

Titre : Impact des antibiotiques sur le phageome intestinal humain: de la méthode à l'application.

Résumé: L'antibiorésistance est un problème majeur de santé publique. Mieux comprendre l'impact des antibiotiques sur le microbiote intestinal et l'acquisition de résistances est essentiel. Dans le cadre d'une étude clinique randomisée contrôlée (CEREMI), deux antibiotiques (ceftriaxone et céfotaxime) aux spectres d'activité antimicrobienne similaire, mais aux modes d'élimination différents, ont été administrés à 22 volontaires sains. Les selles de ces derniers ont été collectées à différents temps sur une période de 6 mois, afin d'évaluer l'impact des antibiotiques sur la composition et l'évolution des communautés bactériennes et phagiques (virus bactériens) du microbiote intestinal ainsi que la présence de gènes de résistance.

L'étude du phageome intestinal a nécessité le développement de méthodologies adaptées tant au niveau expérimental que bioinformatique. Suite à la comparaison de différentes méthodes d'isolement de phages issus de fèces, la technique de concentration au polyéthylène glycol s'est révélée être la plus adaptée à notre étude au regard du grand nombre d'échantillons (>100) à analyser par la suite, de par sa simplicité, sa reproductibilité, son faible coût et de la grande diversité des phages obtenus. Un pipeline bioinformatique d'identification et d'annotation des phages, combinant des approches de métagénomique et de génomique comparative, a été spécifiquement développé. Il permet, à partir des reads issus du séquençage métagénomique des phages, d'assembler, d'annoter syntaxiquement et fonctionnellement les différents contigs, et enfin de prédire automatiquement s'ils sont des phages. Ces méthodologies ont ainsi été appliquées à l'ensemble des échantillons de selles issues de l'étude CEREMI.

Les analyses de la communauté phagique ont révélé que l'usage de ces deux antibiotiques entraîne une forte perturbation du phageome intestinal avec un retour progressif à l'équilibre au 30ème jour. L'usage de ceftriaxone semble cependant avoir un effet plus important sur la baisse de diversité phagique. Malgré cette perturbation le phageome intestinal reste hautement individu-spécifique et ne semble pas impliqué dans le transfert de gènes de résistance aux antibiotiques.

En parallèle, l'étude de la communauté bactérienne, par des comptages bactériens et l'analyse des 16S, a montré que les deux antibiotiques entraînent une diminution rapide et drastique de la diversité bactérienne, sans pour autant sélectionner de bacilles à Gram négatifs résistants aux céphalosporines de troisième génération. Contrairement au phageome, les deux traitements semblent avoir un impact similaire sur le bactériome.

Mots clefs : Microbiote intestinal, antibiotiques, phages, phageome intestinal, gènes de résistances aux antibiotiques.