

Microbiome – découverte d'un organe

Christian Kahlert^a, Pascal Müller^b

^a Infektiologie und Spitalhygiene Kantonsspital St. Gallen und Ostschweizer Kinderspital

^b Gastroenterologie, Ostschweizer Kinderspital

L'être humain vit en tant qu'holobionte dans une forme d'existence comprenant plusieurs espèces (biozoonose) de plus de 100 billions de bactéries. Tous ces organismes (en plus des bactéries, archées, virus, champignons et protozoaires) forment notre microbiote. Il colonise toutes nos interfaces environnementales et, avec l'information génétique et le métabolisme, est appelé microbiome. En tant qu'individus, nous ne sommes donc jamais seuls et en tant que «super organisme» le nombre de nos cellules est multiplié par 10, et notre information génétique par 150 même. Le microbiome ne pèse il est vrai pas très lourd, mais quand même presque 2% de notre poids corporel – comme le cerveau.

Microbiome et métagénome

Les connaissances sur la nature et les répercussions de cette biozoonose ont explosé ces dernières années. La tradition sur les fonctions métaboliques et la résistance de la colonisation a très rapidement été complétée et élargie. A ce propos, l'interrelation permanente et en profondeur entre microbiome et système immunitaire humain est particulièrement surprenante. La perspective s'ouvre sur des notions physiopathologiques totalement nouvelles de maladies déjà bien comprises, mais aussi et surtout encore peu comprises. L'influence de l'environnement sur certaines maladies – comme par la nourriture et les antibiotiques – devient compréhensible. La condition de ces nouvelles ouvertures est donnée par des techniques de diagnostic moléculaire toujours plus avantageuses et rapides, comme le pyroséquençage, qui permet de séquencer tout l'ADN d'un échantillon. Il fournit d'énormes quantités de données, qui ne peuvent être interprétées et avoir un sens qu'à l'aide de méthodes bio-informatiques et en comparaison aux banques de données publiques en expansion continue.

Dans les échantillons ainsi analysés, en plus du génome humain, apparaît le métagénome. Ce dernier contient les informations génétiques de très nombreuses bactéries, dont plus de 80% restent complètement ignorées avec les cultures bactériologiques classiques. Mais ce n'est pas tout. A part l'information génétique dans le microbiome, il est possible «d'épier» le métatranscriptome (ARN), le métaprotéome (protéines) et le métabolome (produits métaboliques). Avec les éléments correspondants de notre organisme, cela donne une intégration «multiomes», ouvrant la porte vers une véritable médecine personnalisée.

Deux grands projets scientifiques ont accéléré ces techniques, et du même fait toutes les recherches sur le micro-

biome. Le *Human Microbiome Project* (HMP) nord-américain a démarré en 2007 (www.hmpdacc.org); il a été suivi en Europe en 2008 par le *Metagenomics of the human intestinal tract* (MetaHIT, www.metahit.eu). Le métagénome de plus de 400 individus au total est ainsi séquencé.

Cet article schématise à titre exemplaire d'importantes connaissances sur le microbiome bactérien intestinal et donne un aperçu de leurs applications actuelles en pratique clinique. Archées, virus, champignons et protozoaires ne seront pas pris en compte ici.

Eubiose et dysbiose

Notre microbiome est caractérisé par les différentes propriétés d'un organe: il a une morphologie, une pathologie, une physiologie et une physiopathologie bien à lui, il est héréditaire, il communique à l'intérieur et à l'extérieur des cellules et peut être transplanté. Mais il ne se forme qu'après la naissance. La transmission, dans le sens de la colonisation par le microbiote maternel, ne se fait elle aussi qu'après la naissance. Le mode d'accouchement détermine la composition des bactéries pionnières sur la peau et la muqueuse des nouveau-nés. Après césarienne, ce sont les staphylocoques ou corynebactéries cutanés qui dominent, et après accouchement par voie basse les germes vaginaux et intestinaux, dont surtout les lactobacilles acidophiles. Sous l'effet des influences environnementales qui commencent à se manifester, comme l'espace vital, l'hygiène, les vaccinations et l'exposition aux antibiotiques, le microbiote adulte, dont la composition est très stable, se développe au cours des deux premières années de vie.

C'est surtout l'influence de différents facteurs de l'environnement, comme le pH ou la saturation d'oxygène, qui détermine quelles bactéries dominent à quel endroit dans l'organisme après la naissance. Dans le tractus intestinal, 4 souches dominent le microbiote bactérien: Firmicutes et Actinobacteria Gram positifs, de même que Proteobacteria et Bacteroidetes Gram négatifs. Les bâtonnets Gram négatifs ne sont de loin pas en majorité dans l'intestin. Bien que le contact avec la muqueuse intestinale soit très étroit, il y a une frontière claire. Les antibiotiques endogènes (peptides dits antimicrobiens) sont produits par les cellules de Paneth de l'épithélium avant d'être sécrétés dans la lumière. Ce sont eux qui constituent cette frontière, avec les immunoglobulines de type A (IgA).

Malgré cette frontière claire, notre dialogue avec le microbiote est intensif. Grâce à ce mutualisme, nous pro-

Les auteurs n'ont déclaré aucun soutien financier ni conflit d'intérêts personnels en relation avec leur article.

Tableau 1

Produits probiotiques médicaux (oraux) disponibles en Suisse.

Produit	Souche
Bioflorin®	Enterococcus faecalis Cernelle 68 (SF68)
Bioflorina®	Enterococcus faecalis Cernelle 68 (SF68)
Infloran®	Lactobacillus acidophilus Bifidobacterium infantis
Lacteol® 5	Lactobacillus fermentum Lactobacillus delbrueckii
Lactoferment®	Lactobacillus fermentum Lactobacillus delbrueckii
Mutaflor®	Escherichia coli embranchement Nissle 1917
Pro-Symbioflor®	Enterococcus faecalis Escherichia coli
Symbioflor® 1/2	Enterococcus faecalis Escherichia coli

fitons de la résistance de la colonisation et tirons 10% de plus d'énergie de notre nourriture. Nous recevons en outre des micronutriments essentiels, comme les vitamines B, et sommes assistés dans la dégradation des aliments, sels biliaires et médicaments.

Depuis quelques années, nous savons toujours mieux quel rôle décisif joue le dialogue avec notre système immunitaire. Les fonctions immunitaires ne se développent pour l'essentiel que sous l'influence du microbiote. Les souris élevées dans un environnement stérile sont immunosupprimées. Les follicules lymphatiques sous l'épithélium intestinal ne se forment qu'en présence du microbiote intraluminal. Les microbiotes n'influencent pas que le système immunitaire intestinal. Les signaux immunologiques de la lumière intestinale parviennent à l'ensemble de l'organisme et sont présents même dans le SNC.

Pour ce qui est de l'influence de certaines bactéries sur la maladie et la santé, beaucoup de choses restent encore floues. Cependant, il est connu qu'une grande diversité bactérienne est l'expression d'un microbiote sain («eubiose»). Une dysbiose, avec une diversité plus faible et prédominance de certaines bactéries, se voit par contre dans de très nombreuses maladies. A part l'obésité, les pathologies inflammatoires intestinales chroniques et la diarrhée à Clostridium difficile, il y a aussi des maladies extra-intestinales comme allergies et asthme, mais également des pathologies neuropsychiatriques. Le projet de recherche européen MetaHIT est en outre parvenu à définir 3 clusters de microbiotes (entérotypes). Ils sont stables et indépendants de l'ethnie, de l'alimentation, du sexe et de l'âge [1].

L'association à certaines pathologies neuropsychiatriques n'est à première vue moins parfaitement compréhensible. Elle s'explique toutefois par un axe de plus en plus étudié entre l'intestin et le cerveau («Gut-Brain Axis»). La communication est bidirectionnelle par des molécules neuroactives (par ex. peptides microbiens agissant sur les récepteurs des benzodiazépines), le nerf vague et des composantes spécifiques ou non du système immunitaire.

En plus de cette communication entre microbiote et être humain, il y a aussi des «conversations» qui nous restent

cachées. Car notre microbiote est «multilingue» et communique en plus par *quorum sensing* et bactériocines, pas seulement en son sein. La conversation se tient simultanément avec autres espèces de bactéries et en plusieurs langues. Ici aussi, des molécules servent à cet échange d'informations. Du fait que cette communication peut également avoir pour conséquence une invasion coordonnée, il n'est pas très étonnant que des molécules anti-quorum et des bactériocines fassent déjà l'objet de recherches en alternative aux antibiotiques. Malgré toute la joie et l'enthousiasme déclenchés par de nouveaux modèles et hypothèses physiopathologiques, de même que par les interventions diagnostiques et thérapeutiques qui en résultent, une question attend encore sa réponse: la dysbiose dans une maladie est-elle l'expression d'une causalité ou n'est-elle qu'une association ou une corrélation? L'expérimentation animale donne au moins des arguments clairs en faveur d'une relation causale. Si des souris élevées en milieu stérile (germ-free, GF) reçoivent des microbiotes de souris ou humains obèses, elles deviendront elles aussi obèses, quelle que soit leur alimentation. Si par contre des souris GF sont dans la même cage que des souris maigres avec leur microbiotes, c'est leur nourriture qui fera qu'elles deviendront obèses ou restent maigres [2]. En résumé: dans le modèle animal, l'obésité peut être transplantée par le microbiote.

Microbiote en pratique

La découverte de l'interaction en profondeur entre organisme et microbiome, de même que d'une association entre dysbiose et nombreuses maladies, donne des espoirs d'influence thérapeutique. La «transformation» du microbiote en eubiose pourrait ainsi favorablement influencer une maladie, voire la guérir. En fait, la transplantation de microbiotes eubiotes (fecal microbiota transplantation [FMT] ou transplantation fécale), sorte de *proof of concept*, vient à l'appui de cette hypothèse. Les premiers cas décrits à ce propos remontent à 1958. Plus de 700 FMT sont maintenant documentées. La FMT est pratiquée avec succès dans les infections récidivantes à Clostridium difficile (RCDI). Ce traitement est efficace dans plus de 90% des cas, donc nettement plus que l'option thérapeutique par antibiotiques [3]. Bien que peu digeste en apparence, la FMT est relativement facile à réaliser en pratique. Du fait qu'une antibiothérapie est le facteur de risque le mieux connu de RCDI, un prélèvement général des selles (auto-banking) avant l'antibiothérapie est également discuté. Ce qui ouvre l'option d'une autotransplantation ultérieure.

L'exemple des RCDI illustre de manière exemplaire l'influence grave de conséquences des traitements antibiotiques sur le microbiome. Chaque intervention diminue inévitablement le métagénome avec dysbiose du microbiote et sélection de bactéries résistant aux antibiotiques. Un microbiote inchangé pendant une période allant jusqu'à 4 ans a été confirmé jusqu'ici [4]. Le principe de chaque intervention thérapeutique, à savoir «primum non nocere», prend ainsi une importance nouvelle pour chaque traitement antibiotique. Les connaissances

Tableau 2

Produits probiotiques non médicaux (oraux) disponibles en Suisse (liste non exhaustive); les produits Functional-food ne sont pas pris en compte.

Produit	Souche
BiGaia®	Lactobacillus reuteri DSM 17938
L'équilibre Vital Pré et Probiotique®	Lactobacillus acidophilus (+ Isomalt + Inulin)
Lactobact Omni Fos® Plv	Lactobacillus acidophilus Enterococcus faecalis embranchement Cernelle 68 (SF68) Lactobacillus salivarius Lactobacillus lactis Bifidobacterium lactis Lactobacillus casei
Symbiolact®	Lactobacillus acidophilus Lactobacillus paracasei Lactobacillus salivarius Lactobacillus lactis Bifidobacterium bifidum Bifidobacterium lactis

acquises ces dernières années, et celles qui le seront encore, doivent à tout prix entrer dans le calcul bénéfico-risque de tout traitement antibiotique. La période d'avant la constitution complète du microbiote adulte, c.-à-d. les deux premières années de vie, a une importance particulière. Il semble qu'une comorbidité (obésité) puisse influencer à vie le microbiote.

D'autres facteurs extérieurs, dont l'alimentation, ont aussi la même influence en fonction de la durée de leur exposition et de leur concentration. Il est intuitivement compréhensible que le type d'alimentation influence directement le microbiote et du même fait l'eubiose. Un «entérotype végétarien» par exemple, avec prédominance de Prevotella, est différent d'un «entérotype carnivore», avec prédominance de Bacteroides. Le microbiote se comporte de manière complémentaire, en produisant davantage de micronutriments essentiels (par ex. acide folique ou riboflavine) si la nourriture n'en contient pas suffisamment. L'influence déterminante du microbiote est tout aussi évidente sur la pharmacocinétique de médicaments administrés par voie entérale.

Un lien peut également être fait entre consommation de viande rouge et risque accru d'accidents cardiovasculaires par le microbiote. Une antibiothérapie préalable prévient l'apparition de molécules athérogènes [5]. Des signaux anti-inflammatoires sont par contre émis par des molécules d'hydrates de carbone non digérés, tels que l'amidon, dans les conditions d'anaérobiose du côlon. Certaines espèces bactériennes les transforment pour la plupart en acides gras à chaînes courtes (SCFA), dont actate et butyrate. Ces molécules non seulement fournissent de l'énergie à l'épithélium et au microbiote, mais ont en plus un effet régulateur direct sur les cellules T intestinales et protègent l'épithélium contre une réaction inflammatoire excessive.

En fin de compte, l'association bactériothérapie et nourriture par l'administration de pro-, pré-, post- ou symbiotiques se fait depuis longtemps déjà en pratique.

Bien qu'une influence puisse être démontrée, de nombreux résultats de recherches sur l'effet des biotiques en pratique ne sont applicables qu'avec certaines limites. Différentes espèces, associations et doses ont fait que seules de rares indications sont clairement confirmées. En thérapeutique, cela ne concerne que la diarrhée infectieuse aiguë. A titre prophylactique, l'efficacité est confirmée dans l'entérocolite nécrosante du nouveau-né, la diarrhée aiguë secondaire aux antibiotiques, la pouchite et l'intolérance au lactose [6]. La disponibilité des produits adéquats n'est malheureusement pas encore toujours garantie (tab. 1 et 2).

Conclusion

Certaines maladies encore peu comprises sont souvent multifactorielles. Grâce aux connaissances meilleures depuis quelques années sur le métagénome, la méta-transcription, le métaprotéome et le métabolome, la dimension jusqu'ici très générale de «facteurs environnementaux» devient de plus en plus concrète. La définition exacte d'une eubiose et de la dysbiose, clairement associée à certaines maladies, doit cependant encore être trouvée. Les connaissances toujours plus grandes de la composition complexe et des fonctions de notre microbiote élargit déjà le champ de vision sur des voies diagnostiques et thérapeutiques entièrement nouvelles. L'efficacité impressionnante de la transplantation fécale montre une première application de connaissances de la recherche fondamentale en pratique thérapeutique. Les dégâts mesurables d'une dysbiose persistant pendant des années montrent bien à quel point l'analyse du rapport bénéfice-risque est importante avant toute administration d'antibiotiques.

Correspondance:

Dr Christian Kahlert
Kantonsspital St. Gallen
Rorschacherstrasse 95
CH-9007 St. Gallen
[christian.kahlert\[at\]kssg.ch](mailto:christian.kahlert[at]kssg.ch)

Références

- Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473(7346):174–80.
- Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut Microbiota from Twins Discordant for Obesity Modulate Metabolism in Mice. *Science*. 2013;341(6150):1241214.
- Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile. *N Engl J Med*. 2013;368(5):407–15.
- Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One*. 2010;5(3):e9836.
- Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85.
- Sanders ME, Guarner F, Guerrant R, Holt PR, Quigley EMM, Sartor RB, et al. An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. *Gut*. 2013;62(5):787–96.