the most abundant species, the latter contributes to the formation of butyrate from a variety of dietary polysaccharide substrates in the human large intestine.

- *Blautia* is also a butyrate-producing taxon that has declined in most of the papers reviewed and plays an important role in the regulation of blood glucose, lipid metabolism and the regulation of T-cell differentiation.

In the case of our samples, a level of 2.72816% is found in healthy individuals compared to a level of 4.77821% in individuals with T1D.

- We observe that the *Lactobacillus* bacterium is absent in both samples.

The study by Venegas et al in 2019 reports that short-chain fatty acids (SCFAs) are products of carbohydrate fermentation by anaerobic bacteria present in the colon. Indeed, the SCCAs play an important energy role, colonocytes use the oxidation of butyrate to produce energy, acetate (a SCCA) is used as an energy source by different tissues, such as the kidney and muscles.

A study in 2018 (Zheng, Li and Zhou, 2018) showed that the abundance of short-chain fatty acid producing bacteria (SCCA) as well as lactate producing bacteria was reduced in patients with T1D, which corroborates with the analysis of our samples which shows that most of the SCCA producers were reduced and may have contributed to the low grade inflammation observed in T1D.

Our analysis also showed the presence of *Fusobacterium* in the diabetic individual and its absence in the healthy individual. *Fusobacterium* is an invasive adherent and inflammatory bacterium, it can cause its host to produce inflammatory factors and induce immune suppression (Wu, Li and Fu, 2019), we can submit the hypothesis that this mechanism may be the cause of the inflammation observed in T1D.

Another particularity to be drawn from our analyses between the two microbiotes is the presence of *Methanobrevibacter smithii* in the microbiota of healthy individuals and its absence in diabetics. *Methanobrevibacter smithii* is an archaea species, it absorbs hydrogen H₂ and carbon dioxide CO₂, produced notably by the bacterial fermentation of polysaccharides, to form methane CH₄ and water H₂O, which globally increases the amount of energy released by food absorption. (Samuel et al., 2007).

Discussion

It is not yet entirely clear whether the dysbiosis encountered in the pathology of T1D is a cause or a consequence of the disease. However, it is likely that these alterations of the microbiota could be involved in the immunomodulation of diabetes. Thus, the microbiota seems to have a direct, even causal, role in mediating the connections between the environment, dietary intake and chronic disease.

What suggests that dysbiosis is involved in the onset of diabetes is this Finnish study conducted in 2014 (Davis-Richardson et al, 2014) which evaluated children at high genetic risk for T1D, following them from birth to 2.2 years of age, showed that *Bacteroides dorei* and *Bacteroides vulgatus* species were found in higher numbers in T1D cases compared to controls before seroconversion, suggesting that early changes in microbiota composition may be useful in predicting autoimmunity for T1D in genetically susceptible infants.

Conclusion

Notre travail a traité d'une étude comparative qualitative entre deux microbiotes issus d'un individu sain et atteint de diabète de type 1. Dans le but de détecter des marqueurs microbiens responsables de l'inflammation de bas grade observée dans la pathogenèse du diabète de type 1.

La réalisation de cette analyse métagénomique *in silico* a nécessité l'utilisation de la plateforme open source Galaxy, dans le but de déceler la dynamique du microbiome et de comprendre sa physiologie. Grâce aux nombreux outils intégrés dans l'instance de Galaxy on a pu analyser et traiter nos échantillons afin d'établir un profil de la communauté microbienne présente au sein de chaque échantillon, et tirer des conclusions sur les voies microbiennes les plus utilisées, avec la possibilité de distinguer quelles familles de gènes qui sont les plus abondantes.

Cette comparaison a abouti à des différences significatives entre les deux microbiomes en matière de taxons présents ainsi que de leurs abondances, ce qui a dévoilé une association entre les altérations du microbiote intestinal et l'apparition et/ou la progression du diabète de type 1. Les individus atteints de diabète de type 1 présentent une augmentation du phylum des Bactériodètes et une réduction du phylum des Firmicutes, ainsi qu'une réduction des bactéries productrices d'acides gras à chaîne courte et celles aux propriétés anti inflammatoires.

Les mécanismes impliqués dans la physiopathologie du DT1 et l'implication du microbiote intestinal ne sont encore totalement résolus. C'est pourquoi il est indispensable de, non seulement comprendre la physiologie du microbiote intestinal, mais de saisir les interactions de ce dernier avec notre système immunitaire afin de développer de nouvelles approches pour prévenir cette auto-immunité.

La découverte de marqueurs microbiens peut aider à la détection précoce de la maladie chez les sujets à haut risque, on peut également parler de traitement ciblé du microbiome comme une nouvelle stratégie thérapeutique.

Références bibliographiques

- Abdellatif, A. M. *et al.* (2019) 'Human Islet Response to Selected Type 1 Diabetes-Associated Bacteria: A Transcriptome-Based Study', *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A., 10. doi: 10.3389/fimmu.2019.02623.
- Almeida, M. (2013) *Caractérisation de flores microbiennes intestinale humaine et fromagère par méthode de métagénomique quantitative*. Université Paris Sud - Paris XI. Available at: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01124109> (Accessed: 11 July 2020).
- Bauer, E. and Thiele, I. (2018) 'From metagenomic data to personalized in silico microbiotas: predicting dietary supplements for Crohn's disease', *npj Systems Biology and Applications*. Nature Publishing Group, 4(1), pp. 1–9. doi: 10.1038/s41540-018-0063-2.
- Blekhman, R. *et al.* (2015) 'Host genetic variation impacts microbiome composition across human body sites', *Genome Biology*. BioMed Central Ltd., 16(1), p. 191. doi: 10.1186/s13059-015-0759-1.
- Brehin, C. (2017) 'Microbiota colonization of the infant gut', *Medecine Therapeutique Pediatrie*. John Libbey Eurotext, 20(3), pp. 167–172. doi: 10.1684/mtp.2018.0651.
- Cani, P. D. and Everard, A. (2014) 'Akkermansia muciniphila', *Medecine/Sciences*. Med Sci (Paris), 30(2), pp. 125–127. doi: 10.1051/medsci/20143002003.
- Connors, J., Dawe, N. and Van Limbergen, J. (2019) 'The role of succinate in the regulation of intestinal inflammation', *Nutrients*. MDPI AG. doi: 10.3390/nu11010025.
- Davis-Richardson, A. G. *et al.* (2014) 'Bacteroides dorei dominates gut microbiome prior to autoimmunity in Finnish children at high risk for type 1 diabetes', *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A., 5(DEC), p. 678. doi: 10.3389/fmicb.2014.00678.
- Dedrick, S. *et al.* (2020) 'The Role of Gut Microbiota and Environmental Factors in Type 1 Diabetes Pathogenesis', *Frontiers in Endocrinology*. Frontiers Media S.A., p. 78. doi: 10.3389/fendo.2020.00078.
- Dethlefsen, L. *et al.* (2008) 'The Pervasive Effects of an Antibiotic on the Human Gut Microbiota, as Revealed by Deep 16S rRNA Sequencing', *PLoS Biology*. Edited by J. A. Eisen. Public Library of Science, 6(11), p. e280. doi: 10.1371/journal.pbio.0060280.
- Doré, J. and Corthier, G. (2010) 'Le microbiote intestinal humain', *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. Elsevier, 34(4), pp. 7–16. doi: 10.1016/s0399-8320(10)70002-6.
- Ehrlich, S. D. (2011) 'MetaHIT: The European Union project on metagenomics of the human intestinal tract', in *Metagenomics of the Human Body*. Springer New York, pp. 307–316. doi: 10.1007/978-1-4419-7089-3_15.
- Florence Campeotto *et al.* (2007) *Mise en place de la flore intestinale du nouveau né*.
- Furusawa, Y. *et al.* (2013) 'Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells', *Nature*. Nature Publishing Group, 504(7480), pp. 446–450. doi: 10.1038/nature12721.

- De Goffau, M. C. *et al.* (2013) 'Fecal microbiota composition differs between children with β -cell autoimmunity and those without', *Diabetes*. *Diabetes*, 62(4), pp. 1238–1244. doi: 10.2337/db12-0526.
- Hamer, H. M. *et al.* (2008) 'Review article: The role of butyrate on colonic function', *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. *Aliment Pharmacol Ther*, pp. 104–119. doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03562.x.
- Jamshidi, P. *et al.* (2019) 'Is there any association between gut microbiota and type 1 diabetes? A systematic review', *Gut Pathogens*. BioMed Central Ltd., p. 49. doi: 10.1186/s13099-019-0332-7.
- Johnson, J. S. *et al.* (2019) 'Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis', *Nature Communications*. Nature Publishing Group, 10(1), pp. 1–11. doi: 10.1038/s41467-019-13036-1.
- Khachatryan, Z. A. *et al.* (2008) 'Predominant role of host genetics in controlling the composition of gut microbiota', *PLoS ONE*. *PLoS One*, 3(8). doi: 10.1371/journal.pone.0003064.
- Knip, M. and Honkanen, J. (2017) 'Modulation of Type 1 Diabetes Risk by the Intestinal Microbiome', *Current Diabetes Reports*. Current Medicine Group LLC 1. doi: 10.1007/s11892-017-0933-9.
- De La Cochetière, M. F. *et al.* (2005) 'Resilience of the dominant human fecal microbiota upon short-course antibiotic challenge', *Journal of Clinical Microbiology*. *J Clin Microbiol*, 43(11), pp. 5588–5592. doi: 10.1128/JCM.43.11.5588-5592.2005.
- Landman, C. and Quévrain, E. (2016) 'Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique', *Revue de Medecine Interne*. Elsevier Masson SAS, 37(6), pp. 418–423. doi: 10.1016/j.revmed.2015.12.012.
- Leiva-Gea, I. *et al.* (2018) 'Gut microbiota differs in composition and functionality between children with type 1 diabetes and MODY2 and healthy control subjects: A case-control study', *Diabetes Care*. American Diabetes Association Inc., 41(11), pp. 2385–2395. doi: 10.2337/dc18-0253.
- Lukovac, S. *et al.* (2014) 'Differential modulation by *Akkermansia muciniphila* and *faecalibacterium prausnitzii* of host peripheral lipid metabolism and histone acetylation in mouse gut organoids', *mBio*. American Society for Microbiology, 5(4). doi: 10.1128/mBio.01438-14.
- Mejía-León, M. E. *et al.* (2014) 'Fecal microbiota imbalance in Mexican children with type 1 diabetes', *Scientific Reports*, 4, pp. 1–5. doi: 10.1038/srep03814.
- Melhem, H. *et al.* (2019) 'Metabolite-Sensing G Protein-Coupled Receptors Connect the Diet-Microbiota-Metabolites Axis to Inflammatory Bowel Disease', *Cells*. MDPI AG, 8(5), p. 450. doi: 10.3390/cells8050450.
- Milani, C. *et al.* (2017) 'The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota', *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. American Society for Microbiology, 81(4). doi: 10.1128/MMBR.00036-17.
- Moore, W. E. C. and Holdeman, L. V. (1974) 'Human Fecal Flora: The Normal Flora of 20 Japanese-Hawaiians', *Applied Microbiology*, 27(5), pp. 961–979. doi: 10.1128/aem.27.5.961-979.1974.

- Murri, M. *et al.* (2013) 'Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: A case-control study', *BMC Medicine*. BioMed Central, 11(1), pp. 1–12. doi: 10.1186/1741-7015-11-46.
- Nash, A. K. *et al.* (2017) 'The gut mycobiome of the Human Microbiome Project healthy cohort', *Microbiome*. BioMed Central, 5(1), p. 153. doi: 10.1186/s40168-017-0373-4.
- Petersen, C. and Round, J. L. (2014) 'Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease', *Cellular Microbiology*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 1024–1033. doi: 10.1111/cmi.12308.
- Proctor, L. M. *et al.* (2019) 'The Integrative Human Microbiome Project', *Nature*. Nature Publishing Group, 569(7758), pp. 641–648. doi: 10.1038/s41586-019-1238-8.
- Qi, C. J. *et al.* (2016) 'Imbalance of fecal microbiota at newly diagnosed type 1 diabetes in Chinese children', *Chinese Medical Journal*. Chinese Medical Association, 129(11), pp. 1298–1304. doi: 10.4103/0366-6999.182841.
- Samuel, B. S. *et al.* (2007) 'Genomic and metabolic adaptations of *Methanobrevibacter smithii* to the human gut', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. National Academy of Sciences, 104(25), pp. 10643–10648. doi: 10.1073/pnas.0704189104.
- Schneeberger, M. *et al.* (2015) 'Akkermansia muciniphila inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice', *Scientific Reports*. Nature Publishing Group, 5(1), p. 16643. doi: 10.1038/srep16643.
- Semenkovich, C. F. *et al.* (2015) 'American diabetes association and JDRF research symposium: Diabetes and the microbiome', *Diabetes*. American Diabetes Association Inc., 64(12), pp. 3967–3977. doi: 10.2337/db15-0597.
- Sokol, H. *et al.* (2008) 'Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Proc Natl Acad Sci U S A, 105(43), pp. 16731–16736. doi: 10.1073/pnas.0804812105.
- Soyucen, E. *et al.* (2014) 'Differences in the gut microbiota of healthy children and those with type 1 diabetes', *Pediatrics International*. Blackwell Publishing, 56(3), pp. 336–343. doi: 10.1111/ped.12243.
- 'Standards of medical care in diabetes--2015: summary of revisions' (2015) *Diabetes care*. American Diabetes Association, 38(Supplement 1), p. S4. doi: 10.2337/dc15-S003.
- Tong, M. *et al.* (2014) 'Reprogramming of gut microbiome energy metabolism by the FUT2 Crohn's disease risk polymorphism', *ISME Journal*. Nature Publishing Group, 8(11), pp. 2193–2206. doi: 10.1038/ismej.2014.64.
- Tsalamandris, S. *et al.* (2019) 'The role of inflammation in diabetes: Current concepts and future perspectives', *European Cardiology Review*. Radcliffe Cardiology, pp. 50–59. doi: 10.15420/ecr.2018.33.1.
- Turpin, W. *et al.* (2016) 'Association of host genome with intestinal microbial composition in a large healthy cohort', *Nature Genetics*. Nature Publishing Group, 48(11), pp. 1413–1417. doi: 10.1038/ng.3693.

Weissenbach, J. and Sghir, A. (2016) 'Microbiotes et métagénomique', *Medecine/Sciences*, 32(11), pp. 937–943. doi: 10.1051/medsci/20163211008.

Wu, G. D. *et al.* (2011) 'Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes', *Science*. American Association for the Advancement of Science, 334(6052), pp. 105–108. doi: 10.1126/science.1208344.

Wu, J., Li, Q. and Fu, X. (2019) 'Fusobacterium nucleatum Contributes to the Carcinogenesis of Colorectal Cancer by Inducing Inflammation and Suppressing Host Immunity', *Translational Oncology*. Neoplasia Press, Inc., pp. 846–851. doi: 10.1016/j.tranon.2019.03.003.

Zarrinpar, A. *et al.* (2018) 'Antibiotic-induced microbiome depletion alters metabolic homeostasis by affecting gut signaling and colonic metabolism', *Nature Communications*. Nature Publishing Group, 9(1), pp. 1–13. doi: 10.1038/s41467-018-05336-9.