

ÉTUDE DE CAS · MICROBIOTE · AXE INTESTIN-CERVEAU

Suivre la chaîne intestin-cerveau : ce qu'un probiotique change, et comment l'hôte répond

Comment Microbiome Xplorer associe échantillonnage standardisé, métagénomique résolue à la souche, métatranscriptomique, métabolomique et marqueurs de l'hôte pour montrer quelles communautés changent, quelles fonctions elles portent et comment l'hôte répond, une étude illustrative.

Étude de cas illustrative. Ce scénario montre comment Microbiome Xplorer s'applique à une question sur l'axe intestin-cerveau. Il ne décrit ni un projet client réel ni un produit existant : taille de l'étude, résultats et délais sont indicatifs et dépendent de l'intervention, des matrices et du plan d'étude. Microbiome Xplorer est un service de recherche ; il ne diagnostique ni ne traite aucune maladie.

1 Échantillonner

Intestin, bouche, peau, vagin ou toute matrice, prélevés et stabilisés selon des standards

2 Communautés

Quels taxons et quelles souches changent, en valeur absolue

3 Fonctions

Quelles fonctions ils portent, et lesquelles sont actives

4 Hôte

Quels signaux atteignent l'hôte, et ce que cela signifie

En bref

QUESTION

Un probiotique agit-il sur l'axe intestin-cerveau : et par quelles fonctions microbiennes et quels signaux chez l'hôte ?

PROFIL DU CLIENT

Entreprise de nutrition conduisant un essai randomisé contre placebo d'un probiotique à trois souches

PARTICIPANTS

120 adultes en bonne santé présentant un stress perçu modéré ; 8 semaines de prise + 4 semaines d'arrêt ; 112 ayant terminé l'étude

MATRICES

Selles (4 temps), salive (microbiote oral, cortisol), sang

COUCHES

Métagénomique shotgun résolue à la souche, métatranscriptomique, 16S (salive), métabolomique fécale et plasmatique, marqueurs de l'hôte ; WGS des souches du produit

VOLUME

≈1 200 profils moléculaires

RÉSULTAT

Implantation transitoire ; fonctions butyrate, GABA et indoles ↑ ; métabolisme du tryptophane orienté vers les indoles ; pas d'effet sur l'inflammation ni le cortisol ; effet modeste sur le stress, médiation exploratoire

DURÉE

≈ 14 semaines entre le dernier échantillon et le rapport final

Le défi

Une entreprise de nutrition avait développé un probiotique à trois souches pour le stress et le bien-être, et conduisait un essai randomisé, en double aveugle, contre placebo chez 120 adultes en bonne santé présentant un stress perçu modéré. Les critères cliniques étaient en place. Il manquait le mécanisme : le produit agit-il réellement via l'axe microbiote-intestin-cerveau¹, et comment ?

- **Le produit est-il présent ?** Détecter davantage de Lactobacillus ou de Bifidobacterium ne prouve pas que les souches du produit se sont implantées.
- **Quelque chose change-t-il au-delà des souches ?** Dans la composition de la communauté, dans les fonctions microbiennes, dans ce qui atteint l'hôte ?
- **Le récit est-il défendable ?** Les données mécanistiques appuient la communication scientifique et les futurs dossiers, dans l'UE, les allégations de santé sur les aliments exigent une évaluation de l'EFSA², mais seulement si chaque maillon est démontré, et non supposé.

La demande : montrer quelles communautés changent, quelles fonctions elles portent et comment l'hôte répond, et où la chaîne se rompt.

01 Échantillonner : les bonnes matrices, prélevées correctement

L'essai était celui du client ; le plan d'échantillonnage a été construit avec lui avant l'inclusion du premier participant. Chaque matrice a été choisie pour la question à laquelle elle répond : les selles pour la communauté intestinale et ses produits, la salive pour le microbiote oral et la réponse du cortisol au réveil, le sang pour les métabolites circulants et les marqueurs inflammatoires.

TABLEAU 1. TOUTE MATRICE REQUISE PAR VOTRE ÉTUDE : ET CE QU'ELLE PEUT RÉVÉLER			
Matrice	Échantillons et méthodes	Points clés	Liens avec la santé étudiés
Intestin	Selles, écouvillons rectaux, biopsies muqueuses ; métagénomique shotgun, métatranscriptomique, métabolomique	Stabiliser dès le prélèvement ; noter consistance des selles et alimentation ; quantifier l'abondance absolue	Obésité ³ , risque cardiovasculaire via le TMAO ⁴ , humeur et stress ¹ , neurodégénérescence ⁵
Bouche	Salive, plaque dentaire, écouvillons linguaux ; 16S ou shotgun	Standardiser l'horaire par rapport aux repas et au brossage	Santé parodontale ; liens avec les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives en cours d'étude ⁶
Peau	Écouvillons, tape-strips ; 16S/ITS ou shotgun	Faible biomasse : blancs et contrôles de contamination indispensables ⁷	Dermatoses inflammatoires, vieillissement, allégations cosmétiques ⁸
Vagin	Écouvillons auto-prélevés ou prélevés par un clinicien ; 16S ou shotgun	Classer les types d'état communautaire (dominance des lactobacilles) ⁹ ; noter la phase du cycle	Santé des femmes : vaginose bactérienne, grossesse, ménopause
Autres	Nasal, lait maternel, échantillons environnementaux, modèles animaux et in vitro	Extraction et contrôles adaptés à la matrice	Santé respiratoire, développement du nourrisson, One Health

La pré-analytique détermine ce que les données peuvent montrer. Les participants ont prélevé leurs selles à domicile dans un tampon stabilisant l'ADN et l'ARN, avec l'échelle de Bristol et un relevé alimentaire de 3 jours à chaque visite ; une prise d'antibiotiques dans les 3 mois précédents était un critère d'exclusion. Chaque lot d'extraction comportait des blancs et une communauté de référence (mock), les échantillons d'un même participant étaient traités ensemble, et les bras étaient équilibrés entre les lots¹⁰. La charge bactérienne totale a été mesurée par qPCR afin d'exprimer les variations en valeur absolue, et pas seulement relative¹¹.

02 Quelles communautés changent

Microbiome Xplorer combine les couches selon la question. Le tableau 2 présente les options et leur utilisation ici.

TABLEAU 2. DE « QUI EST LÀ » À « COMMENT L'HÔTE RÉPOND »		
Couche	Question posée	Dans cette étude
Séquençage d'amplicons 16S / ITS	Qui est là ? Composition bactérienne et fongique à grande échelle ; adapté aux grandes séries et aux échantillons de faible biomasse	Salive, semaines 0 et 8
Métagénomique shotgun	Quelles espèces et quelles souches, et quelles fonctions pourraient-elles assurer ? Suivi des souches, potentiel fonctionnel, résistome ¹²	Tous les échantillons de selles (4 temps)
Métatranscriptomique	Quelles fonctions sont réellement exprimées ?	Sous-ensemble de selles, semaines 0 et 8 (n = 40)
Métabolomique	Quels produits microbiens atteignent l'hôte ? Acides gras à chaîne courte ¹³ , métabolites du tryptophane et indoles ¹⁴ , acides biliaires, TMAO	Selles et plasma, semaines 0 et 8
Réponse de l'hôte	Comment l'hôte répond-il ? Marqueurs inflammatoires et de barrière, hormones ; transcriptomique ou protéomique de l'hôte si nécessaire	CRP, IL-6, LBP ; réponse du cortisol salivaire au réveil
Génomique des souches (WGS)	Le produit est-il conforme ? Identité des souches et absence de gènes de résistance acquise aux antimicrobiens ¹⁵	Les 3 souches du produit

Au total, ≈1 200 profils moléculaires : 448 métagénomes fécaux, 80 métatranscriptomes, 224 microbiotes salivaires et 448 métabolomes fécaux et plasmatiques.

- **Statistiques longitudinales et compositionnelles.** Modèles à effets mixtes (bras × temps, participant en effet aléatoire) et analyse d'abondance différentielle compositionnelle corrigée des biais (ANCOM-BC¹⁶).
- **Facteurs de confusion intégrés au modèle.** Consistance des selles, alimentation, IMC et médicaments, parmi les principaux déterminants de la variation du microbiote intestinal¹⁷, ont été inclus comme covariables.
- **Suivi à l'échelle de la souche.** Les souches du produit ont été distinguées de leurs proches résidentes par des marqueurs spécifiques : l'implantation désigne bien le produit, et non davantage de la même espèce.

Résultats (probiotique vs placebo ; indicatifs) :

- **Diversité globale stable.** La diversité alpha n'a pas varié (Shannon, $p = 0,62$) ; la composition de la communauté a légèrement évolué dans le bras probiotique (PERMANOVA $R^2 = 0,8 \%$, $p = 0,03$), un effet faible, attendu dans un intestin adulte sain.
- **Producteurs de butyrate en hausse.** *Faecalibacterium* et *Coprococcus*, genres déjà associés à la qualité de vie¹⁸, ont augmenté en abondance absolue (+21 % et +17 %, $q < 0,05$).
- **Une implantation réelle mais transitoire.** Les souches du produit ont été détectées chez 82 % des participants du bras probiotique à la semaine 8 et chez 9 % après les 4 semaines d'arrêt ; jamais dans le bras placebo.
- **L'implantation varie selon les individus.** Elle était plus faible lorsque des souches résidentes proches étaient déjà présentes à l'inclusion, en accord avec une résistance à la colonisation propre à chaque individu¹⁹.
- **Microbiote oral inchangé.** Les communautés salivaires n'ont pas varié (PERMANOVA $p = 0,71$) : l'effet est spécifique à l'intestin.

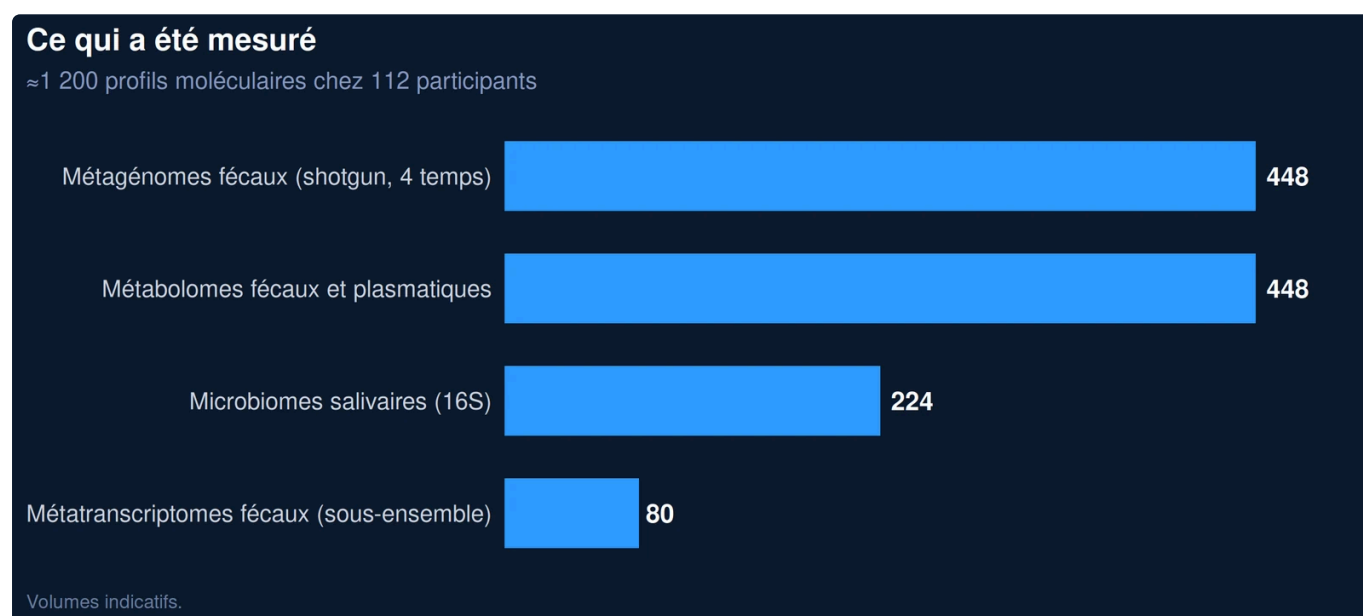


Figure 1. Ce qui a été mesuré. Nombre de profils moléculaires produits par couche, environ 1 200 au total pour 112 participants ayant terminé l'essai : métagénomés fécaux à quatre temps, métabolomes fécaux et plasmatiques, microbiomes salivaires, et métatranscriptomes fécaux pour un sous-groupe de 40 participants aux semaines 0 et 8. Volumes indicatifs.

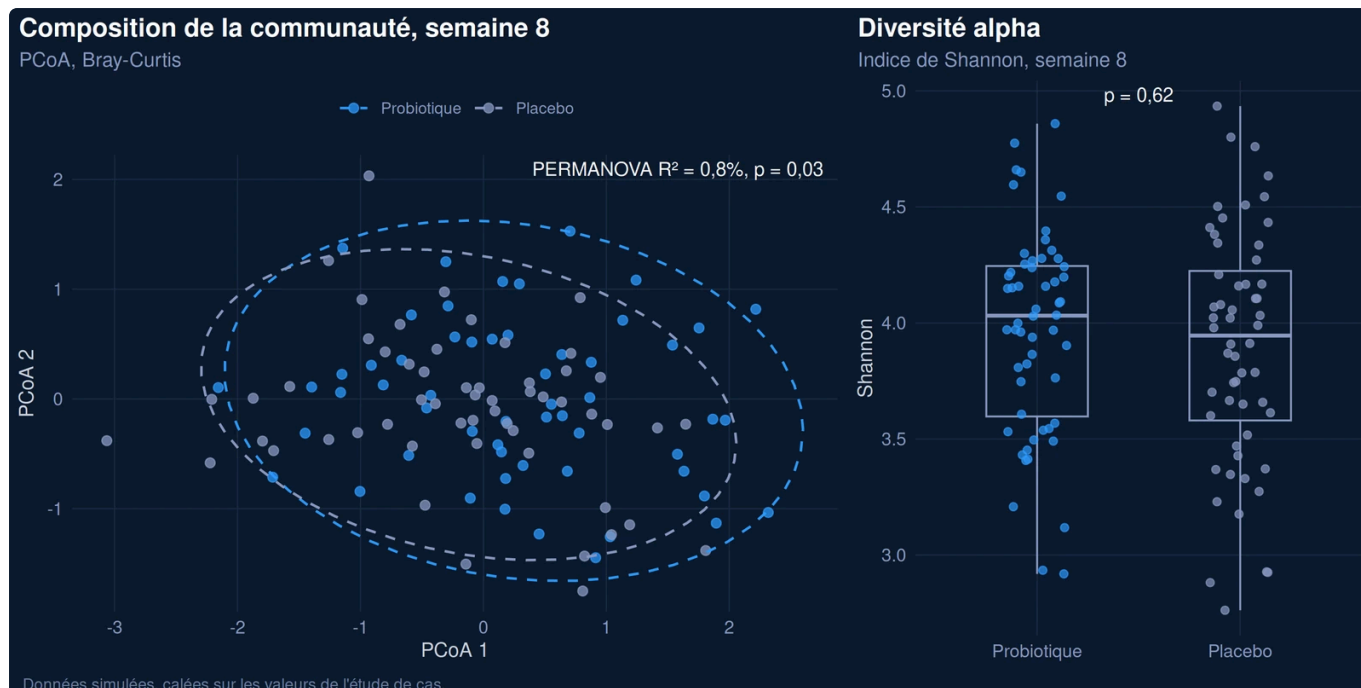


Figure 2. Composition et diversité de la communauté à la semaine 8. À gauche : chaque point est la communauté intestinale d'un participant, placée de sorte que les communautés proches soient voisines (PCoA sur distances de Bray-Curtis). Les deux bras se recouvrent largement : le probiotique ne déplace que légèrement la composition globale (PERMANOVA R^2 0,8 %, $p = 0,03$), comme attendu chez l'adulte en bonne santé. À droite : la diversité de Shannon ne change pas ($p = 0,62$). Données simulées, calées sur l'étude de cas.

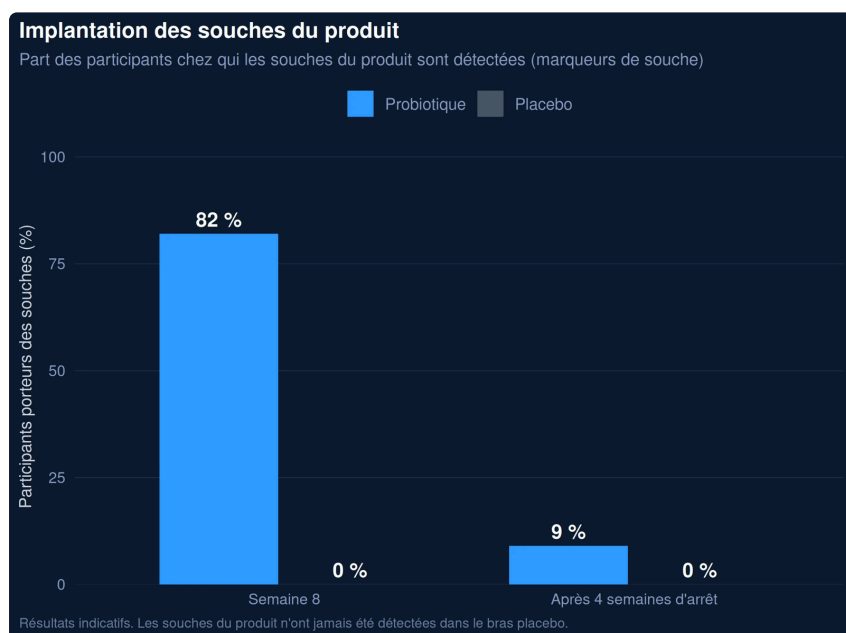


Figure 3. Implantation des souches du produit. Part des participants chez qui les souches du produit sont détectées, grâce à des marqueurs propres à chaque souche qui les distinguent des souches résidentes apparentées. 82 % du bras probiotique les portent à la semaine 8, seulement 9 % quatre semaines après l'arrêt, et personne dans le bras placebo : l'implantation est réelle mais transitoire. Résultats indicatifs.

03 Quelles fonctions elles portent

Les noms d'espèces disent qui est là ; les fonctions disent ce qu'elles peuvent faire. Métagénomés et métatranscriptomes ont été projetés sur des modules intestin-cerveau curés, des voies microbiennes qui produisent ou dégradent des composés neuroactifs¹⁸.

- **Synthèse du butyrate : présente et active.** Le module augmente dans les métagénomés (+18 %) et, plus nettement, dans les métatranscriptomes ($\times 1,5$).
-
- **GABA et indoles.** L'expression de la glutamate décarboxylase (synthèse du GABA) et des voies tryptophanase/indoles augmente ($\times 1,4$ et $\times 1,3$) ; les modules liés à la sérotonine et à la dopamine ne varient pas.
-
- **Une sécurité vérifiée.** Le résistome ne s'est pas étendu, et le séquençage du génome entier n'a révélé aucun gène de résistance acquise dans les souches du produit.

04 Comment l'hôte répond

Une variation du microbiote n'a de sens que si l'hôte y répond. Chaque maillon de la chaîne, du produit au stress perçu, a été testé plutôt que supposé.

DANS L'INTESTIN

1 Les souches s'implantent

Détectées chez 82 % à S8

9 % après l'arrêt

Confirmé · transitoire



2 La communauté évolue

Variation faible (R^2 0,8 %)

Producteurs de butyrate ↑

Modeste



3 Les fonctions s'activent

Voies butyrate, GABA, indoles ↑ (ADN et ARN)

Confirmé

CHEZ L'HÔTE

4 Métabolites vers l'hôte

Butyrate fécal ↑ 15 %

IPA plasmatique ↑

Kynurénine/tryptophane ↓

Confirmé



5 Signalisation chez l'hôte

CRP, IL-6, LBP inchangées

Réponse du cortisol n.s.

Non démontré



6 Stress perçu

PSS -1,6 vs placebo

~24 % médié par le butyrate

Exploratoire

Figure 4. La chaîne intestin-cerveau, maillon par maillon. Chaque boîte est un maillon entre le produit et le stress perçu, avec ses preuves et un verdict. Les quatre premiers maillons sont confirmés, de l'implantation aux métabolites qui atteignent la circulation. La signalisation chez l'hôte (inflammation, cortisol) n'a pas changé, donc le dernier lien vers le stress perçu reste exploratoire. Les flèches en pointillés signalent les liens non démontrés à cette dose et sur cette durée. Résultats indicatifs.

- **Les produits microbiens atteignent l'hôte.** Le butyrate fécal augmente de 15 % ($p = 0,02$) et l'acide indole-3-propionique plasmatique de 12 % ; le ratio kynurénine/tryptophane plasmatique baisse de 9 %.
- **Inflammation et hormones du stress ne bougent pas.** CRP, IL-6 et LPS-binding protein restent inchangées ; la réponse du cortisol au réveil baisse de 6 % (IC à 95 % -14% à $+2\%$).
- **Un signal clinique modeste.** Le critère principal du client, le stress perçu (PSS-10), s'améliore de 1,6 point de plus que sous placebo (IC à 95 % $0,1-3,1$) ; la qualité du sommeil ne diffère pas.
- **Médiation exploratoire.** La variation du butyrate fécal médie statistiquement environ 24 % de l'effet sur le PSS (IC à 95 % $2-51\%$), une hypothèse à tester, pas une preuve.

Interprétation. Les données soutiennent un mécanisme cohérent mais partiel. Les souches s'implantent de façon transitoire et augmentent la capacité, et l'activité réelle, de la communauté à produire butyrate, GABA et indoles ; ces produits atteignent la circulation et orientent le métabolisme du tryptophane hors de la voie de la kynurénine. Les signaux attendus en aval chez l'hôte, inflammation systémique et réponse du cortisol, ne varient pas à cette dose et sur cette durée. Le lien intestin-hôte est établi ; le lien hôte-cerveau ne l'est pas encore.

TABLEAU 3. CE QUE LES DONNÉES PERMETTENT D’AFFIRMER		
Énoncé	Preuves	Verdict
« Les souches du produit colonisent l'intestin pendant la prise »	Détection à l'échelle de la souche chez 82 % à S8 ; 9 % après l'arrêt	Confirmé : transitoire
« Augmente la production de butyrate du microbiote »	Métagénome ↑, métatranscriptome ↑, butyrate fécal ↑	Confirmé : 3 couches
« Oriente le métabolisme du tryptophane vers les indoles »	IPA plasmatique ↑ ; kynurénine/tryptophane ↓ ; expression de la tryptophanase ↑	Confirmé : 2 couches
« Effet spécifique à l'intestin, sans perturbation du microbiote résident »	Microbiote oral et résistome inchangés ; aucun gène de résistance acquise dans les souches	Confirmé
« Réduit l'inflammation systémique »	CRP, IL-6, LBP inchangées	Non confirmé
« Atténue la réponse du cortisol au stress »	-6% ; IC à 95 % -14% à $+2\%$	Non confirmé
« Réduit le stress perçu via le microbiote »	PSS $-1,6$ vs placebo ; $\sim 24\%$ médié par le butyrate (exploratoire)	Hypothèse : à confirmer dans un essai dédié

Dans l'UE, les allégations de santé portant sur les aliments et compléments alimentaires doivent être autorisées au titre du règlement (CE) n° 1924/2006, après évaluation par l'EFSA de données d'efficacité chez l'humain. Les données mécanistiques sur le microbiote renforcent la justification scientifique, la conception des essais et la communication scientifique ; elles n'établissent pas à elles seules un effet de santé revendiqué.

Butyrate fécal au cours de l'essai

Moyenne et IC 95 %, inclusion = 100

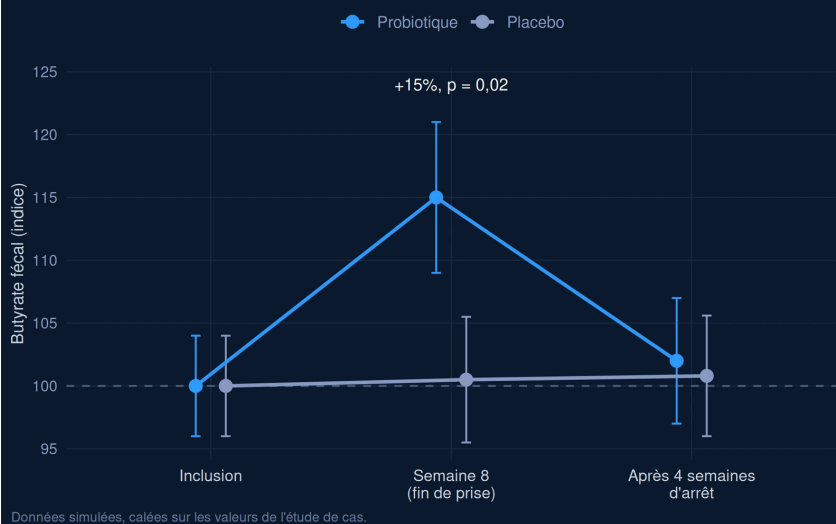


Figure 5. Butyrate fécal au cours de l'essai. Moyenne et IC à 95 %, base 100 à l'inclusion. Dans le bras probiotique, le butyrate augmente de 15 % en fin de prise ($p = 0,02$) puis revient vers sa valeur initiale après 4 semaines d'arrêt, en cohérence avec une implantation transitoire ; sous placebo, il reste stable. Données simulées, calées sur l'étude de cas.

Ce qui a changé, couche par couche

Probiotique vs placebo, variation à la semaine 8 (indicatif)

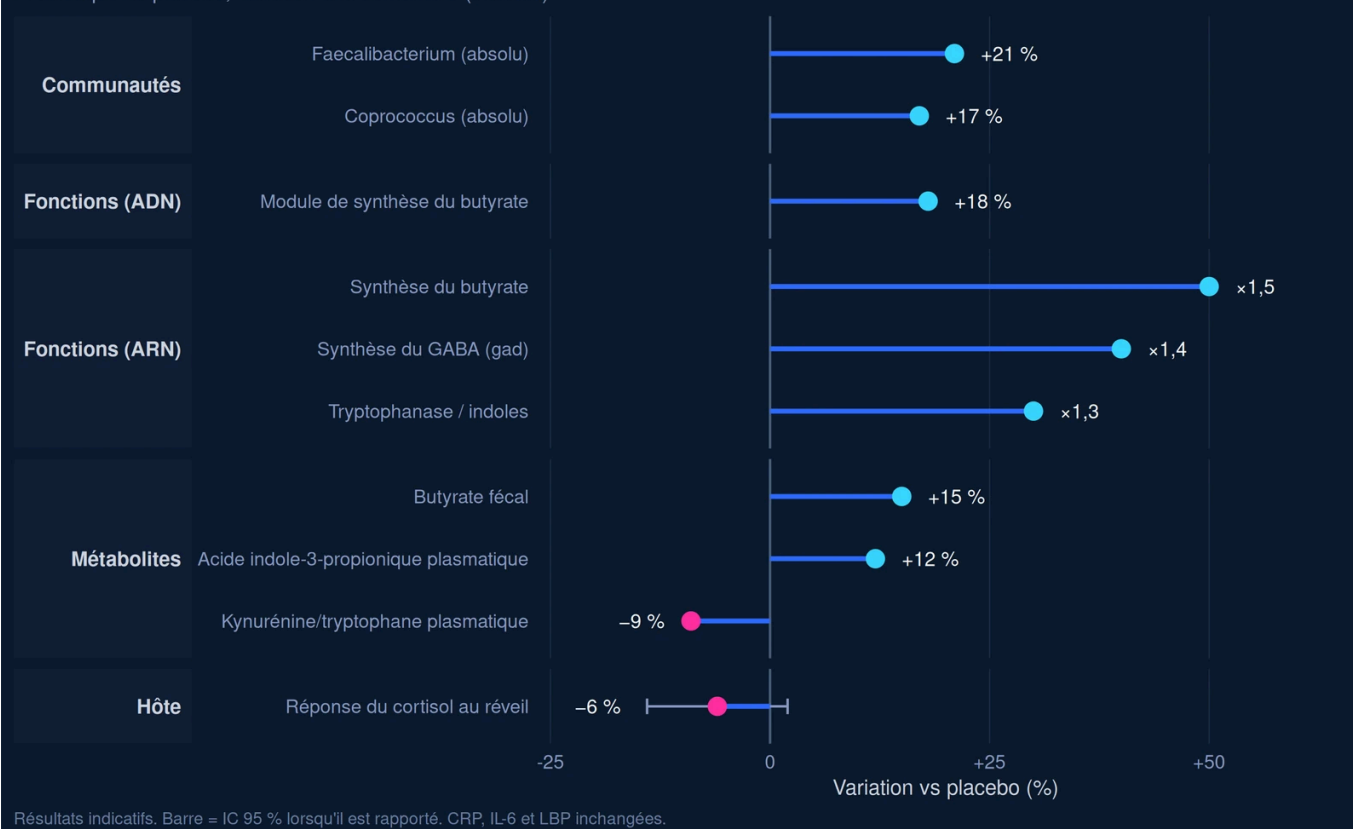


Figure 6. Ce qui a changé, couche par couche. Variation par rapport au placebo à la semaine 8 pour chaque mesure, du microbe à l'hôte : producteurs de butyrate (abondance absolue), gènes de synthèse du butyrate (ADN), voies du butyrate, du GABA et des indoles exprimées (ARN, facteur multiplicatif), métabolites atteignant la circulation, et réponse du cortisol. Les points à droite de zéro ont augmenté, à gauche diminué. La barre du cortisol est un IC à 95 % qui croise zéro : aucun effet n'est démontré. Résultats indicatifs.

Ce que le client a reçu

- Un **jeu de données intégré** : tables taxonomiques, de souches, fonctionnelles, de métabolites et de marqueurs de l'hôte, reliées par participant et par temps, avec les données brutes (FASTQ, fichiers MS).
- Un **rapport de suivi des souches** documentant l'implantation et la persistance de chaque souche du produit.
- Une **carte du mécanisme** indiquant quels maillons de la chaîne intestin-cerveau sont confirmés, partiels ou ouverts.
- Un **rapport statistique** conforme au plan d'analyse pré-spécifié, médiation exploratoire comprise.
- Des **recommandations pour l'essai confirmatoire** : dose plus élevée ou prise plus longue pour tester la signalisation chez l'hôte ; stratification selon la communauté initiale pour tenir compte de la résistance à la colonisation ; butyrate et IPA comme critères mécanistiques pré-spécifiés.

CALENDRIER INDICATIF (SEMAINES COMPTÉES À PARTIR DU DERNIER ÉCHANTILLON)	
Avant l'essai	Plan d'échantillonnage, kits de prélèvement, SOP, plan d'analyse statistique
Pendant l'essai	Échantillons collectés à 4 visites, stabilisés et biobanqués à –80 °C
Semaines 0–6	Extraction, séquençage (shotgun, métatranscriptomique, 16S), métabolomique, marqueurs de l'hôte
Semaines 4–10	Taxonomie, suivi des souches, profilage fonctionnel, annotation des métabolites
Semaines 8–14	Intégration de la réponse de l'hôte, analyse de médiation, rapport final

Pourquoi cette approche fonctionne

- **L'échantillonnage fait la moitié du résultat.** Stabilisation, prélèvement standardisé et contrôles déterminent ce que les données peuvent montrer.
- **Des souches, pas seulement des espèces.** Le suivi à l'échelle de la souche prouve que le produit est là, et pour combien de temps.
- **Potentiel, activité, produit.** Gènes, transcrits et métabolites ensemble montrent si une fonction est présente, active et atteint l'hôte.
- **Suivre la chaîne jusqu'à l'hôte.** Chaque maillon est testé, non supposé.
- **Nommer les maillons manquants.** Montrer ce qui n'a pas bougé, c'est mieux concevoir l'essai suivant.

Au-delà de cet exemple

La même démarche s'applique partout où microbiote et santé se rencontrent :

- **Santé cardiométabolique et obésité** : TMAO, acides biliaires, acides gras à chaîne courte et extraction d'énergie^{4,3} ; réponses aux régimes, fibres, probiotiques et médicaments.

- **Santé cérébrale** : stress, humeur et sommeil, et maladies neurodégénératives comme les maladies de Parkinson⁵ et d'Alzheimer, où les microbiotes intestinal et oral sont des champs de recherche actifs.
- **Santé des femmes** : types d'état communautaire vaginaux⁹ tout au long de la vie, grossesse, ménopause, produits d'hygiène intime et probiotiques.
- **Santé cutanée et bucco-dentaire** : produits cosmétiques et d'hygiène bucco-dentaire, dermatoses inflammatoires, santé parodontale.
- **Plans d'étude** : essais randomisés, cohortes observationnelles, études cas-témoins, modèles intestinaux in vitro et études chez l'animal gnotobiotique.

Références

1. Cryan JF, et al. The microbiota–gut–brain axis. *Physiol Rev.* 2019;99:1877–2013.
2. Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *OJ L 404*, 30.12.2006.
3. Turnbaugh PJ, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 2006;444:1027–1031.
4. Tang WHW, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med.* 2013;368:1575–1584.
5. Sampson TR, et al. Gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease. *Cell.* 2016;167:1469–1480.
6. Dominy SS, et al. Porphyromonas gingivalis in Alzheimer's disease brains: evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. *Sci Adv.* 2019;5:eaa0333.
7. Eisenhofer R, et al. Contamination in low microbial biomass microbiome studies: issues and recommendations. *Trends Microbiol.* 2019;27:105–117.
8. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16:143–155.
9. Ravel J, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108 Suppl 1:4680–4687.
10. Costea PI, et al. Towards standards for human fecal sample processing in metagenomic studies. *Nat Biotechnol.* 2017;35:1069–1076.
11. Vandeputte D, et al. Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Nature.* 2017;551:507–511.
12. Beghini F, et al. Integrating taxonomic, functional, and strain-level profiling of diverse microbial communities with bioBakery 3. *eLife.* 2021;10:e65088.
13. Koh A, et al. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell.* 2016;165:1332–1345.
14. Agus A, Planchais J, Sokol H. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease. *Cell Host Microbe.* 2018;23:716–724.
15. EFSA. EFSA statement on the requirements for whole genome sequence analysis of microorganisms intentionally used in the food chain. *EFSA J.* 2021;19:e06506.
16. Lin H, Peddada SD. Analysis of compositions of microbiomes with bias correction. *Nat Commun.* 2020;11:3514.
17. Falony G, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science.* 2016;352:560–564.
18. Valles-Colomer M, et al. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. *Nat Microbiol.* 2019;4:623–632.
19. Zmora N, et al. Personalized gut mucosal colonization resistance to empiric probiotics is associated with unique host and microbiome features. *Cell.* 2018;174:1388–1405.

Vous préparez une étude sur le microbiote ?

Indiquez-nous votre intervention, vos matrices et la question qui les motive. Nous vous proposerons un plan, échantillonnage, profondeur de séquençage, couches et lectures chez l'hôte, avant le premier prélèvement. genxmap.com/contact