

CONCOURS GÉNÉRAL DES LYCÉES

—

SESSION 2018

—

BIOTECHNOLOGIES

(Classes de terminale STL)

PREMIÈRE PARTIE

Durée : 5 heures

L'usage de la calculatrice est autorisé.

Les différentes parties du sujet peuvent être traitées de manière indépendante.

Consignes aux candidats

- Ne pas utiliser d'encre claire
- N'utiliser ni colle, ni agrafe
- Numérotter chaque page en bas à droite (numéro de page / nombre total de pages)
- Sur chaque copie, renseigner l'en-tête + l'identification du concours :

Concours / Examen : CGL

Section/S spécialité/Série : BIOTE

Epreuve : 101

Matière : BIOT

Session : 2018

Le microbiote intestinal, entre homéostasie et pathogénie.

1. A la découverte de la biodiversité du microbiote intestinal.

1.1. La métagénomique : vers un recensement exhaustif du microbiote.

1.1.1. L'approche métagénomique.

1.1.2. L'ARN_r 16S, un caractère discriminant pour la taxonomie.

1.1.3. Extraction et amplification de l'ADN codant pour l'ARN_r 16S.

1.1.4. Obtention de profils d'abondance par électrophorèse.

1.2. Le microbiote : une communauté qui évolue.

1.2.1. Milieux de vie du microbiote intestinal.

1.2.2. L'évaluation du niveau d'activité du microbiote.

1.2.3. Mise en place du microbiote au cours de la vie.

1.2.3.1. Le processus de la primocolonisation.

1.2.3.2 Plasticité catabolique de l'alimentation : l'exemple japonais.

2. L'eubiose, un état équilibré du microbiote intestinal.

2.1. La muqueuse intestinale : un lieu d'échanges.

2.2. Le microbiote et le métabolisme glucidique.

2.3. Les fonctions de défenses du microbiote.

2.3.1. Le microbiote, élément activateur de l'immunité intestinale.

2.3.2. Le microbiote, acteur de l'immunité intestinale.

3. La dysbiose : la rupture de l'équilibre au sein du microbiote.

3.1. Quand une bactérie du microbiote devient pathogène.

3.1.1. Une adaptation à une niche écologique particulière pour *Helicobacter pylori*

3.1.2. Les outils de diagnostic des infections à *Helicobacter pylori*.

3.2. Rôle du microbiote sur les maladies métaboliques associées à l'obésité.

4. Les enjeux sociétaux et médicaux du microbiote sur les troubles nerveux.

Le microbiote intestinal, entre homéostasie et pathogénie.

Le microbiote intestinal correspond à l'ensemble des micro-organismes présents dans le tube digestif humain. Selon certaines estimations, l'organisme humain hébergerait au moins autant de micro-organismes dans l'intestin que de cellules qui constituent l'organisme¹... Étant donné que la majorité de ces micro-organismes est réfractaire à toute culture en laboratoire, cette biodiversité n'avait été jusqu'à présent que partiellement étudiée.

De récents outils tels que la métagénomique apportent une toute autre vision du microbiote intestinal. Cette approche consiste à séquencer de manière globale ou ciblée l'ADN du microbiote. Elle a ainsi apporté des précisions sur la composition de l'écosystème intestinal et surtout, elle a permis de reconsidérer les rôles de la flore intestinale, également appelée microbiote intestinal, au sein de la physiologie humaine.

Alors que certains travaux ont montré le rôle prépondérant du microbiote dans la mise en place de l'homéostasie, d'autres ont mis en évidence que ces mêmes micro-organismes sont susceptibles d'être à l'origine de processus pathologiques. Le microbiote est donc un sujet de recherche en plein développement qui devrait fournir, dans un avenir relativement proche, de nouveaux outils de diagnostic et de nouvelles pistes thérapeutiques.

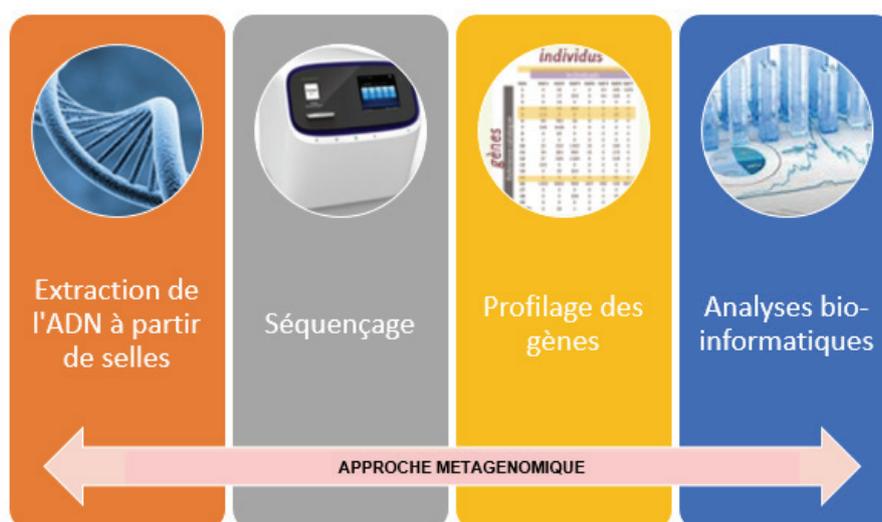
¹ Dans son livre « Jamais seul » le chercheur Marc André Selosse estime à 10 000 milliards le nombre de bactéries hébergées dans l'intestin d'un être humain de corpulence moyenne.

1. A la découverte de la biodiversité du microbiote intestinal.

1.1. La métagénomique : vers un recensement exhaustif du microbiote.

1.1.1. L'approche métagénomique.

Les techniques classiques de mise en culture mettent en évidence environ 30% du microbiote intestinal. Une nouvelle approche biotechnologique, la métagénomique, permet de mieux appréhender la diversité de la flore intestinale comme l'illustre le **schéma ci-dessous** :



Quelques étapes clés appliquées à l'étude du microbiote intestinal par métagénomique.

Document adapté Blottière H., Doré J. (2016) *Impact des nouveaux outils de métagénomique sur notre connaissance du microbiote intestinal et de son rôle en santé humaine. Enjeux diagnostiques et thérapeutiques* Médecine et sciences 32 11 944-951

La démarche métagénomique globale représente une nouvelle stratégie conduisant à faire l'inventaire de tous les gènes présents dans un environnement naturel. Appliquée au microbiote intestinal, cette approche permet de séquencer l'ensemble de l'ADN (Acide DésoxyriboNucléique) qui le constitue. Le **document 1** présente un modèle de la structure de l'ADN.

Q.1. A l'aide de ce document, **donner** les noms des bases hétérocycliques azotées constitutives de l'ADN. **Préciser** celles qui possèdent un noyau purique et celles qui ont un noyau pyrimidique.

La métagénomique contribue à une meilleure caractérisation des écosystèmes microbiens et permet également d'en déduire leurs fonctions potentielles.

1.1.2. L'ARN_r 16S, un caractère discriminant pour la taxonomie.

La métagénomique ciblée consiste à séquencer un unique gène au lieu d'un génome complet. Afin de mettre en évidence les différentes espèces bactériennes du microbiote intestinal, est analysé le gène codant pour l'ARN_r 16S. La taxonomie basée sur ces ARN_r repose sur la distance génétique qui reflète les liens de parenté entre les micro-organismes. Le **document 2a** présente la structure secondaire de l'ARN_r 16S. Le **document 2b** présente le pourcentage de similarité des ARN_r 16S de plusieurs bactéries.

Q.2. A l'aide du **document 2**, **expliquer** pourquoi on peut utiliser l'ARN_r 16S pour distinguer les différentes populations de bactéries.

1.1.3. Extraction et amplification de l'ADN codant pour l'ARN_r 16S.

Cette approche phylogénétique nécessite l'extraction du gène ribosomique spécifique (appelé "ADN_r 16S") suivie d'une amplification par PCR. Le **document 3** détaille la procédure opératoire pour l'extraction de l'ADN_r 16S fécal.

Q.3. **Elaborer** un organigramme de la procédure opératoire d'extraction de l'ADN_r 16S fécal. Y **intégrer** le rôle des réactifs soulignés et mis en gras.

Le **document 4** présente un schéma illustrant le principe de la méthode d'amplification par PCR (polymerase chain reaction) de la séquence d'ADN_r 16S. Elle est réalisée dans un thermocycleur dont le programme fixe les températures et les durées des étapes des cycles.

Q.4. A l'aide du **document 4**, **expliquer** les mécanismes moléculaires qui se déroulent lors des différentes étapes de la PCR. A l'aide de l'ensemble des informations, **justifier** les températures programmées dans le thermocycleur.

Q.5. **Justifier** le nombre de molécules d'ADN_r 16S obtenues à l'issue des 35 cycles.

1.1.4. Obtention de profils d'abondance par électrophorèse.

L'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) est une méthode d'analyse et de fractionnement de séquences d'ADN bicaténaire. Un gradient de dénaturant chimique (peu concentré au niveau de la cathode, concentré au niveau de l'anode) est réalisé sous l'effet d'un champ électrique. Les ADN riches en AT correspondent aux bandes qui migrent peu. A l'inverse, les ADN riches en GC migreront plus loin.

Q.6. **Expliquer** la migration différentielle des ADN riches en AT et en GC. **Conclure** quant au critère de séparation de ce type d'électrophorèse en vous appuyant sur les **documents 1 et 5**.

Le **document 5** fournit un exemple de profil électrophorétique obtenu à partir d'analyse de selles de nourrissons.

Q.7. Reproduire l'électrophorégramme, **annoter** le en précisant le sens de migration, les places de l'anode et la cathode et **justifier** la position de la ligne de dépôt.

A la suite d'analyses de différentes selles, des profils d'abondance ont été obtenus. Trois taxons bactériens prépondérants du microbiote intestinal ont été mis en évidence chez l'adulte. Ils sont représentés par les Firmicutes, Bacteroidetes et Actinobacteria comme l'illustre le **document 6**.

Q.8. Donner les éléments à prendre en compte pour exploiter cet électrophorégramme et **l'analyser**.

1.2. Le microbiote : une communauté qui évolue.

Des résultats suggèrent que les microorganismes du microbiote intestinal seraient regroupés en niches écologiques comme l'illustre le **document 7**. Elles sont définies comme un ensemble de paramètres environnementaux dont dépend une espèce donnée et qui la différencient des autres espèces occupant le même habitat.

1.2.1. Milieux de vie du microbiote intestinal.

Q.9. Dans le **document 7**, **choisir** deux genres bactériens appartenant à des niches écologiques différentes et **construire** un document qui serait utilisable en laboratoire pour orienter l'identification. Il doit permettre de préciser les paramètres physico-chimiques des niches écologiques occupées en vue d'une mise en culture et présenter des aspects morphologiques.

1.2.2. L'évaluation du niveau d'activité du microbiote.

SYBR Green est un marqueur fluorescent qui permet d'évaluer le niveau d'activité du microbiote. Son spectre d'absorption est fourni dans le **document 8**. Le **document 9** montre la cible intracellulaire de ce fluorochrome.

Q.10. A l'aide de ces deux documents, **expliquer** le principe et l'intérêt du SYBR Green dans l'étude de l'activité métabolique du microbiote.

1.2.3. Mise en place du microbiote au cours de la vie.

1.2.3.1. Le processus de la primocolonisation.

Le microbiote intestinal est une communauté écologique complexe par ses activités collectives et ses interactions avec l'Homme. Les premières semaines de vie sont cruciales dans l'implantation du microbiote intestinal. Cette primo-colonisation est sous l'influence de plusieurs facteurs exogènes comme le mode d'accouchement : césarienne, voie vaginale (naturelle)... Le graphique du **document 6** présente l'évolution du microbiote en fonction du temps (de la naissance à l'âge adulte). On distingue des Gram + (Firmicutes et Actinobacteria) et des Gram - (Bacteroidetes et Proteobacteria).

Q.11. Décrire l'évolution du microbiote intestinal de la naissance à l'âge adulte et **préciser** les paramètres influençant cette évolution.

1.2.3.2. Plasticité catabolique du microbiote : l'exemple japonais.

Une activité enzymatique a été identifiée chez les bactéries marines et au sein d'autres bactéries peuplant les intestins des japonais. Cette enzyme, la porphyranase, est à l'origine de cette nouvelle activité. Elle dégrade le porphyrane, un polymère de glucides, présent dans les parois d'une algue rouge utilisée notamment pour préparer les sushis (spécialités culinaires japonaises). Le **document 10** présente la structure tridimensionnelle de la porphyranase B de *Zobellia galactanivorans*.

Q.12. A partir du **document 10**, d'une part **expliquer** l'origine de la structure spatiale de la porphyranase et d'autre part **expliquer** le ou les liens avec l'activité enzymatique présentée dans le **document 11**.

Les scientifiques du CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique) et de l'UPMC (Université Pierre et Marie Curie) expliquent que la microflore des japonais a été modifiée en consommant l'algue entourant les sushis. Poussant leurs investigations, les scientifiques ont comparé des séquences génomiques de protéines similaires à la porphyranase retrouvées dans les bactéries de la flore intestinale de 5 japonais et de 18 américains. Le **document 12** présente les résultats obtenus pour cette étude.

Q.13. A partir des résultats des **document 10, 11 et 12**, **bâtir** une hypothèse sur les mécanismes qui ont permis aux japonais d'acquérir un nouveau phénotype leur permettant de mieux digérer les sushis.

Le microbiote est donc un écosystème dynamique dont la composition est conditionnée par de nombreux facteurs. L'évolution des techniques d'investigation a permis de mieux comprendre le rôle bénéfique du microbiote intestinal appelé "eubiose".

2. L'eubiose, un état équilibré du microbiote intestinal.

2.1. La muqueuse intestinale : un lieu d'échanges.

La muqueuse intestinale est le site d'échanges avec l'extérieur en particulier pour l'absorption des nutriments. Le **document 13** représente une coupe transversale de l'intestin grêle.

Q.14. A l'aide d'un schéma explicite, **montrer** que la structure des microvillosités est particulièrement adaptée à leur fonction.

Une autre propriété de l'épithélium intestinal est son extraordinaire capacité de régénération, puisque ce tissu est entièrement renouvelé tous les 4 à 5 jours chez les mammifères.

Q.15. À partir du **document 14**, **reproduire** sur votre copie le schéma **et le compléter** avec les indications du texte pour montrer les mécanismes qui permettent au microbiote d'intervenir dans la multiplication des cellules souches de l'épithélium intestinal. Le schéma peut être simplifié.

2.2. Le microbiote et le métabolisme glucidique.

Le métabolisme de l'hôte est principalement influencé par celui des bactéries présentes dans le côlon. Certaines dégradent, en anaérobiose, les glucides non digérés. Les groupes bactériens ont des activités complémentaires ; ce qui aboutit à une chaîne trophique conduisant à la transformation des polysaccharides en métabolites fermentaires. Des enzymes catalysent la coupure des polysaccharides en chaînes plus courtes puis en oses. Ces derniers sont transformés en pyruvate. La voie métabolique utilisée est la glycolyse dont le détail est fourni dans le **document 15**.

Q.16. **Dresser** les bilans moléculaire et énergétique de la glycolyse en anaérobiose.

Les voies fermentaires aboutissent à la production de métabolites intermédiaires comme l'acide formique, l'acide succinique et l'acide lactique. Les produits finaux de ces chaînes trophiques sont les acides gras à courtes chaînes (SCFA short-chain fatty acid) : le butyrate, l'acétate et le propionate. Ils sont rapidement absorbés par l'épithélium intestinal et métabolisés par l'hôte à des fins énergétiques.

Le **document 16** fournit les formules développées de ces trois acides gras.

Q.17. Donner les noms de ces trois acides selon la nomenclature de l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC). Identifier et recopier leurs groupements fonctionnels.

2.3. Les fonctions de défenses du microbiote.

2.3.1. Le microbiote, élément activateur de l'immunité intestinale.

Le système immunitaire intestinal (GALT *gut-associated lymphoid tissue* ou tissu lymphoïde associé au tube digestif) comporte une grande variété de types cellulaires. On peut le scinder en deux composantes :

- innée, constituée des cellules épithéliales et des cellules présentatrices de l'antigène
- adaptative, assurée par certains lymphocytes.

Q.18. Expliquer les principales différences entre immunité innée et adaptative.

Le microbiote intestinal est constitué par des micro-organismes étrangers à l'hôte. Pourtant, le système immunitaire le tolère comme un "soi étendu". Ce qui implique des phénomènes de régulation, assurés à deux niveaux : moléculaire (humorale) et cellulaire. Concernant la médiation humorale, la régulation est due à la présence des bactéries du microbiote. En effet, elles stimulent la synthèse d'immunoglobulines A (IgA) sécrétées et de molécules telles que les interleukines.

Q.19. Expliquer le rôle des IgA sécrétées au niveau de la muqueuse intestinale. Vous préciserez la structure des immunoglobulines en indiquant par ailleurs les différents types de liaisons mises en jeu lors de la formation du complexe immun.

En ce qui concerne les interleukines produites, certaines stimulent le système immunitaire, d'autres le régulent (rôle anti-inflammatoire). Parmi ces molécules, on trouve notamment l'Interleukine 10 (IL-10). Afin de montrer leur influence dans l'homéostasie du système immunitaire intestinal, un dosage de ces IL10 est réalisé par la technique ELISA (Enzyme Linked Sorbent Immuno Assay) sandwich dont l'édifice moléculaire mis en jeu est illustré de façon schématique dans la figure du **document 17a**.

Q.20. A l'aide de la figure du **document 17a**, **expliquer** le principe de la technique mise en œuvre.

Afin de comprendre la relation entre le microbiote intestinal, le système immunitaire et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, deux modèles murins (souris) ont été étudiés : le premier n'a pas de pathologie, le second présente une maladie inflammatoire du côlon. Les résultats du dosage de l'IL-10 par la technique ELISA chez ces deux souris sont présentés dans le **document 17b**.

Q.21. Exploiter le **document 17** afin de construire une hypothèse sur le rôle de l'interleukine 10.

En ce qui concerne la médiation cellulaire, il existe une activation des lymphocytes T de manière basale (même en l'absence d'infection). Elle est en grande partie sous la dépendance de bactéries du microbiote et jouerait un rôle dans le maintien de l'homéostasie intestinale. Il existe un équilibre contrôlé entre deux populations de lymphocytes :

- Effecteurs ou pro-inflammatoires, impliqués dans la réponse aux infections bactériennes extracellulaires et fongiques
- Régulateurs ou anti-inflammatoires, impliqués dans la tolérance envers les bactéries commensales.

Les lymphocytes portent à leur surface des marqueurs spécifiques : les CD (Cluster de Différenciation). Ils peuvent être mis en évidence grâce à l'utilisation d'anticorps spécifiques (anti-CD4 et anti-CD25) couplés à un fluorochrome comme le montre le **document 18**. Ces marqueurs vont permettre de caractériser les cellules. Une des techniques utilisées est la cytométrie en flux dont le principe est résumé dans le **document 19**. Les résultats d'analyse des marqueurs CD4 et CD25 exprimés par des lymphocytes T présents dans le côlon des sujets 1 et 2 sont indiqués dans le **document 20**.

Q.22. En déduire le pourcentage de cellules exprimant les deux marqueurs chez les sujets 1 et 2.

Q.23. En comparant les données concernant les cellules exprimant simultanément CD4 et CD25, **en déduire** les marqueurs présents sur les lymphocytes T effecteurs et sur les lymphocytes régulateurs.

Q.24. A partir de l'ensemble des informations, **réaliser** un schéma bilan montrant les événements moléculaires et cellulaires qui expliquent la relation entre le microbiote intestinal, le système immunitaire et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

2.3.2. Le microbiote, acteur de l'immunité intestinale

Le microbiote stimule donc indirectement le système immunitaire de l'hôte mais il joue aussi un rôle direct dans l'élimination de microbes pathogènes comme l'illustrent les **documents 21a et 21b**.

Q.25. A l'aide de l'ensemble des documents du dossier, **expliquer** les mécanismes qui permettent au microbiote de contribuer à la mise en place et au maintien de l'eubiose intestinale.

Au sein de cette niche, l'équilibre est assuré par des boucles de régulation mais des facteurs externes ou mêmes certaines bactéries résidentes peuvent jouer un rôle déstabilisant et favorisant la pathologie.

3. La dysbiose : La rupture de l'équilibre au sein du microbiote.

3.1. Quand une bactérie du microbiote devient pathogène.

3.1.1. Une adaptation à une niche écologique particulière pour *Helicobacter pylori*

Au début des années 80, Barry Marshall et Robin Warren (prix Nobel de médecine et de physiologie 2005) ont découvert ***Helicobacter pylori*** lors d'examen par endoscopie gastrique. La présence de cette bactérie est le plus souvent asymptomatique. Néanmoins, elle est aussi responsable de 70% des ulcères gastriques, ce qui en fait un pathogène opportuniste même si les facteurs déclenchant de la pathogénicité restent à élucider.

Q.26. Expliciter les termes "asymptomatique" et "pathogène opportuniste".

La capacité d'*H. pylori* à vivre dans l'estomac vient du fait que cette bactérie ne reste pas dans le suc gastrique (pH < 2) mais se place dans le mucus recouvrant l'épithélium stomacal (pH < 5). De plus, *H. pylori* neutralise l'acidité présente dans son environnement grâce à la très forte activité uréase qu'il possède. En effet, cette enzyme catalyse, en présence d'eau, la dégradation de l'urée en deux molécules d'ammoniaque et une molécule de dioxyde de carbone selon l'équation suivante :



Q.27. Donner le nom général de ce type de réaction.

Q.28. Expliquer, à l'aide d'une équation chimique commentée, l'effet protecteur de l'ammoniaque vis-à-vis du chlorure d'hydrogène (HCl) présent dans le suc gastrique.

Q.29. Justifier pourquoi il est plus juste de parler d'acidotolérance que d'acidophilie pour *H. pylori*.

La molécule d'ammoniaque a pour formule moléculaire NH₃. Les numéros atomiques des atomes d'hydrogène et d'azote sont respectivement Z = 1 et Z = 7.

Q.30. En utilisant le modèle de Rutherford, **représenter** la structure électronique des deux atomes constitutifs de l'ammoniaque.

Q.31. Donner la représentation de Lewis de la molécule d'ammoniaque.

3.1.2. Les outils de diagnostic des infections à *Helicobacter pylori*.

Les données épidémiologiques établissent que 50% de la population mondiale est infectée par *H. pylori* et que seule la moitié de la population présente des symptômes liés à cette infection :

- Crampes dans la région gastrique. Les douleurs peuvent se manifester avant, durant ou après les repas. Elles sont généralement plus intenses la nuit et au petit matin.
- Nausées, vomissements, perte d'appétit, asthénie (fatigue physique).
- Halitose (mauvaise haleine), dépôts sur la langue.

Ces symptômes peuvent, en fonction de leur fréquence et de leur intensité, être le signe d'une gastrite, d'un ulcère ou d'un cancer de l'estomac. Au regard des conséquences de ce type d'infection, il apparaît nécessaire de posséder des outils de diagnostic simples, rapides et fiables. Dans ce cadre, il existe une procédure de dépistage décrite dans le **document 22**. Le principe du test est schématisé dans le **document 23**. La spécificité de ce test respiratoire dit « à l'urée marquée » est de 98,5 %.

Q.32. Rédiger le principe de ce test en vous appuyant sur les informations données dans les **documents 22 et 23**.

Q.33. Justifier la récupération de deux tubes « T_{0 min} » et de deux tubes « T_{30 min} ».

Q.34. D'un point de vue diagnostic, expliquer comment le résultat du test permet de différencier un patient sain d'un patient infecté.

Pour prolonger cette démarche diagnostic, la mise en culture d'*H. pylori* à partir d'une biopsie peut être réalisée. Au laboratoire, la culture nécessite des conditions particulières puisque *H. pylori* est notamment mésophile, micro-aérophile et auxotrophe.

Q.35. Détailler comment, techniquement, il est possible de respecter ces trois conditions culturales.

Comme toute infection bactérienne, la présence d'*H. pylori* peut être combattue par une antibiothérapie. Parmi les principes actifs à activité antimicrobienne, on trouve la clarithromycine et l'amoxicilline.

Q.36. Discuter des autres effets que peut avoir un tel traitement sur le microbiote intestinal.

3.2. Rôle du microbiote dans les maladies métaboliques associées à l'obésité.

Les acides gras à chaînes courtes issus de la fermentation sont utilisés comme substrats lipogéniques et gluconéogéniques par le foie. Le facteur FIAF (*Fasting Induced Adipocyte Factor*) contrôle le flux des acides gras et leur stockage dans les adipocytes. L'obésité est une pathologie caractérisée par un excès de masse adipeuse. En raison de sa prévalence sans cesse croissante, elle est devenue un problème majeur de santé publique puisqu'elle est à l'origine du développement de maladies telles le diabète de type 2. L'indice de masse corporelle (IMC) est un indicateur de la corpulence. Il permet d'évaluer les risques pour la santé liés à l'obésité et à la maigreur. Son calcul prend en compte la taille et la masse de l'individu comme le montre le **document 24**. Le **document 25** établit une corrélation entre l'IMC et le diabète de type 2. Les expériences présentées dans le **document 26** mettent en avant un des facteurs possible de l'obésité. Le **document 27** propose une comparaison d'une alimentation de natures glucidique et lipidique.

Q.37. En vous appuyant sur les **documents 24 à 27**, **discuter** du lien éventuel entre le microbiote, l'obésité et le diabète de type 2.

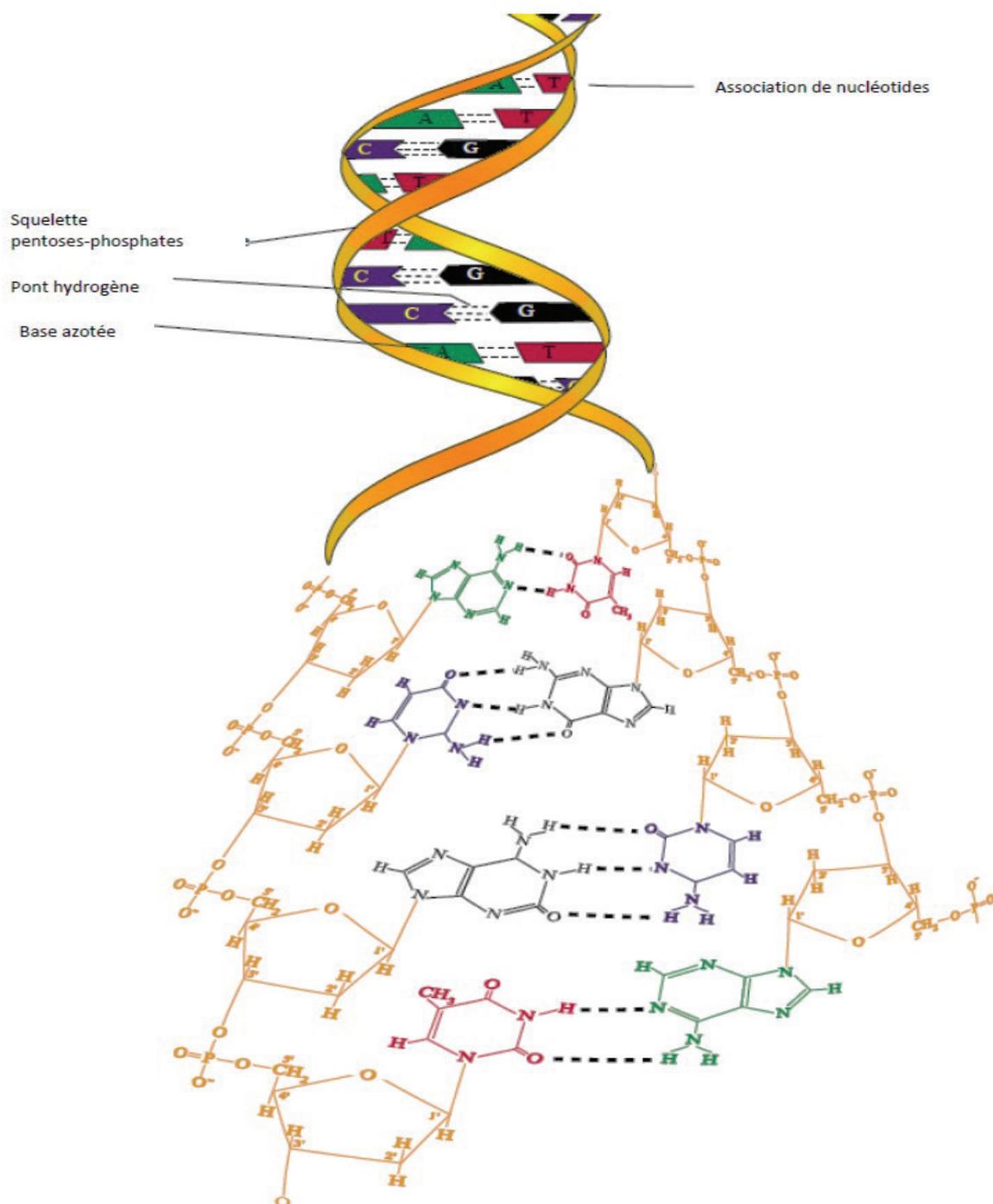
4. Les enjeux sociétaux et médicaux du microbiote sur les troubles nerveux.

La découverte du rôle du microbiote intestinal dans la santé et la maladie est perçue comme une des avancées scientifiques les plus importantes des dernières années.

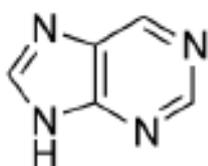
Q.38. A partir du **document 28 et de l'ensemble du dossier**, **rédigé** une synthèse, en une quinzaine de lignes, précisant les mécanismes par lesquels le microbiote participe aux différentes voies de communication agissant sur le système nerveux et en quoi il peut être à la fois une source de pathologies nerveuses mais également un espoir thérapeutique.

Document 1. Structure secondaire de l'ADN.

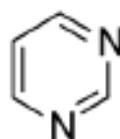
Photographie de Andy Vierstraete, 1999 [en ligne] disponible sur <http://www.pinterest.com> [consulté le 15 Mai 2017]



Nature des bases azotées :



Base purique

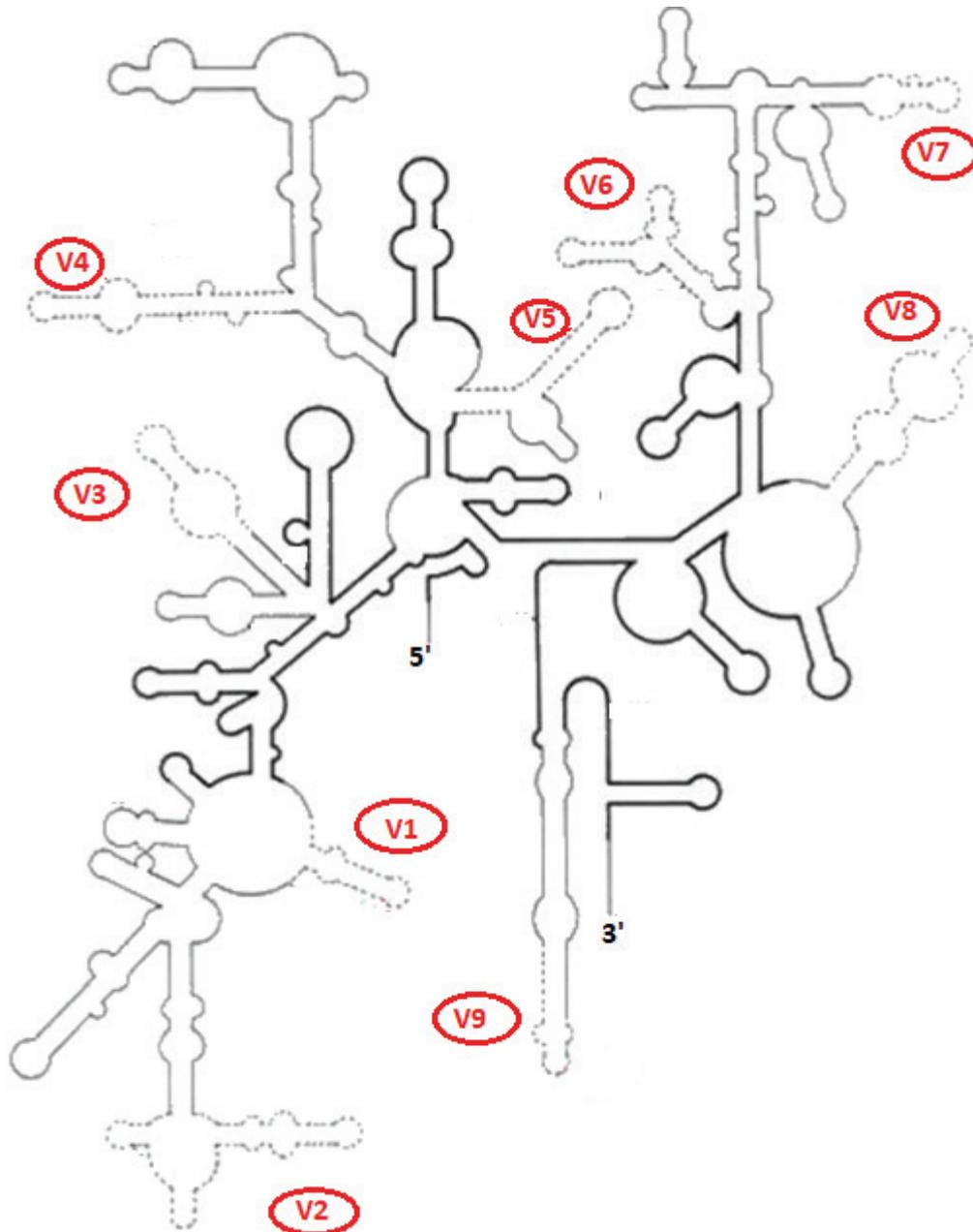


Base pyrimidique

Document 2. L'ARN_r 16S.

Document 2a. Schéma illustrant la structure secondaire d'un ARN présent dans le ribosome : l'ARN_r 16S.

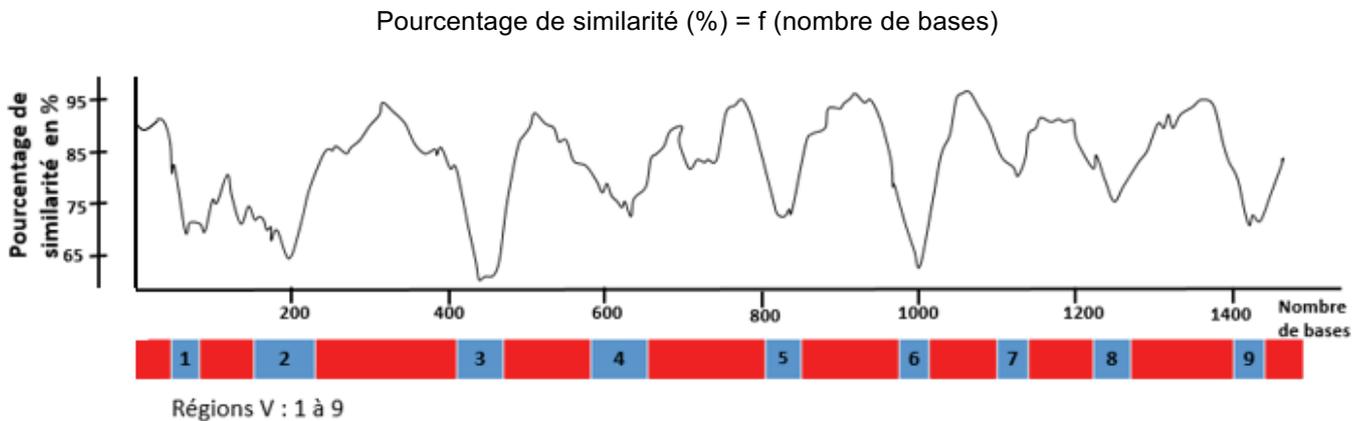
Document adapté d'après Gibello A., Del Mar Blanco M., Domínguez L. Fernández-Garayzábal J F. *Utilización de la PCR para el diagnóstico en Ictiopatología* [en ligne] disponible sur <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/html/art1503/pcrpez.htm> [consulté le 16 avril 2017]



L'ARN_r 16S est un ARN non codant composé d'environ 1500 nucléotides. On y distingue deux types de régions : certaines schématisées en pointillés et avec les références de V1 à V9 et d'autres en traits pleins. Ces deux types de régions font l'objet de l'étude menée avec le document 2b.

Document 2b. Evaluation de la variabilité des régions des ARN_r 16 S de plusieurs bactéries.

Document adapté Sacha Schutz *Introduction à la métagénomique* [en ligne] disponible sur : <http://dridk.me/metagenomique.html> [consulté le 23 juin 2017]



Document 3. Réactifs et procédure opératoire pour l'extraction d'ADN fécal.

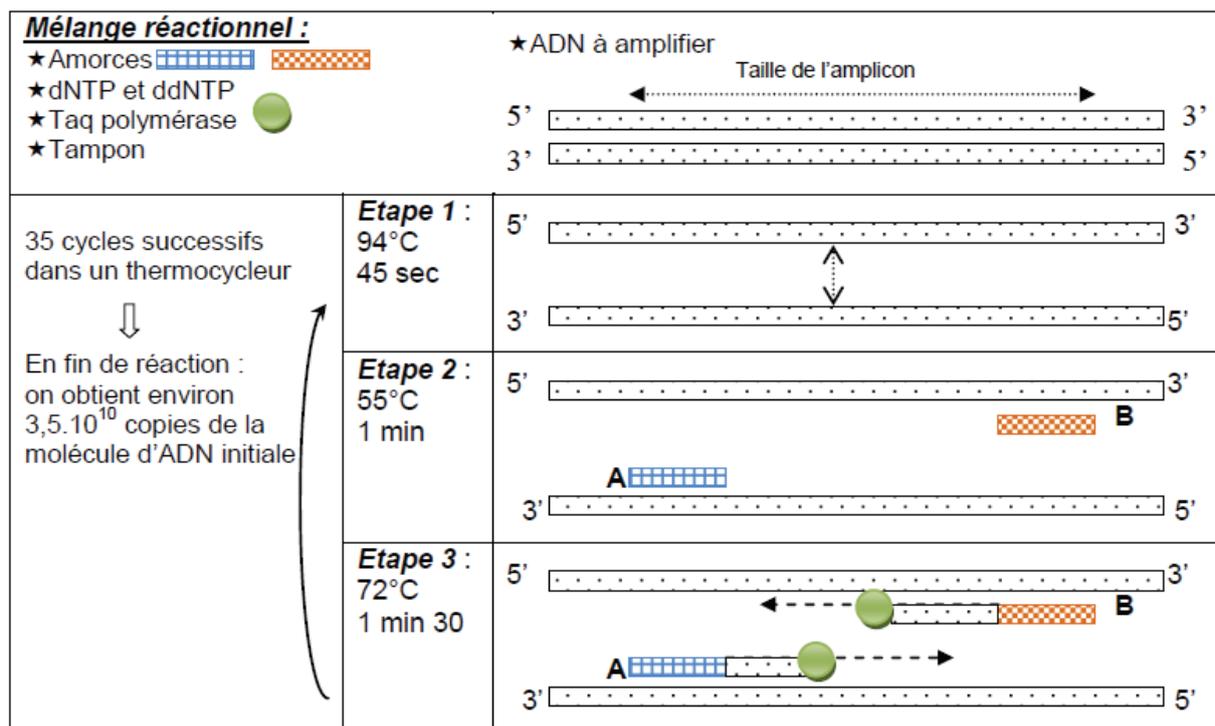
Document adapté d'après Moles L., Gómez M., Heilig H., Bustos G., Fuentes S., Willem de Vos, Fernández L., Juan M. Rodríguez J., Jiménez E. (2013) *Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life* [en ligne] disponible sur <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0066986> [consulté le 25 mars 2017]

- Extraction buffer : 200 mmol · L⁻¹ Tris-HCl pH = 7,50 ; 0,5 % (m/V) SDS ; 25 mmol · L⁻¹ EDTA ; 250 mmol · L⁻¹ NaCl ; 20 mg · mL⁻¹ **lysozyme**, 5 µg · mL⁻¹ lysostaphin).
- Sodium acetate : 3 mol · L⁻¹
- **Proteinase K** : 0,1 mg · mL⁻¹
- NaCl : 1,5 mol · L⁻¹
- **phenol/chloroform/isoamyl-alcohol** : 25 : 24 : 1 , v/v
- Isopropanol
- Ethanol
- TE buffer : Tris-EDTA

Resuspended 0,1 g of feces in 500 µL extraction buffer and 300 µL of sodium acetate. Mechanical lysis was performed by three times of bead-beating with 0,1 mm diameter zirconia/silica beads using a FastPrep disruptor at a speed setting of 6,0 m · s⁻¹ for 30 s. The lysate solution was treated with proteinase K and incubated for 30 min at 37 °C. After, 100 µL of NaCl was added to the lysate and mixed. After incubation for 5 min at room temperature, the mixture was centrifuged at 16,000 g to pellet the insoluble cell debris. The supernatant was transferred into a new tube and extracted twice with an equal volume of phenol/chloroform/isoamyl-alcohol. The DNA was precipitated by adding 0,6 volumes of isopropanol and incubated at -20 °C for 1 h. The DNA was washed with 70 % (V/V) ethanol, allowed to air dry, and finally resuspended in TE buffer. The DNA yield was measured using a UV spectrophotometer.

Document 4. Schéma illustrant le principe de la PCR.

Document produit par les auteurs

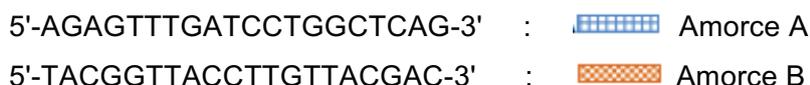


Les régions conservées peuvent servir de sites de liaison d'amorces universelles pour l'amplification du gène entier ou de fragments du gène. Les amorces choisies sont de courtes chaînes d'une vingtaine de nucléotides. Elles sont complémentaires d'une séquence conservée du gène de l'ARNr 16S et encadrent la séquence à amplifier (contenant des régions variables).

La séquence des deux extrémités d'une région du gène de l'ARNr 16S est détaillée ci-dessous :



Le couple d'amorces utilisé est le suivant :



Le choix des amorces est essentiel au succès de toute PCR. Il repose sur plusieurs critères dont les températures de fusion (T_m , melting temperature). Pour calculer la T_m d'une amorce inférieure à 30 nucléotides, on utilise la relation suivante :

$$T_m = 2 (nA + nT) + 4 (nG + nC)$$

(où nA, nT, nG et nC sont le nombre de chacune de ces bases dans l'oligonucléotide).

Les températures de l'étape 1 et de l'étape 3 sont fixes. La température de l'étape 2 est calculée pour chaque nouvelle PCR. Elle dépend de la composition en bases des amorces. Elle est déterminée par la relation suivante : $T_H = T_m - 5^\circ C$.

La Taq polymérase est une enzyme utilisée pour cette technique. Elle est extraite d'une bactérie, ***Thermus aquaticus*** dont les éléments physiologiques sont fournis ci-dessous :

Thermus aquaticus a d'abord été trouvé dans plusieurs sources thermales du parc national de Yellowstone. Ce microorganisme peut survivre à des températures de 55 à 100°C dans des eaux faiblement acides à alcalines (pH = 5 à 9). Il a également été découvert dans les sources thermales marines. Les conditions idéales pour que cet organisme se développe correspondent à une température d'environ 70 à 75°C à un pH de 7,8 à 9. Il existe également d'autres facteurs environnementaux à considérer, tels que : la concentration en dioxygène et en nitrate ainsi que les effets de la lumière et de la salinité. Comme ces organismes vivent à haute température, il n'y a qu'une faible quantité de dioxygène dissous dans l'eau. Pour cette raison, on suppose que ***T. aquaticus*** peut utiliser le nitrate comme accepteur final d'électrons au lieu du dioxygène. Bien que certaines souches de ***T. aquaticus*** sont halotolérantes d'autres sont halophiles mais toutes sont inhibées dès que la concentration en NaCl excède 1%.

Document 5. Comparaison de profil de deux selles d'un nouveau-né par électrophorèse en gradient dénaturant DGGE.

Document adapté d'après Moles L., Gómez M., Heilig H., Bustos G., Fuentes S., Willem de Vos, Fernández L., Juan M. Rodríguez J., Jiménez E. (2013) *Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life* [en ligne] disponible sur <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0066986> [consulté le 25 mars 2017]

Les dépôts correspondent à des échantillons issus de matières fécales :

1 : à la naissance.

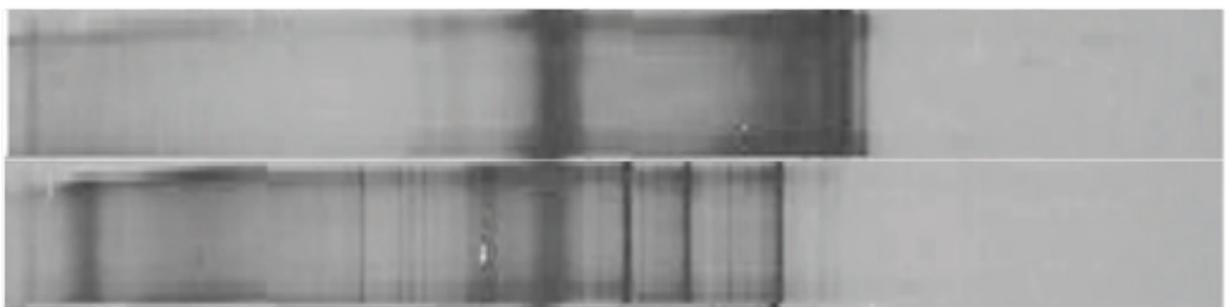
2 : 3 semaines après la naissance.

Ligne de dépôt



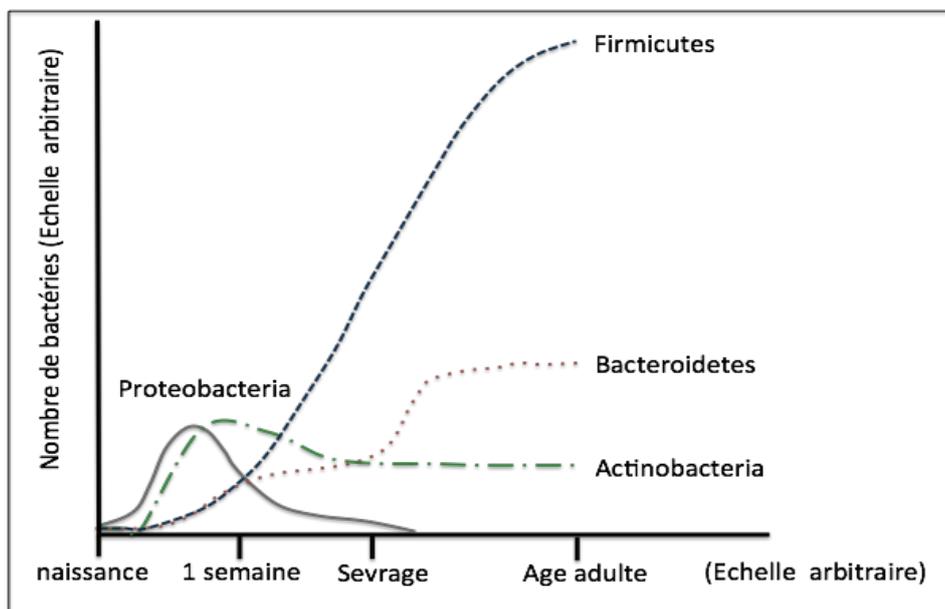
1

2



Document 6. Evolution de la composition du microbiote à partir de la naissance.

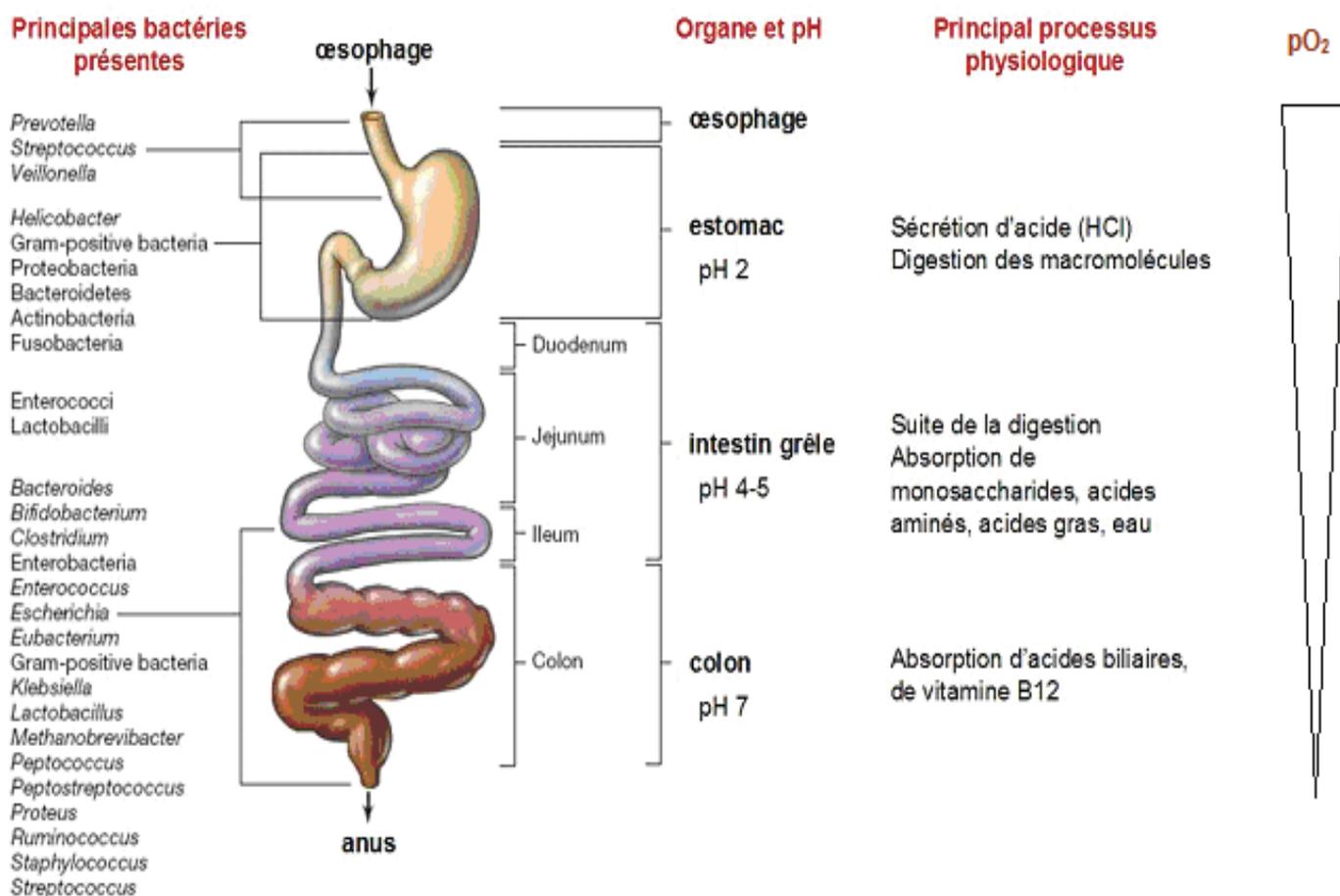
Document adapté d'après Reinhardt C., Reigstad C.S., Bäckhed F (2009) *Intestinal Microbiota During Infancy and Its Implications for Obesity* [en ligne] disponible sur <https://www.researchgate.net/publication/24186682> *Intestinal Microbiota During Infancy and Its Implications for Obesity* [consulté le 13 mai 2017]



Remarque : le sevrage est la cessation de l'alimentation lactée naturelle chez le nourrisson

Document 7. Niches écologiques définies au sein du tube digestif.

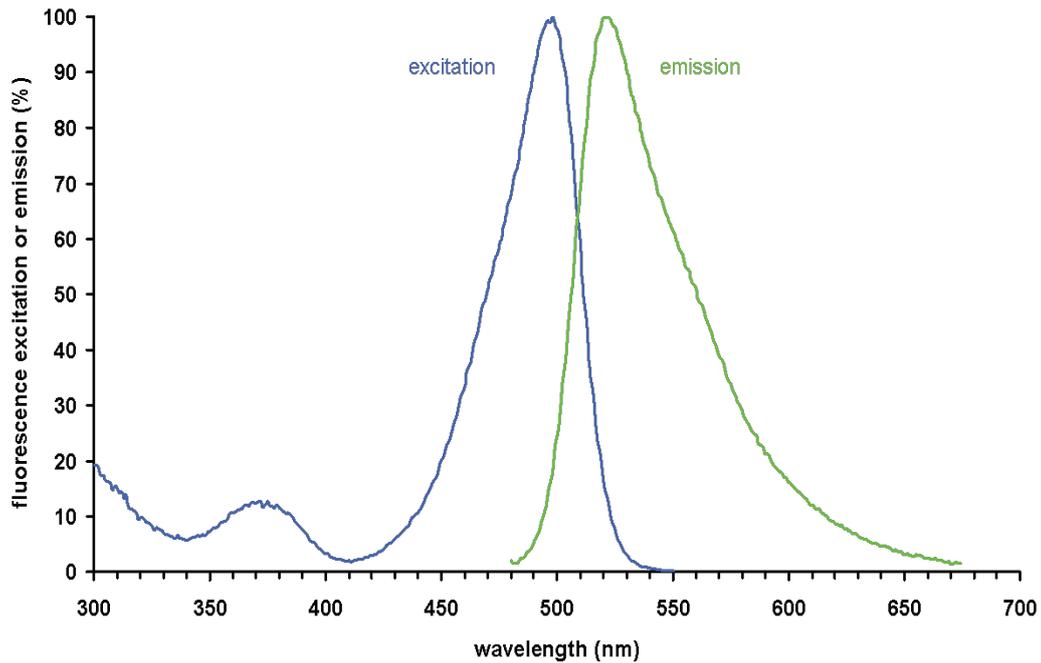
Document modifié d'après <http://edu.mnhn.fr/mod/page/view.php?id=1413> [consulté le 7 juin 2017]



Document 8. Spectre d'absorption du SYBR Green.

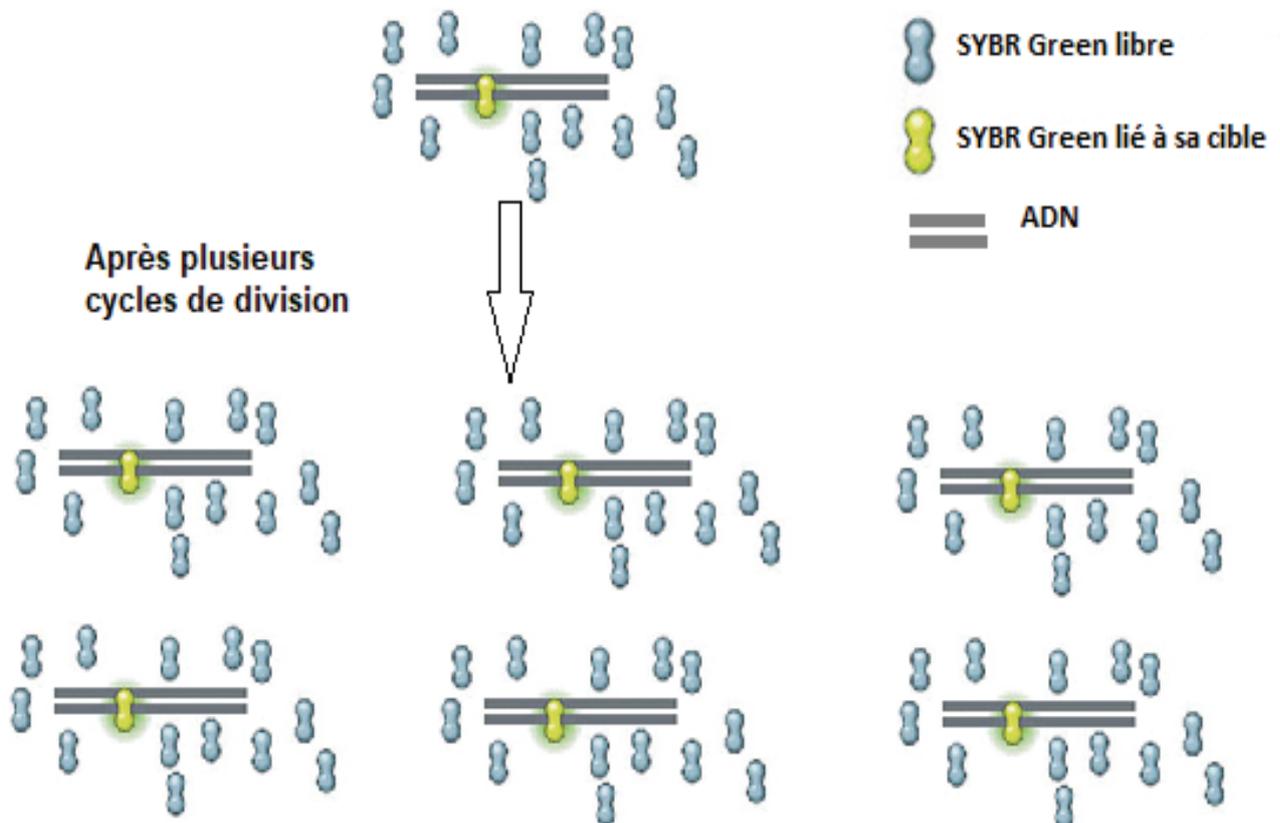
Pourcentage de fluorescence (%) = f (longueur d'onde en nm) Échelle relative

D'après Wikimedia commons (2006) *SYBR Green I spectra* disponible sur https://commons.wikimedia.org/wiki/File:SYBR_Green_I_spectra.png [consulté le 13 juin 2017]



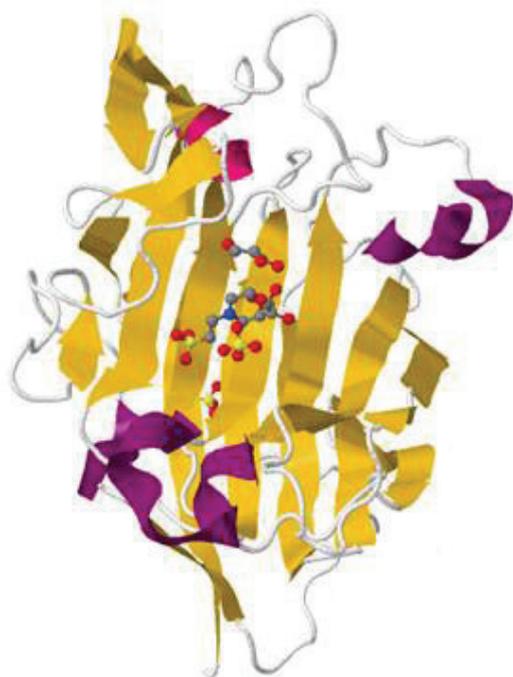
Document 9. SYBR Green et sa cible intracellulaire.

Document modifié d'après Biorad *Introduction to PCR Primer & Probe Chemistries* [en ligne] disponible sur <http://www.bio-rad.com/en-us/applications-technologies/introduction-pcr-primer-probe-chemistries> [consulté le 28 juin 2017]



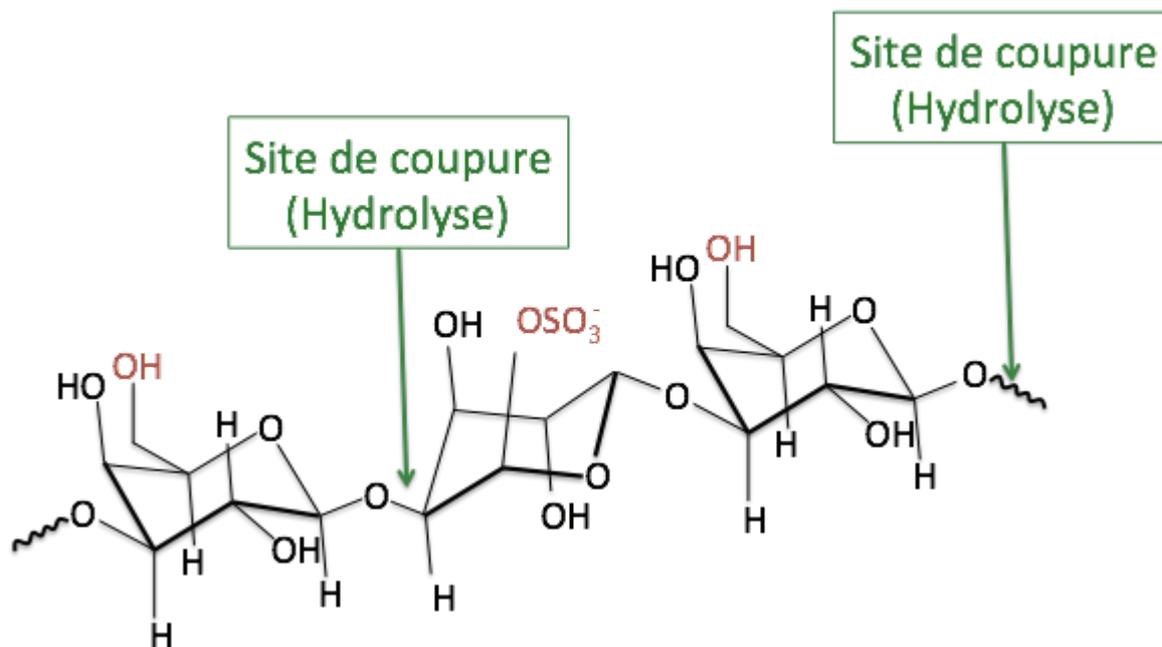
Document 10. Schéma illustrant la structure tridimensionnelle de la porphyrane B de *Zobellia galactonivorans* en association avec son substrat.

D'après Protein Data Bank *crystal structure of porphyrane B (PorB) from *Zobellia galactonivorans** [en ligne] disponible sur <https://www.rcsb.org/pdb/explore/jmol.do?structureId=3JUU&opt=3&jmolMode=JAVA> [consulté le 05 octobre 2017]



Document 11. Schéma illustrant la dégradation du substrat catalysée par la porphyrane B.

D'après : <http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/ra/c5ra14449c/unauth#!divAbstract> [consulté le 05 octobre 2017]



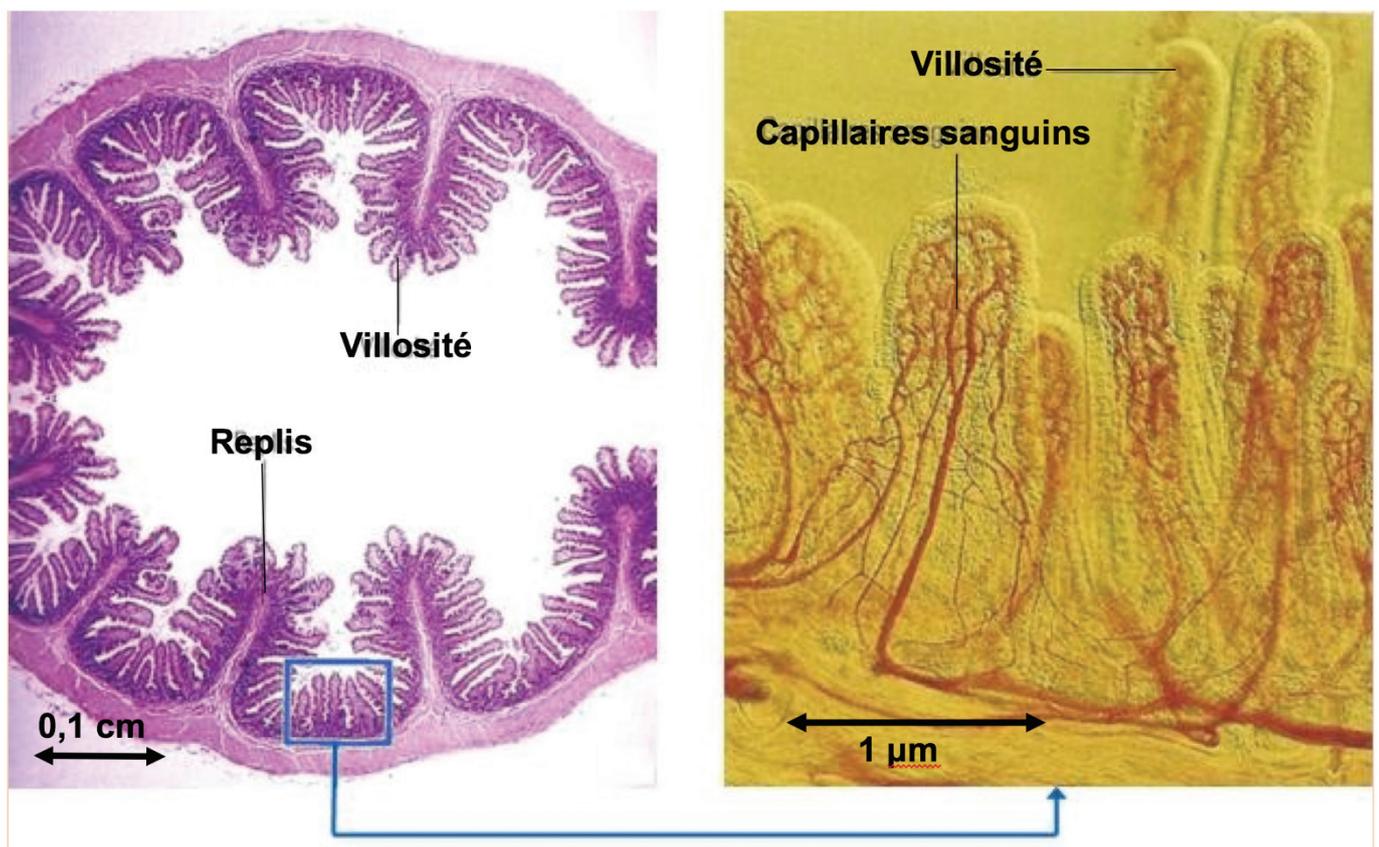
Document 12. Recherche et analyses de séquences similaires à la porphyranase de *Zobellia galactonivorans* dans la flore intestinale de 23 individus.

D'après *Des mécanismes de diversification du vivant : les transferts horizontaux de gènes* [en ligne] disponible sur http://svt-lnbt.fr/pages/doc_terminaleS/Exercice_ca_c_les_Sushi.pdf [consulté le 13 mars 2017]

Origine des individus	5 Japonais étudiés					18 Américains étudiés
Références des individus	n°1	n°2	n°3	n°4	n°5	n° 1 à 18
Nombre de séquences génomiques similaires à celle de la porphyranase	3	1	2	0	1	0
Pourcentage de similarité entre les séquences génomiques similaires et la porphyranase (en %)	83, 84 et 93	84	87 et 94	/	100	/

Document 13. Coupe transversale de l'intestin grêle vue au microscope photonique et détail des villosités vue au microscope électronique à balayage.

http://svt.janzac.free.fr/cinquieme/orga_energ/digestion/intestinstrucure.html [consulté le 6 octobre 2017]



Document 14. Bases moléculaires du dialogue entre le microbiote et les cellules souches intestinales.

Modifié à partir de : https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2016/11/medsci20163211p983/F2.html [consulté le 6 octobre 2017]

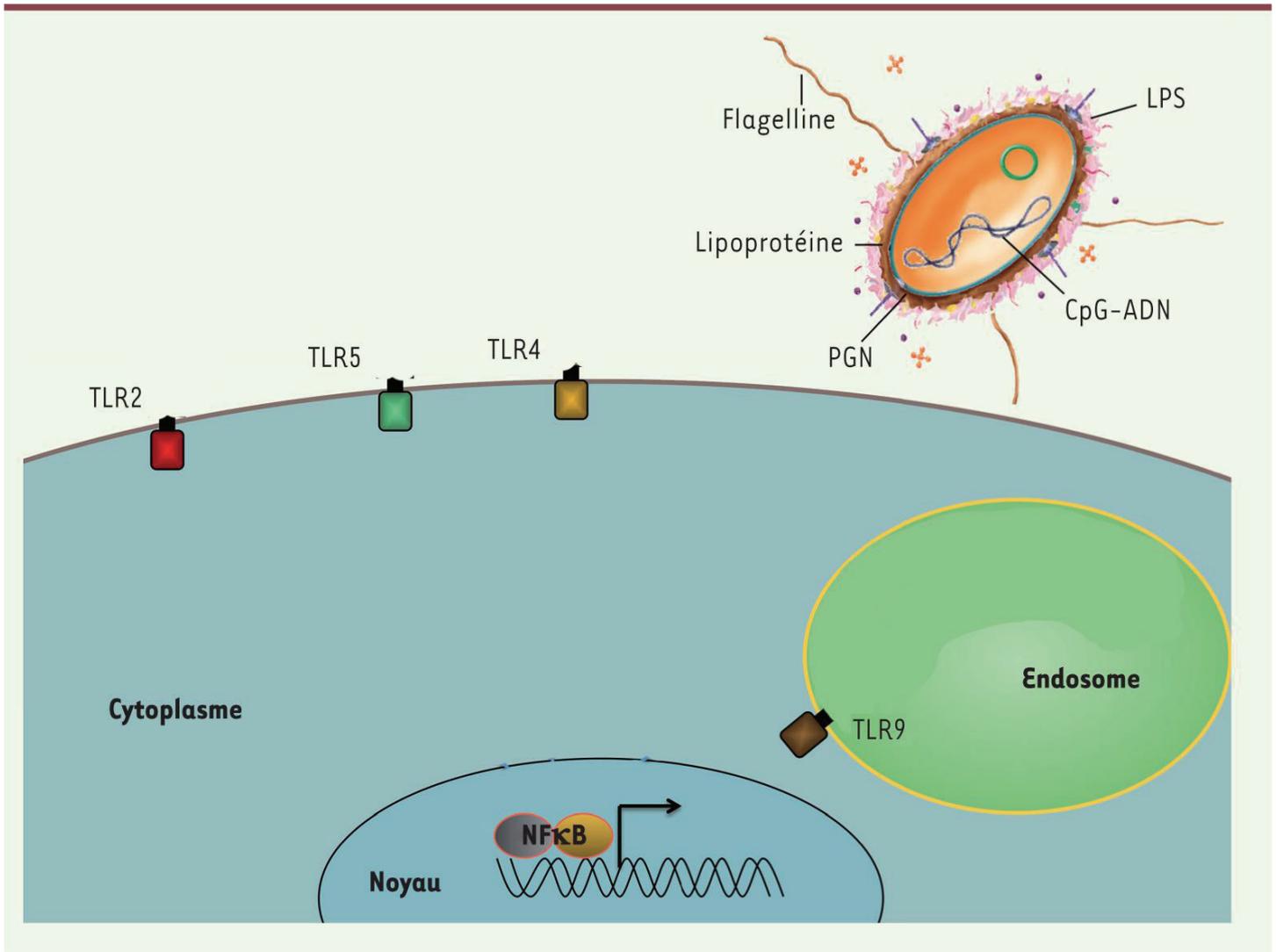


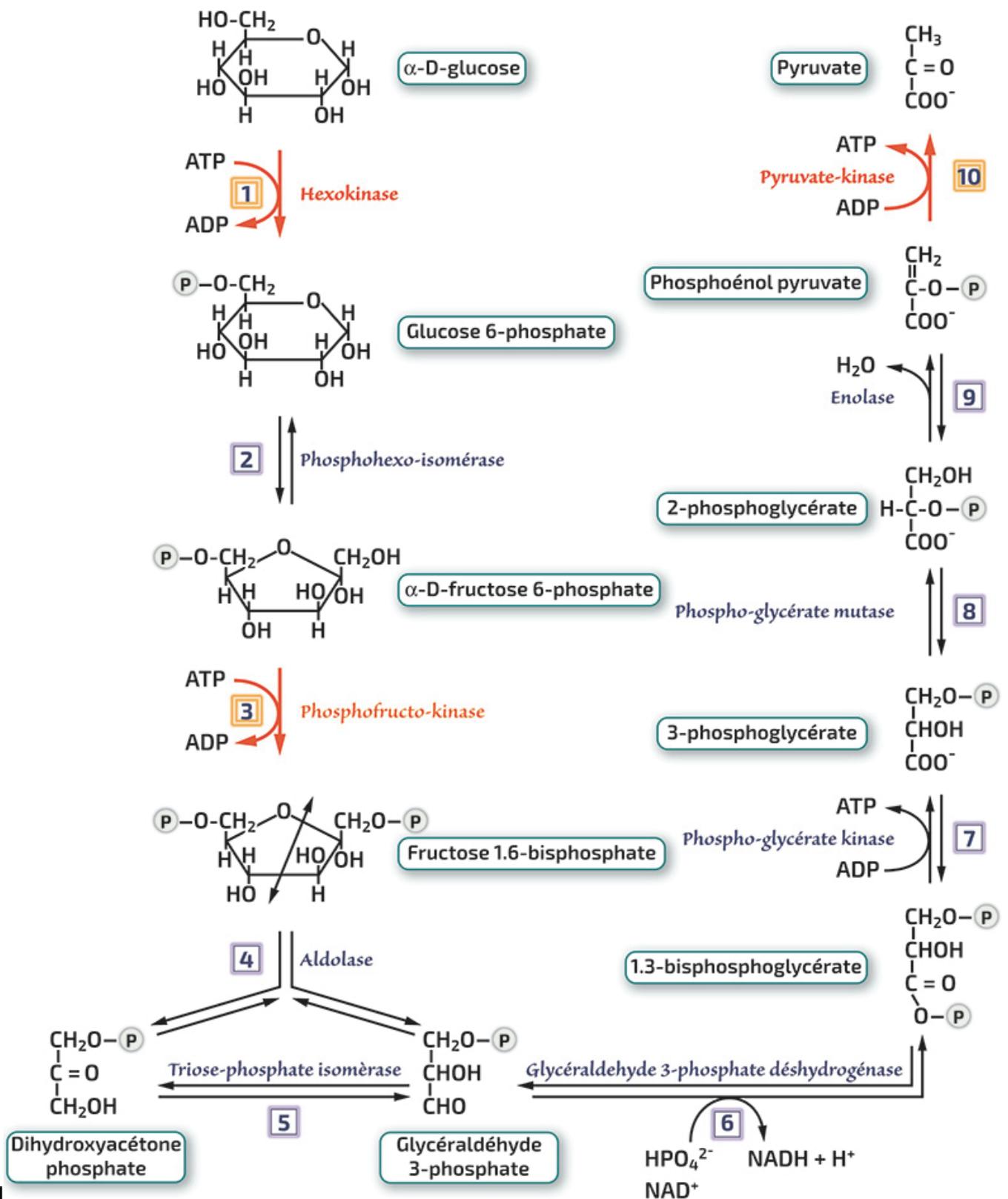
Schéma à l'échelle d'une cellule souche de l'épithélium intestinal

TLR : récepteurs de l'immunité innée exprimés sur les cellules souches de l'épithélium intestinal ; LPS : lipopolysaccharide ; PGN : peptidoglycane ; MDP : muramyl-dipeptide ; CpG - ADN : CG dinucléotide.

La prolifération cellulaire de l'épithélium intestinal est initiée à partir d'un "dialogue moléculaire" qui s'instaure entre des récepteurs de l'immunité innée présents dans les cellules souches de l'épithélium intestinal (TLR2, 4, 5 et 9) et des marqueurs microbiens très bien conservés d'une espèce à l'autre (Les LPS, les flagellines et les lipoprotéines par exemple). La liaison entre les récepteurs des cellules impliquées et les marqueurs microbiens entraîne une cascade de réactions cellulaires aboutissant à l'activation de facteurs de transcription (NFκB sur le schéma). Le récepteur TLR2 est spécifique des lipoprotéines, le récepteur TLR5 des flagellines, le récepteur TLR4 des LPS, et enfin le récepteur TLR9 des dinucléotides d'ADN

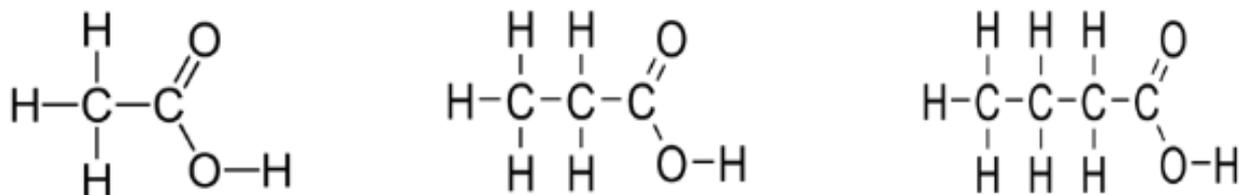
Document 15. Schéma présentant les étapes de la glycolyse.

D'après *Dégradation du glucose ou glycolyse (voie d'Ebden-Meyerhof)* [en ligne] disponible sur <https://rnbio.upmc.fr/sites/default/files/doc/3etapes.jpg> consulté le 18 octobre 2017



Document 16. Formules développées d'acides gras à courtes chaînes issus de la fermentation.

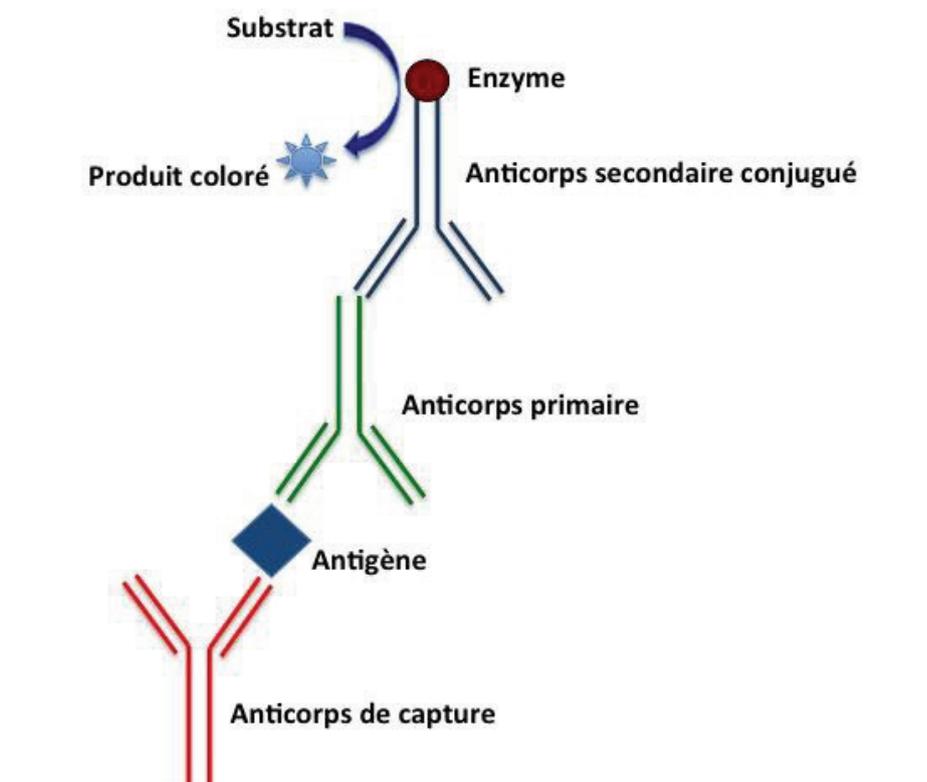
D'après Intech, Adom D, Nie D. (2013) *Regulation of Autophagy by Short Chain Fatty Acids in Colon Cancer Cells* [en ligne] disponible sur <https://www.intechopen.com/books/autophagy-a-double-edged-sword-cell-survival-or-death-/regulation-of-autophagy-by-short-chain-fatty-acids-in-colon-cancer-cells> [consulté le 16 avril 2017]



Documents 17. Dosage de l'IL-10 par la technique ELISA

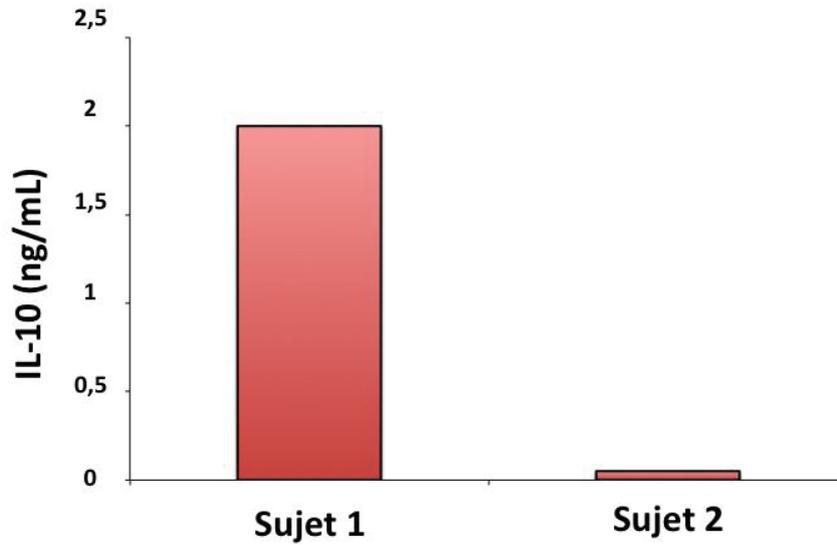
Document 17 a. Schéma de l'édifice moléculaire mis en jeu dans la technique ELISA sandwich.

Document produit par les auteurs



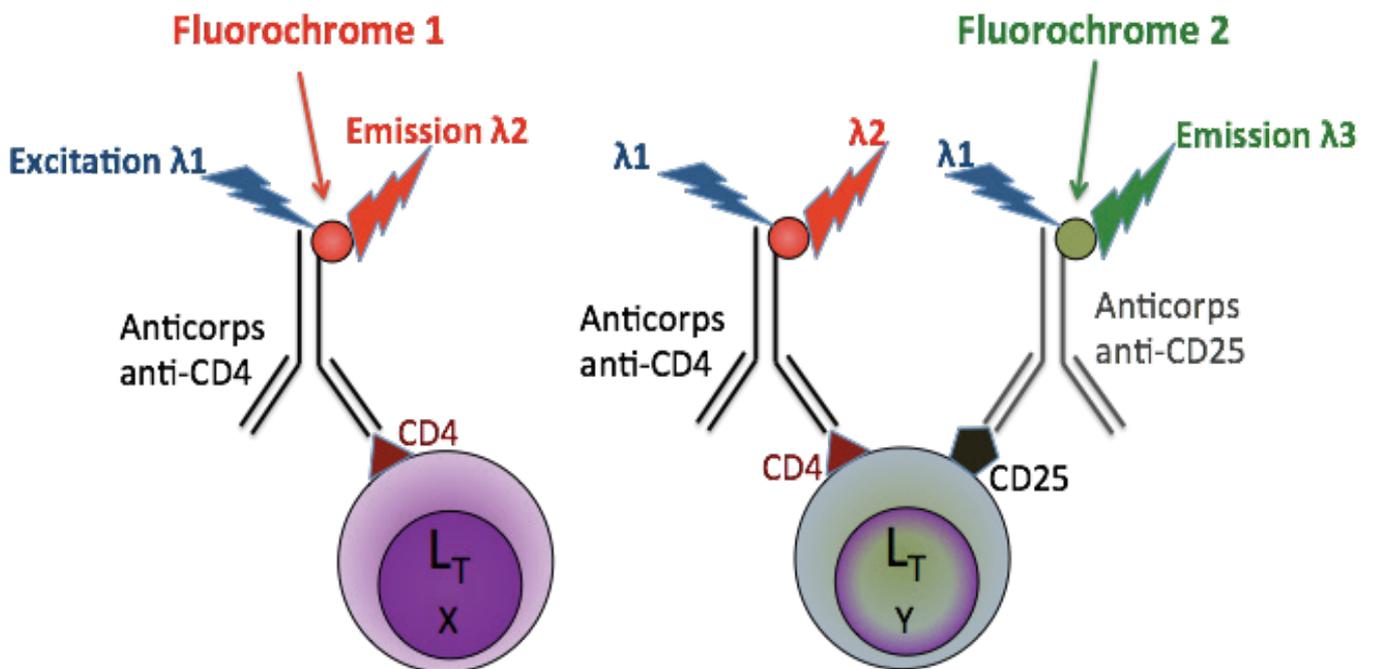
Document 17 b. Résultats du dosage de l'IL10 chez deux sujets par la technique ELISA sandwich.

Document produit par les auteurs à partir de sources obtenues en laboratoire



Document 18. Schéma du complexe moléculaire permettant l'analyse de populations lymphocytaires grâce à des anticorps couplés à un fluorochrome.

Document produit par les auteurs

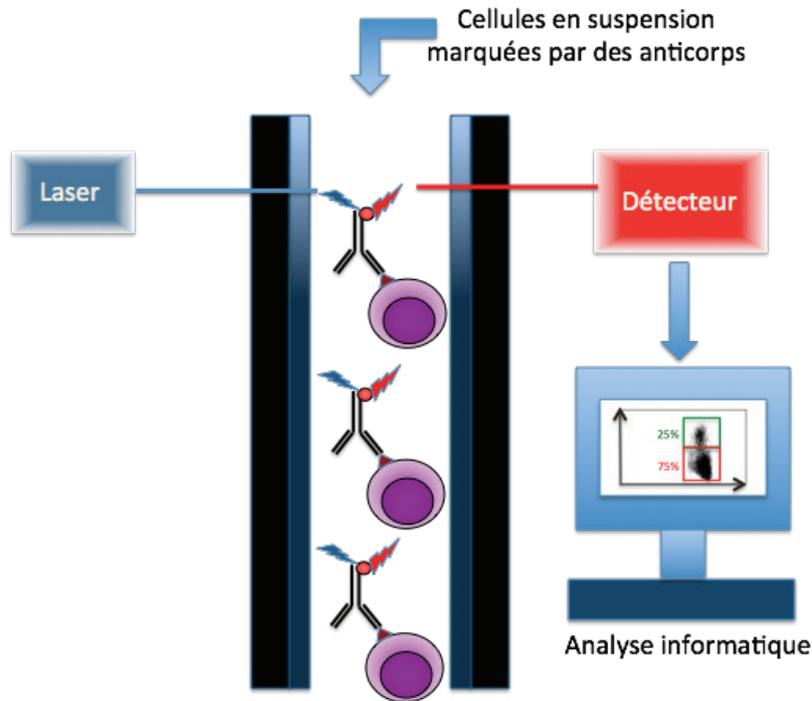


Remarque : Les lymphocytes sont arbitrairement référencés X et Y.

Document 19. Principe simplifié de l'analyse par cytométrie en flux.

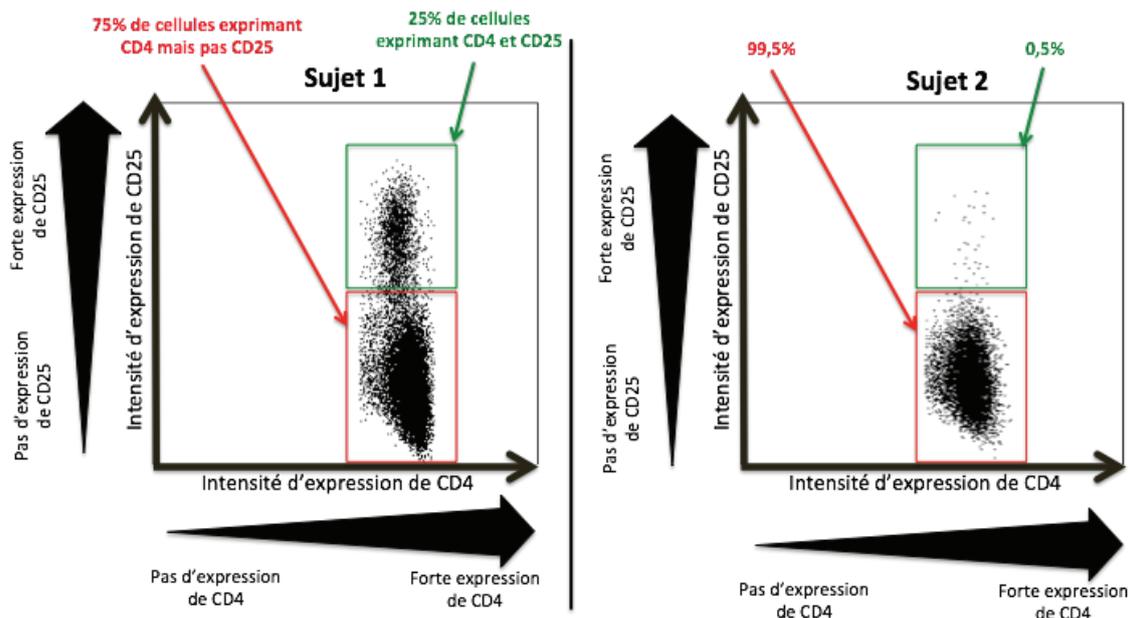
Document produit par les auteurs adapté de <http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/immunité-et-vaccination/cellules-immunes-et-organes-lymphoïdes/la-cytométrie-en-flux>

Lorsqu'un lymphocyte T marqué passe dans un flux devant un rayon laser, la fluorescence est activée et détectée par des capteurs spécifiques. L'ordinateur affiche ensuite les résultats sous forme de graphiques à deux dimensions sur lesquels chaque cellule est représentée par un point. Plus le marqueur est exprimé, plus l'intensité du signal est élevée.



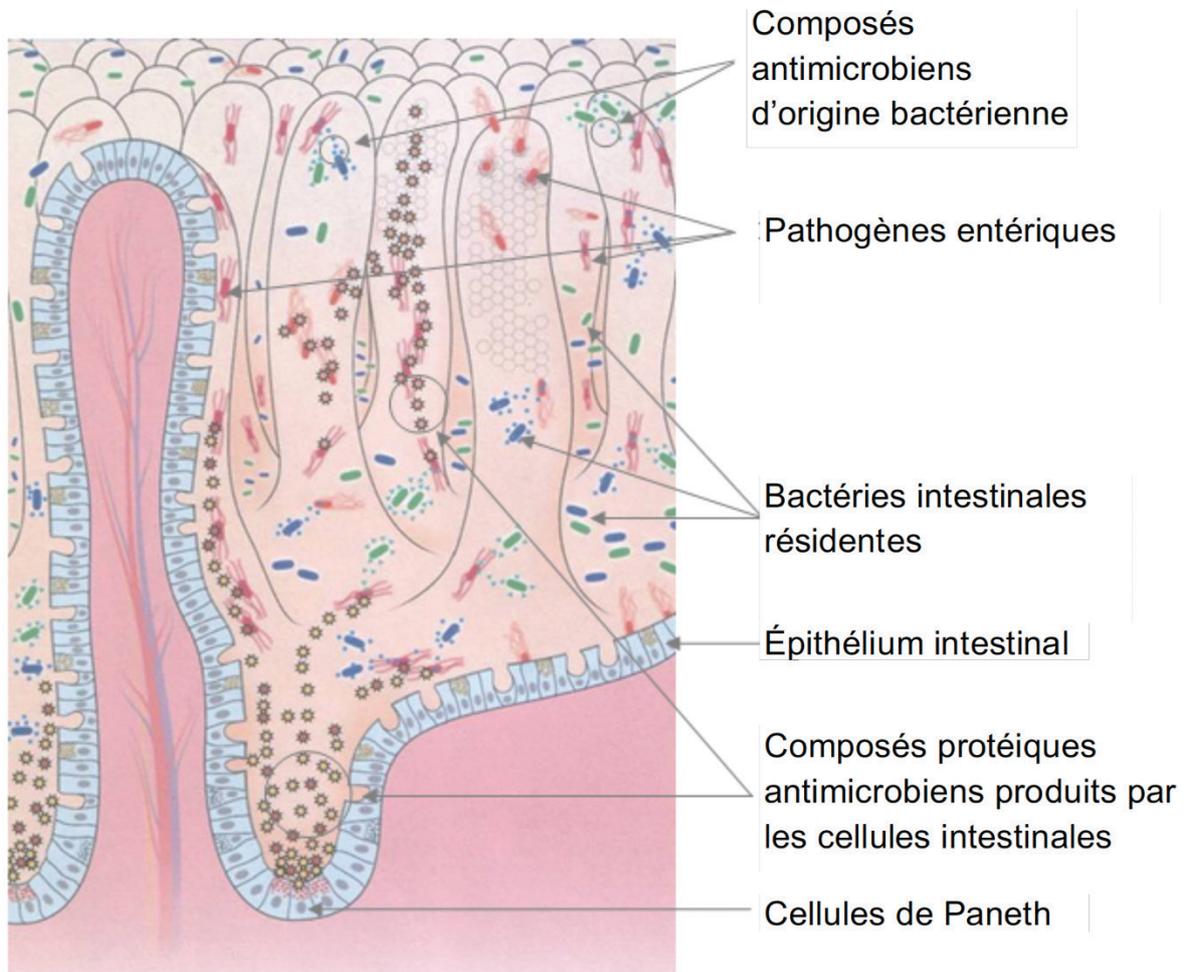
Document 20. Proportion de deux marqueurs (CD4 et CD25) exprimés par une population de lymphocytes T issus du côlon des sujets 1 et 2.

Document produit par les auteurs d'après <http://archive.bu.univ-nantes.fr>

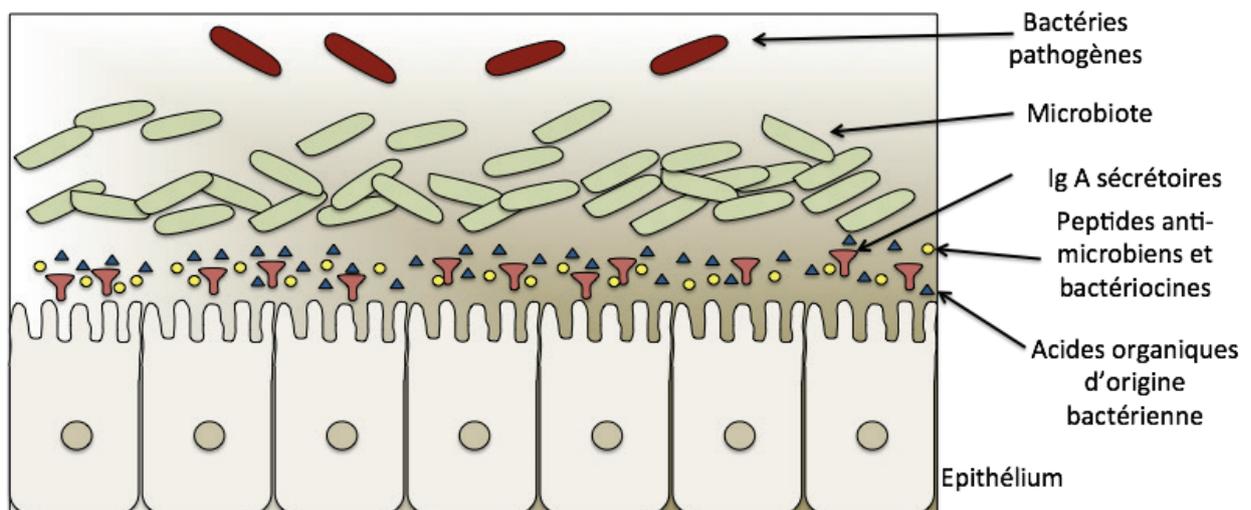


Documents 21. Défenses antimicrobiennes de l'hôte face à l'intrusion de micro-organismes pathogènes au niveau du tractus intestinal.

Document 21.a. tiré de Liévin-Le Moal et Servin (2006) disponible sur <http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/24866/ch02.html> [consulté le 23 avril 2017]



Document 21.b. Source d'après Coudeyras, S., and Forestier, C. "Microbiote et probiotiques : impact en sante humaine." Canadian Journal of Microbiology, vol. 56, no. 8, 2010, p. 611+.



Document 22. Procédure à suivre pour la réalisation du test respiratoire destiné à diagnostiquer la présence de *Helicobacter pylori*.

A partir de <https://www.biomnis.com/services/tests-dynamiques/test-respiratoire-a-luree-helicobacter-pylori/> [consulté le 23 avril 2017]

Procédure à appliquer en présence d'une personne qualifiée.

Étape 1 :

Le test débute par le recueil, dans 2 tubes à bouchon munis d'une paille, de 2 échantillons d'air expiré avant l'application de la procédure décrite ci-dessous. Ces 2 échantillons sont référencés « T₀ ».



Étape 2 :

Le test se poursuit immédiatement par l'ingestion de 200 mL d'une solution aqueuse à 0,5% d'acide citrique (à défaut 200 mL de jus d'orange) suivie de l'ingestion d'une solution aqueuse de 30 mL contenant 75 mg ¹⁴C-urée.

Noter l'heure de l'ingestion.

Remarque : l'acide citrique et le jus d'orange permettent de retarder la vidange gastrique.



Étape 3 :

Trente minutes après avoir absorbé la solution de ¹⁴C-urée, on effectue le recueil des échantillons d'air expiré T₃₀ dans 2 tubes à bouchon munis d'une paille.

Ces 2 échantillons sont référencés T₃₀.



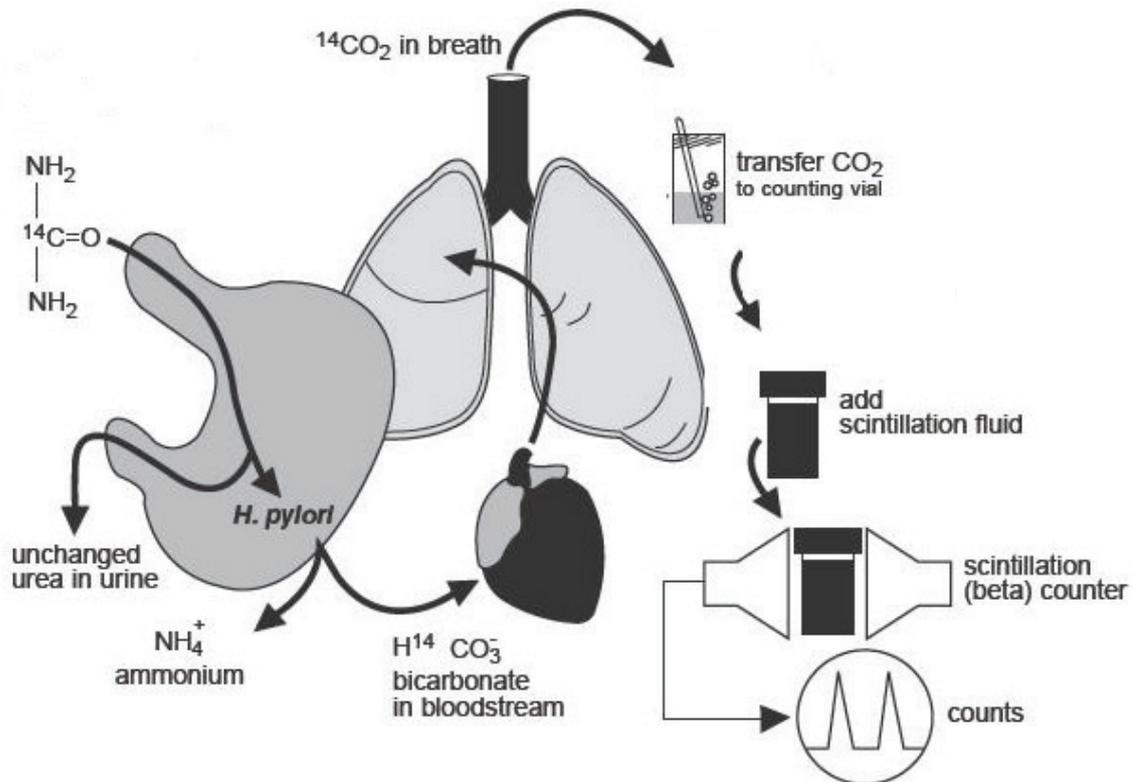
Étape 4 :

Les tubes de prélèvements et la feuille d'information sont ensuite envoyés dans leur emballage d'origine au laboratoire qualifié pour le dosage du ¹⁴CO₂.

Le dosage pourra être réalisé au choix du laboratoire, par spectrométrie de masse, spectrométrie infrarouge, mesure du rayonnement β par compteur à scintillation...

Document 23. Support anatomique et technique du test respiratoire (¹⁴C-Urea Breath Test).

D'après Registered Trademark or Trademark of Kimberly-Clark Worldwide, Inc [Consulté le 23 avril 2017]



Remarque : Le liquide à scintillation (scintillation fluid) est un solvant contenant une substance fluorescente excitable par un rayonnement afin d'augmenter la longueur d'onde de la lumière à un niveau détectable par le photomultiplicateur (scintillation counter). La mesure est fournie sous la forme d'un signal (count). Il faut également noter que, même en absence d'*H. pylori*, le microbiote possède une activité "uréase" faible et mesurable.

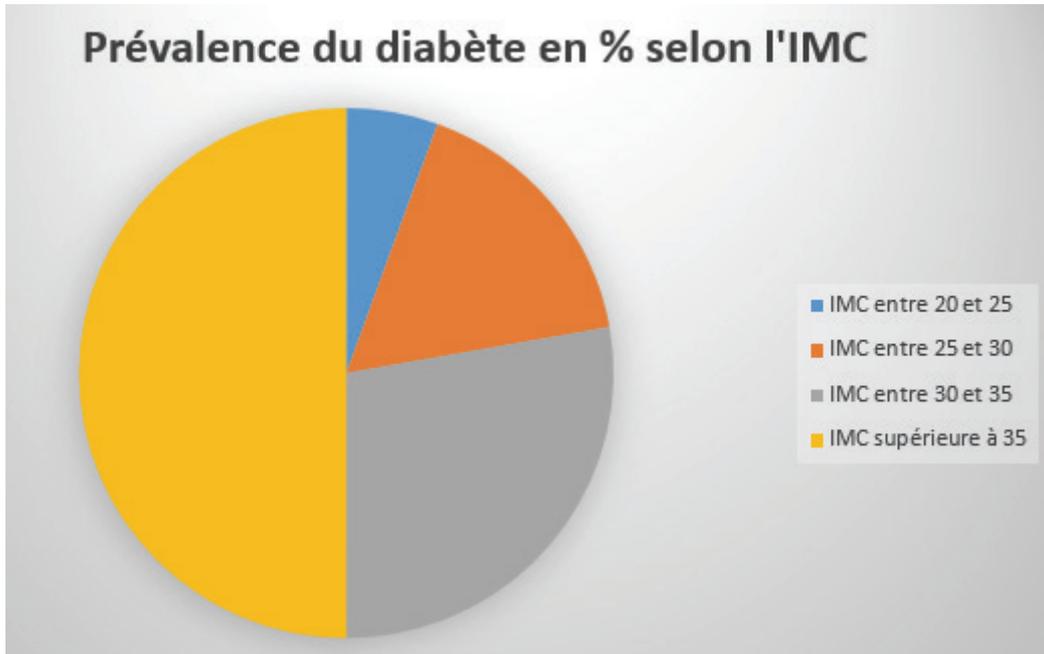
Document 24. L'indice de masse corporelle et son interprétation selon l'Organisation Mondiale de la Santé OMS.

D'après Calculer son IMC *Classification IMC et tranches de l'OMS* [en ligne] disponible sur <https://www.calculersonimc.fr/classifications-tranches-imc.html> [consulté le 25 mars 2017]

IMC (kg/m ²)	$IMC = \frac{\text{poids (en kg)}}{\text{taille}^2 \text{ (en m)}}$	Interprétation
+ 40		Obésité massive
29,9 à 40		Obésité
24,9 à 29,9		Surpoids
18,5 à 24,9		Corpulence normale
15 à 18,5		Maigreur

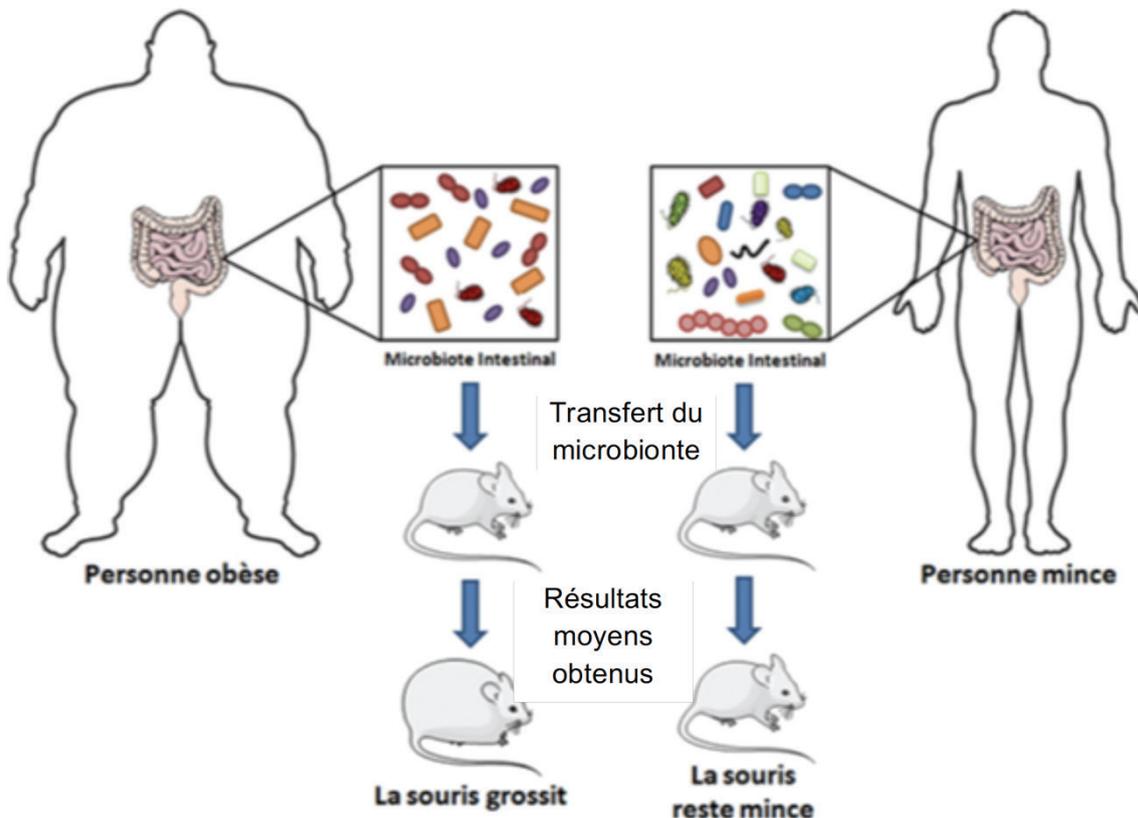
Document 25. Prévalence du diabète de type 2 et indice de masse corporelle (IMC) dans la population adulte.

Adapté du sujet Baccalauréat série S, Sujet de SVT (Session 2013), Pondichéry [en ligne] disponible sur <http://svt.ac-besancon.fr/bac-s-2013-pondichery/> [consulté le 25 mars 2017]



Document 26. Mise en évidence du rôle du microbiote dans l'obésité.

D'après <http://www.museum.toulouse.fr/-/le-microbiote-intestinal-un-organe-a-part-entiere> [consulté le 02 Octobre 2017]



Les souris tests utilisées sont des souris axéniques c'est à dire sans flore intestinale avant le début de l'expérimentation.

Document 27. Influence de l'alimentation sur le microbiote, l'obésité et le diabète.

D'après Delzenne N., Cani P., (2008) Médecine et sciences *Implication de la flore intestinale dans le métabolisme énergétique* 24 : 505-510
[en ligne] disponible sur <http://www.farm.ucl.ac.be/Full-texts-FARM/Delzenne-2008-2.pdf> [consulté le 22 avril 2017]

Alimentation riche en glucides :

Glucides non digestibles

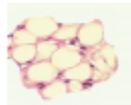
↗ acides gras à courtes chaînes.



Foie

↗ Lipogenèse

↘ Sensibilité à l'insuline



Adipocyte

↗ Lipogenèse



Muscle

↗ Lipogenèse

↘ Sensibilité à l'insuline

Alimentation riche en glucides et en lipides :

Modification de la flore intestinale

↘ *Bifidobacterium* spp

↗ Flore Gram -

↗ lipopolysaccharide LPS circulant



Foie

↗↗ Lipogenèse

↘ Sensibilité à l'insuline



Adipocyte

↗↗ Lipogenèse



Muscle

↗↗ Lipogenèse

↘ Sensibilité à l'insuline

Document 28. Article adapté issu du mensuel Sciences et Avenir n°835 (septembre 2016) intitulé "Le microbiote allié de notre cerveau".

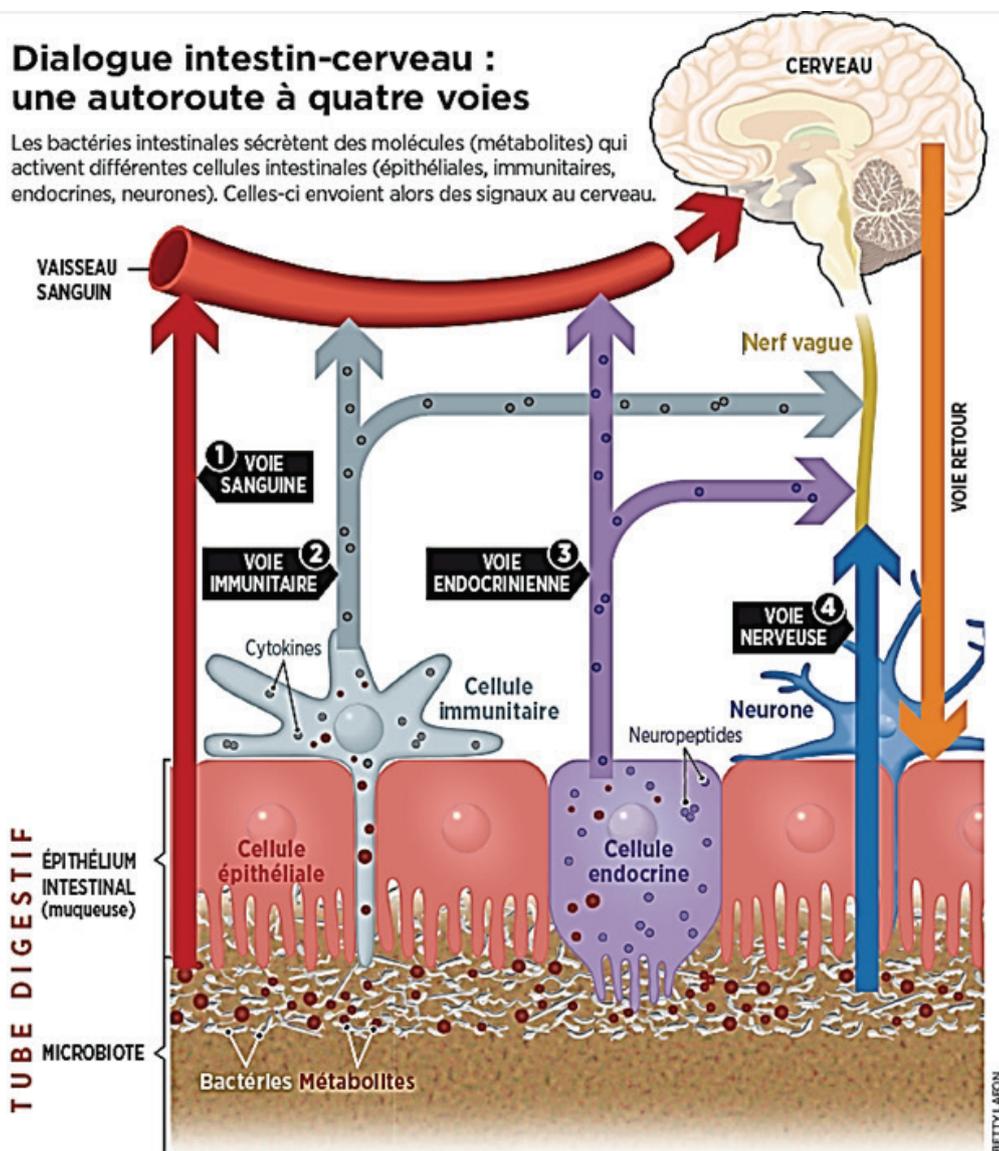
https://www.sciencesetavenir.fr/sante/cerveau-et-psy/le-microbiote-allie-de-notre-cerveau_105135 [consulté en avril 2017]



Elena Sender

Spécialiste des Neurosciences
au magazine Sciences et Avenir

L'intestin est un auxiliaire précieux du cerveau. Si bien que l'idée de mettre au point des « psychobiotiques » pour atténuer le stress ou la dépression fait son chemin. Avec l'espoir de traiter de nombreuses autres pathologies (...).



MICROBIOTE. Rien de plus simple qu'un système digestif. Du moins en apparence. (...). *Cette vision simpliste qui a influencé des générations de médecins et de chirurgiens est dépassée : l'intestin est bien plus délicat et puissant. C'est un petit cerveau* ", martèle Emeran Mayer, gastro-entérologue, directeur exécutif du

Center for Neurobiology of Stress de l'université de Californie à Los Angeles (États-Unis) (...). De fait, il possède un système nerveux qui lui est propre et sa paroi cellulaire est colonisée par 40.000 milliards de bactéries de mille espèces différentes qui forment son précieux microbiote, autrefois appelé " flore intestinale ", aux multiples fonctions. " *Ce "petit" cerveau communique en permanence avec le "grand" qui est dans notre tête grâce à une autoroute à plusieurs voies* ", poursuit (...) Emeran Mayer. Tant et si bien qu'émerge une nouvelle et très prometteuse piste thérapeutique : soigner le microbiote pour soulager le cerveau.

Une piste "microbiote-cerveau" à explorer

Dans le laboratoire Micalis à l'Institut national de la recherche agronomique (Inra) de Jouy-en-Josas (Essonne), (...), les chercheurs étudient ce phénomène en élevant des souris très particulières. D'apparence normale, elles sont en fait dépourvues de microbiote (« axéniques »). Sylvie Rabot, microbiologiste, et Laurent Naudon, neuroscientifique, affinent leur nouvelle expérience : deux groupes de rongeurs, l'un composé d'axéniques, l'autre non, vont subir séparément des stress pendant cinq semaines, alors que deux autres groupes resteront tranquilles. « *En examinant leur cerveau, nous découvrirons si le microbiote influence ou non la production de nouveaux neurones, d'ordinaire perturbée par le stress* », explique Laurent Naudon.

Une équipe japonaise (travaux pionniers (2004) de Nobuyuki Sudo, de l'université de Kyushu au Japon) a démontré que des souris axéniques sont plus stressées que la normale et « suractivent » l'axe du stress, dit hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Inédit ! La piste "microbiote-cerveau" est lancée. Dès lors, les chercheurs découvrent que l'absence de microbiote modifie aussi l'expression de gènes cérébraux impliqués dans la croissance des neurones et la formation des synapses, et qu'elle est liée à une moindre étanchéité de la barrière hémato-encéphalique¹ qui protège le cerveau de toute intrusion. Mieux ! Les souris axéniques présentent également un défaut de mémorisation et de comportement social. Plus déroutant, les perturbations cessent lorsque les scientifiques implantent un microbiote chez ces rongeurs qui en étaient dépourvus. Seule la suractivation de l'axe du stress demeure inchangée, sauf si l'implantation de bactéries intestinales se fait précocement, dès l'adolescence.

De quoi imaginer d'éventuelles applications chez l'humain. "Une colonisation bactérienne perturbée (par une naissance prématurée ou la prise d'antibiotiques) pourrait donc être à l'origine de troubles chez l'enfant, suggère Sylvie Rabot. Si c'est le cas, on pourrait rétablir une maturation normale en agissant assez tôt sur le microbiote." Jusqu'où cette action pourrait-elle aller ? En 2011, une étude menée par Premysl Bercik, de l'université McMaster (Canada), en donne une idée : chez une souris axénique de souche BALB/c², sélectionnée pour son comportement anxieux, les chercheurs ont procédé à une transplantation fécale² du microbiote d'une souris NIH Swiss, non anxieuse. Résultat : une baisse de l'anxiété chez la première ainsi qu'une augmentation d'un facteur de croissance nerveux dans l'hippocampe (zone de la mémorisation dans le cerveau). John Cryan, professeur du département d'Anatomie et neurosciences de l'université de Cork (Irlande), parvient, lui, à réduire le comportement anxieux d'une souris BALB/c³ en lui faisant consommer pendant 28 jours une souche d'une bactérie lactique (*Lactobacillus rhamnosus*), un probiotique (bactérie vivante).

« D'autres études, également avec des probiotiques, ont cependant apporté des résultats contradictoires avec des lignées différentes de souris et d'autres souches de bactéries lactiques, relativise Sylvie Rabot. Il n'y a

¹ Barrière hémato-encéphalique : barrière physiologique présente dans le cerveau entre la circulation sanguine et le système nerveux central (SNC). Elle sert à réguler le milieu (homéostasie) dans le cerveau, en le séparant du sang.

² La transplantation de microbiote fécal (TMF) consiste en l'introduction de selles d'un donneur sain dans le tube digestif d'un patient receveur afin de rééquilibrer le microbiote intestinal altéré de l'hôte.

³ Souris BALB/c : lignée obtenue par croisement consanguin (croisement de frères et sœurs sur 20 générations), albinos, immunodéficiente.

pas encore de consensus. » Quoi qu'il en soit, comment une bactérie peut-elle modifier le cerveau jusqu'à agir sur le comportement ? *Pour tester cette hypothèse, nos animaux ont subi une vagotomie (ablation du nerf vague), puis ont été traités par Lactobacillus rhamnosus. »*

Constatation : l'effet des probiotiques sur le comportement cesse. *« Lactobacillus rhamnosus pourrait servir comme antidépresseur et anxiolytique grâce à ses effets sur le nerf vague, conclut le chercheur. Des études sont en cours pour examiner l'effet de ce microbe sur la réponse au stress chez l'humain. »*

Des bactéries contre la dépression

Reste, en effet, à démontrer le lien entre microbiote et troubles mentaux chez l'humain. Déjà, quelques études identifient une différence d'espèces bactériennes entre patients dépressifs et ceux qui ne le sont pas. Entre autres, Ali Naseribafroui, de l'université Arctique (Norvège), trouve, à partir d'échantillons fécaux, davantage de bactéries du groupe des *Bacteroidetes* et moins de celui des *Lachnospiraceae* chez les patients dépressifs. Cause ou conséquence ? Difficile à dire.

Cependant, l'idée que l'on pourrait atténuer l'anxiété, le stress, voire la dépression en modifiant le microbiote fait déjà son chemin. Par exemple, au laboratoire ETAP-Éthologie appliquée (Vandoeuvre-lès-Nancy, Meurthe et-Moselle), deux souches de bactéries, *Lactobacillus helveticus* et *Bifidobacterium longum*, ont été administrées à deux groupes de volontaires sains pendant trente jours, les résultats étant comparés à ceux de volontaires prenant un placebo⁴. Au terme de l'expérience, une réduction significative du stress et de l'anxiété a été constatée dans le groupe « probiotique ».

En 2013, Emeran Mayer a, quant à lui, observé, pour la première fois en IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) fonctionnelle que la consommation de lait fermenté (enrichi en probiotiques) pendant trente jours, toujours versus placebo⁴, chez des volontaires sains *« modifie l'activité des régions cérébrales qui contrôlent la gestion centrale des émotions et sensations »*. *« C'est une démonstration de faisabilité, remarque le gastro-entérologue. Il s'agit maintenant d'étudier des patients en clinique. »* L'objectif : disposer un jour de « psychobiotiques », que John Cryan définit comme *« des bactéries vivantes ayant un effet positif sur la santé mentale »*. Le marché des probiotiques (y compris les laits fermentés), estimé à 50 milliards de dollars dès 2018 (chiffre de l'agence de conseil en stratégie nutrition Nutrikéo), a de quoi motiver les recherches. Et pas uniquement pour la dépression...

Manipuler le microbiote pour améliorer les troubles de l'autisme

L'autisme pourrait en effet bénéficier lui aussi d'une meilleure connaissance du microbiote. Lors du premier symposium international Microbiote pour la santé et la maladie consacré à ce trouble en 2014 (université de l'Arkansas, États-Unis), les chercheurs ont établi que les enfants autistes souffrent d'un taux élevé de problèmes digestifs (constipation, diarrhée, etc.) et que les symptômes digestifs sont corrélés à la sévérité de la pathologie. Bien qu'il puisse s'agir de conséquences du trouble, et non de causes, les scientifiques s'accordent sur un fait : *« Si le microbiote intestinal joue vraiment un rôle causal dans les symptômes autistiques, alors sa manipulation peut potentiellement être exploitée comme une approche thérapeutique pour améliorer les symptômes ou les troubles associés, dont les symptômes gastro-intestinaux. »* Déjà en 2000, un antibiotique (vancomycine), prescrit contre la bactérie pathogène *Clostridium difficile*, avait atténué les symptômes d'un petit groupe d'enfants autistes, le temps du traitement. Et un traitement oral avec une souche de *Bacteroides fragilis* humaine administré à des souris au comportement autistique avait fait reculer leurs anomalies digestives. (...)

⁴ Placebo : substance active ou non sur le plan pharmacologique, mais dépourvue d'effet sur la maladie présentée par le patient.

Dans l'autisme, il a aussi été montré que des souris pouvaient développer un comportement d'anxiété et une automutilation si la composition de leur microbiote était significativement modifiée durant une période précise de leur croissance. Les chercheurs posent l'hypothèse qu'un phénomène similaire surviendrait chez les enfants et favoriserait le développement de l'autisme.

DÉCOUVERTE. Le système nerveux pourrait, lui aussi, être directement influencé par notre microbiote. L'effet positif d'un probiotique sur le fonctionnement neurologique a en effet été récemment montré par l'équipe d'Elaine Hsiao à l'Institut de technologie de Californie.

Un régime d'une semaine a corrigé plusieurs troubles.

Les chercheurs ont amélioré plusieurs symptômes de l'autisme chez la souris en lui administrant une bactérie humaine, *Bacteroides fragilis*, connue pour favoriser la cohésion de la paroi du côlon. Un régime d'une semaine de ce probiotique après le sevrage des souris a corrigé plusieurs troubles psychomoteurs, l'anxiété et l'absence de communication. Les chercheurs ont ainsi déterminé que ces troubles pouvaient être dus à une substance bactérienne diffusant dans le sang. Une molécule analogue a d'ailleurs été retrouvée chez les personnes autistes, dont le système digestif est souvent perturbé et appauvri en bactéries productrices d'acides gras à courte chaîne. Par ailleurs, la consommation pendant deux mois d'un autre probiotique, *Lactobacillus casei*, a sensiblement réduit l'anxiété chez des patients atteints du syndrome de fatigue chronique dans une étude réalisée en 2009 par des chercheurs de Toronto, au Canada.

(...)

Les recherches sur les nombreuses implications du microbiote sur la santé ne font que commencer. "Nous n'en sommes qu'aux balbutiements, confirme Sylvie Rabot. Mais une chose est déjà sûre : prendre soin de son microbiote ne peut être que bénéfique pour la santé en général et le cerveau en particulier."