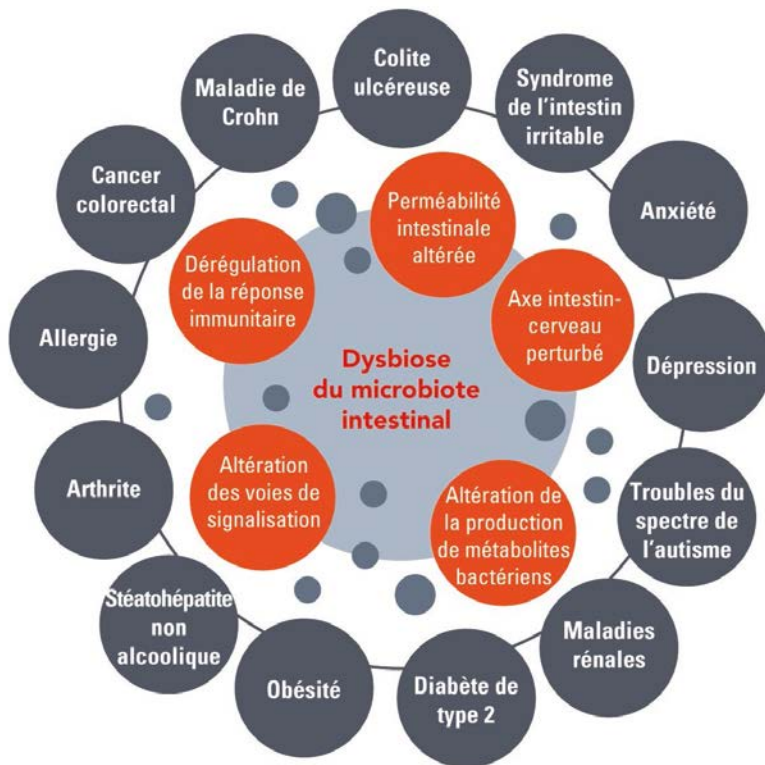


Analyse du microbiome intestinal quelle place pour le biologiste ?



Source : Adapté de Klancic et Reimer, J Sport Health Sci. 2020 Mar;9(2):110-118.

Dysbiose du microbiote intestinal. Une altération de la symbiose microbiote-hôte pourrait altérer les voies de signalisations, la production de métabolites bactériens, la perméabilité intestinale, impacter l'axe intestin-cerveau, et déréguler la réponse immunitaire, ce qui pourrait jouer un rôle dans de nombreuses maladies et affections chroniques telles que le cancer colorectal, l'allergie, l'obésité, l'autisme, etc.

Avec l'avancée des connaissances scientifiques et des outils moléculaires, l'analyse du microbiote intestinal soulève de plus en plus d'espoir et d'intérêt pour une meilleure compréhension de nombreuses pathologies et ouvre de nouvelles perspectives, tant au niveau de la recherche de biomarqueurs qu'au niveau thérapeutique. Décryptage.

A

vec de nombreux outils moléculaires devenus accessibles, la recherche sur le microbiome intestinal a connu un essor

considérable ces quinze dernières années¹. Des pistes de recherche prometteuses et des applications nutritionnelles et thérapeutiques fondées sur le microbiome sont mises en œuvre, dans le but de maintenir la santé de l'hôte et d'appliquer des stratégies individualisées de gestion des pathologies. L'intérêt du grand public pour le microbiote intestinal et son rôle dans la santé humaine est nourri par de nombreux *best-sellers*, magazines, émissions et sites internet. Les praticiens sont quant à eux questionnés par leurs patients sur le sujet alors que s'offrent de plus en plus à eux des enseignements post-universitaires leur permettant de faire le point sur la recherche et les applications possibles pour une meilleure prise en charge des patients. Il apparaît en effet essentiel de caractériser le microbiote intestinal afin de décrire ses modifications dans le cadre de différentes pathologies et troubles ou affections et tenter de le moduler au fur et à mesure de l'avancée des connaissances scientifiques. Dans ce contexte, quel est le rôle du biologiste médical dans une prise en charge augmentée des patients intégrant le microbiote ?

Des humains microbiens

L'humain est microbien : il est un holobionte, un superorganisme^{2,3}. Face aux 23000 gènes humains, existent en situation physiologique 600000 gènes microbiens, ce qui conduit à considérer cette relation comme une relation de symbiose. Le microbiote agit comme régulateur endocrino-métabolique, immuno-inflammatoire et comme protecteur antimicrobien. Il agit également comme régulateur neurovégétatif.

La relation entre l'hôte et ses microbiotes commence à se construire à la naissance au cours de laquelle le nouveau-né est exposé à une multitude de micro-organismes, d'origine principalement maternelle lors

d'un accouchement par voie basse et d'un allaitement au sein. C'est à partir de cette exposition initiale que s'organise le développement chez l'individu des microbiotes, gastro-intestinal mais aussi oropharyngé et cutanéomuqueux. Après maturation immunitaire, le microbiote est alors reconnu comme une composante du « soi », et le maintien de cette symbiose est essentiel à la santé et au bien-être.

La recherche a pu mettre en lumière un certain nombre de facteurs modulant cette relation, entre une situation normale (eubiose) et des situations altérées (dysbioses). Ainsi, de nombreux éléments extérieurs sont susceptibles d'impacter l'homéostasie intestinale tels que les conditions de naissance (césarienne, prématurité)⁴, le régime alimentaire, le mode de vie (exercice physique, cycle veille-sommeil, contact d'animaux, exposition chronique à certains toxiques en particulier le tabac, mauvaise santé bucco-dentaire, stress chronique...) ou les médicaments (antibiotiques, modificateurs du transit et antisécrétoires gastriques)⁵.

Au-delà de l'altération du microbiote, ces facteurs peuvent conduire à une altération de la symbiose microbes-hôte, qui s'accompagne d'une hyperperméabilité intestinale, d'un état inflammatoire souvent de bas grade, et de stress oxydatif.

Ces quatre altérations peuvent se potentialiser induisant un cercle vicieux, et sont probablement impliquées dans un grand nombre de pathologies chroniques (voir figure p.28)⁶. Leur étude pourrait s'avérer utile pour le diagnostic, la prédiction, la prévention et la thérapie⁷. Dans un certain nombre de situations, une information microbiomique fiable rendue accessible au laboratoire pourrait donc être d'intérêt pour le praticien. Par exemple, dans certains contextes à risque en gynécologie et en pédiatrie, pour évaluer les conséquences de la prise de médicaments ou encore pour évaluer l'aptitude à répondre à tel ou tel traitement. À court terme, une information microbiomique fiable et monitorable doit pouvoir apporter un

plus dans la prise en charge des patients avec symptômes digestifs.

Les possibilités d'analyses en LBM

Si l'on met de côté les analyses permettant de répondre à une curiosité des patients mais non utilisables par les praticiens, en tout cas par les gastro-entérologues⁸, à quels critères de base doit répondre l'analyse du microbiome fécal au laboratoire de biologie médicale? Il doit tout d'abord s'agir d'une analyse s'appuyant sur une technique fiable, standardisée, reproductible, minimisant la variabilité intralaboratoires et interlaboratoires. Il faut aussi que les résultats soient lisibles pour le praticien et permettent en particulier le monitoring de l'état de santé intestinal, du potentiel du microbiote intestinal.

En pratique, l'analyse du métagénome fécal s'effectue par séquençage nouvelle génération (NGS) en analysant l'ARN 16S, ou l'ensemble des génomes microbiens par analyse plus ou moins profonde (*shotgun* ou *shallow shotgun*). Un système interprétatif utilisant des bases de données, qui référencent les millions de gènes déjà répertoriés, permet de satisfaire ce cahier des charges. Des standards ont en effet été définis par la communauté académique pour chacune des étapes: collecte de l'échantillon fécal, extraction d'ADN, séquençage nouvelle génération et bio-informatique (voir figure ci-dessous)⁹⁻¹¹. La standardisation est un élément crucial à chaque étape du processus. Définir des procédures standardisées pour optimiser la qualité et la comparabilité des données dans le domaine du microbiome était ainsi



L'analyse du microbiome permettrait d'enrichir l'appréciation de certains risques à toutes les périodes de la vie et d'ajuster la prise en charge.

Dr Joëlle Doré, Dr Philippe Halton, David Petiteau

L'analyse du microbiome intestinal au LBM s'appuyant sur la technique du séquençage NGS



L'ADN extrait d'un échantillon de selles témoigne de la composition du microbiome intestinal total. L'analyse du métagénome fécal s'effectue par séquençage nouvelle génération (NGS) en analysant l'ARN 16S, ou l'ensemble des génomes microbiens par analyse plus ou moins profonde (*shotgun* ou *shallow shotgun*).



Références

1. Clavel T. et al., *Microb Biotechnol.* 2022; 15(1): 164-175.
2. Doré J., Rimbaud P., in *Microbiote intestinal et santé humaine*, Elsevier Masson, 2021.
3. *The Human Superorganism: How the Microbiome Is Revolutionizing the Pursuit of a Healthy Life*, Rodney Dietert, Dutton Books, 2016
4. Dominguez-Bello M.-G. et al., *Gut.* 2019; 68(6): 1108-1114.
5. Maier L. et al., *Nature.* 2018; 555(7698): 623-628.
6. Van de Guchte M. et al., *Microbiome.* 2018; 6(1): 81.
7. Doré J. et al. *Thérapie.* 2017 Feb; 72(1): 21-38.
8. <https://www.snfge.org/actualite/aucune-utilite-clinique-des-tests-actuels-bases-sur-lanalyse-du-microbiote-intestinal>
9. Costea P.-I. et al., *Nat Biotechnol.* 2017; 35(11): 1069-1076.
10. Procédures standardisées téléchargeables sur www.microbiome-standards.org
11. Plazolles A. et al., *Frontiers in Microbiology* 2022 in press.
12. Cotillard A. et al. [published correction appears in *Nature.* 2013 Oct 24; 502(7472):580]. *Nature.* 2013; 500(7464): 585-588.
13. Solé C. et al., *Gastroenterology.* 2021; 160(1): 206-218.e13.
14. Routy B. et al., *Science.* 2018; 359(6371): 91-97.
15. Gopalakrishnan V. et al., *Science.* 2018; 359(6371): 97-103.

Pour en savoir plus

- *Le microbiote intestinal, un organe à part entière*, coord. Philippe Marteau et Joël Doré, éd. John Libbey, 2017.
- *Microbiote intestinal et santé humaine*, sous la direction de Jean-Michel Lecerf et Nathalie Delzenne, éd. Elsevier Masson, 2021.

l'objet du projet international IHMS (*International Human Microbiome Standards*), qui s'est finalisé en 2017¹⁰.

Cette technique permet de faire ressortir des valeurs numériques (avec intervalles de référence) reflétant le potentiel fonctionnel du microbiote intestinal dans son ensemble, et détaillant à terme les présence/absence de tel ou tel micro-organisme. Des tests microbiomiques pourront ainsi à l'avenir nourrir le diagnostic médical, par exemple en permettant de détecter une dysbiose intestinale, de monitorer le statut du microbiome, ou d'intégrer le statut du microbiome dans le management nutritionnel et clinique. Mais cela exigera davantage d'évidence scientifique quant aux bénéfices cliniques pour une médecine « *evidence based* »...

Apport du microbiome au diagnostic médical

L'analyse des microbiomes dépasse à présent une approche centrée sur les pathogènes pour explorer notre écosystème symbiotique et ses fonctions essentielles pour notre santé.

Par-delà le seul diagnostic nosographique auquel aboutit la démarche clinico-biologique associée à l'imagerie, le microbiome représentera à terme une source d'informations complémentaires pour le praticien. L'analyse métagénomique pourra orienter la prise en charge du patient en identifiant un profil microbien particulièrement dysfonctionnel, en prédisant la réponse à certains médicaments, en indiquant l'intérêt de mesures diététiques, en fournissant des marqueurs d'action thérapeutique, en se substituant à des moyens de monitoring plus invasifs.

Des mesures numériques de caractérisation des dysbioses (avec une forte valeur prédictive négative) pourraient être proposées sur la base des enseignements de la recherche des quinze dernières années. L'analyse du microbiome permettrait ainsi d'enrichir l'appréciation de certains risques à toutes les périodes de la vie et d'ajuster la prise en charge. Au-delà, des signatures précises qui ont été identifiées dans le

monde académique pourront, dans les prochaines années, être optimisées en termes de valeur prédictive et développées en tests rendus accessibles en biologie médicale :

- Dans l'obésité, un microbiote intestinal appauvri prédit une moins bonne réponse à une restriction calorique¹².
- Dans la cirrhose, la composition du microbiote serait associée à la survenue de complications. La perte de la richesse en gènes du microbiote fécal apparaît comme prédictive des chances de survie du patient en l'absence de greffe hépatique¹³.
- Dans les thérapies du cancer, et notamment l'immunothérapie, la composition du microbiote a pu être identifiée comme un indicateur clé du potentiel de réponse du patient^{14,15}.

Ainsi, des perturbations du microbiote ont été identifiées dans de nombreuses maladies chroniques, avec des répercussions directes ou indirectes sur le métabolisme. De plus en plus de signatures et biomarqueurs sont identifiés dans ces pathologies, allant de la prévention à la réponse aux traitements, en passant par les facteurs diagnostiques et pronostiques, même si, à l'heure actuelle, beaucoup de facteurs confondants sont susceptibles d'altérer les signatures et réponses aux traitements. Ces recherches et résultats prometteurs ouvrent la porte à une nutrition préventive, à une médecine personnalisée et à de nouvelles perspectives thérapeutiques, à l'instar de la transplantation fécale.

Dr Joël Doré,
CHERCHEUR EN ÉCOLOGIE MICROBIENNE INTESTINALE À L'INSTITUT MICALIS ; DIRECTEUR SCIENTIFIQUE METAGENOPOLIS, INRAE, UNIVERSITÉ PARIS-SACLAY, AGROPARISTECH.

Dr Philippe Halfon,
MD, PHARMD, PHD, PROFESSEUR AU COLLÈGE DE MÉDECINE DES HÔPITAUX DE PARIS (CMHP) ; CHEF DE PÔLE DE MÉDECINE INTERNE ET MALADIES INFECTIEUSES, HÔPITAL EUROPÉEN - LABORATOIRE ALPHABIO - BIOGROUP.

David Petiteau,
TRANSLATIONAL MICROBIOMICS, GMT.