

# UNIVERSITÉ DE NANTES

---

## FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANTES

---

Année : 2021

N° 2021-215

### THÈSE

Pour le

### DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE GERIATRIE

Par

Elise MARTIN

Née le 02/11/1994 à Lyon

---

Présentée et soutenue publiquement le 19 octobre 2021

---

« Association entre diversité du microbiote intestinal et évolution de la morbi-mortalité à 6 mois chez des patients âgés vivant en EHPAD au CHU de Nantes »

---

Présidente du jury : Madame le Professeur Laure DE DECKER

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Guillaume CHAPELET

Membres du jury : Monsieur le Professeur MONTASSIER Emmanuel  
Monsieur le Docteur LE BASTARD Quentin

## REMERCIEMENTS

Professeur De Decker, merci de m'avoir accueillie il y a quelques années dans le cursus de gériatrie. Je vous remercie d'avoir accepté de présider mon jury de thèse.

A Guillaume Chapelet, merci pour ton encadrement de qualité, ton écoute, ta gentillesse et ta disponibilité, ce travail n'aurait pas été possible sans ton support !

Dr Quentin Le Bastard, merci de nous avoir accompagné dans la réalisation des statistiques et de faire partie de mon jury de thèse.

Pr Emmanuel Montassier, merci d'avoir accepté de lire cette thèse et d'intégrer le jury.

A toi Joan, tu as été mon soutien n°1 sans faille ces dernières années. Merci de croire en moi et de m'écouter, dans les bons moments comme les plus difficiles.

A mes parents, vous êtes les personnes vers qui je me tourne quand je doute, et m'avez toujours aiguillé dans la bonne direction. Vos avis et regards extérieurs m'ont permis de garder pied quand j'avais parfois la sensation que tout allait s'effondrer.

A ma sœur Clémence, et mon frère Antonin, on a grandi ensemble, pris des chemins de vie différents via nos parcours professionnels, mais je pense qu'on n'a jamais été aussi soudés qu'aujourd'hui. Je suis fière de vous deux, de ce que vous avez déjà accompli !

A mes grands-parents, j'ai la chance de tous vous avoir tous les quatre auprès de moi dans cette étape de mon cursus. Le temps passe mais rien ne change, je serai toujours votre petite fille !

A mes copines : Naomi, Marion, Chloé, Manon, Camille, Laulau, Sara, sans qui ces années médecine n'auraient pas été les mêmes, vous avez rendu ces années extraordinaires quand elles étaient si difficiles. Vous êtes la famille de cœur que j'ai choisi ! Et bien sûr, tous les gars aussi : Maxou, Willy, Rémy, Manu, Octave !

A Mathilde, tu es la première personne que j'ai rencontré en médecine, et regarde, 9 ans après, toujours là, on ne s'est jamais lâchées !

Merci au reste de la clique pour toutes ces supers années ! Juju, toujours de retour pour de nouvelles aventures ! Elise pour les moments vécus ensemble, et le voyage en Slovénie, on se ressemble sur beaucoup de points ! Benjam, Margot ! La troupe des repas du midi (mais aussi les soirées !) : Adri, Perrine, Clément, Constance et Johann ! Merci pour ce magnifique voyage qu'a été le Laos-Cambodge à vos côtés.

A ma belle-famille, Nathalie, Daniel et Eva, pour votre accueil. Vous êtes prévenant et je me suis toujours senti bien chez vous comme à la maison ! Merci pour tout, et on va encore vivre plein de belles aventures !

A Solène, on voit enfin le bout de nos études respectives, tu seras une avocate investie et passionnée par ton travail, je ne vois pas de meilleures qualités que celles-ci pour mener à bien tes projets !

A Ophélie, la bougeotte dans l'âme, toujours partante pour faire de nouveaux projets !

A Laëtitia et Charline, mes copines de toujours ! On ne s'est jamais perdues de vue, le trio choc du collège qui ne se lâchera pas !

Aux copains du lycée : Marion et PM, Perrine et Kévin, Marc et Margaux, Tito, Sylvain ! Toujours le plaisir de se voir !

A Céline, ma super, extra, géniale, cointerne et binôme de ce semestre. Grâce à toi ce semestre a été drôle et plus léger. Viens me voir à La Roche-sur-Yon quand tu veux, la porte sera toujours grande ouverte !

Merci à Joëlle et Linh Lan, mes amies rencontrées lors du semestre en neuro ! Linh Lan je te souhaite le meilleur en DES de psychiatrie.

A l'équipe de ce dernier semestre : Linh Lan, on s'est suivies pour de nouvelles aventures, Alan tu m'as beaucoup faite rire, surtout avec ta couleur auburn et ta passion jet ski, Victor, j'espère que tu trouveras la voie qui te correspond le mieux.

A la team urgences, big up à Emilie en particulier, ma copine de LRSY city !

A l'équipe du court séjour gériatrique de La Roche-sur-Yon, Ronan, Marine, Romain, Pauline, qui m'a fait découvrir la gériatrie. Vous avez su me transmettre votre passion, je me suis réorientée grâce à vous. Impossible d'écrire cette page sans vous remercier. Merci de m'accueillir pour le poste de Dr Junior !

Merci à toute l'équipe de neurologie du CHD, j'ai adoré les 6 mois avec vous ! J'ai appris à aimer regarder un scanner ou une IRM et j'ai eu envie de pousser la formation de neurologie, c'est en grande partie grâce à vous !

## GLOSSAIRE

*ADN* = acide désoxyribonucléique

*ADL* = Activity of daily life

*Alpha diversité* = diversité d'espèce dans un seul échantillon, une valeur par échantillon. Evaluable par plusieurs indices, dont ceux retenus pour cette étude : Chao1, calcul des OTUs.

*Beta diversité* = diversité entre deux échantillons, valeurs par paires pour toutes les combinaisons d'échantillons

*Chao1* = indice d'alpha diversité parmi les plus utilisés

*CHU* = centre hospitalo-universitaire

*EBLSE* = entérobactéries productrices de beta-lactamases à spectre élargi

*EHPAD* = Etablissement d'Hébergement pour les Personnes Agées Dépendantes

*Grille AGGIR* = grille Autonomie Gérontologie Groupe Iso Ressources, mesure le degré de perte d'autonomie.

*Microbiote* = ensemble de micro-organismes présents à un endroit ou dans un échantillon spécifique

*Microbiome* = leur génome collectif

*OTUs* : operational taxonomic units, ensemble de séquences qui sont au moins similaires à 97% les unes aux autres et utilisées pour classer ensemble des individus reliés. Groupes basés sur la ressemblance ADN, avec un niveau de ressemblance de 97%.

*PCR* = Polymerase Chain Reaction

# Table des matières

<b>I – INTRODUCTION</b> .....	7
1) PREAMBULE.....	7
2) COMPOSITION ET EVOLUTION DU MICROBIOTE AU COURS DU TEMPS .....	8
3) FACTEURS INFLUENCANT LA COMPOSITION DU MICROBIOTE INTESTINAL .....	10
<i>A – Régime alimentaire, mode de vie</i> .....	10
<i>B – Thérapeutiques médicamenteuses</i> .....	10
4) DYSBIOSE ET MORBIDITE .....	12
<i>A – Interaction microbiote et système immunitaire : notion d’inflammaging</i> .....	13
<i>B – Axe microbiote – intestin – cerveau : implication des dysbioses dans les troubles neurocognitifs et psychiatriques</i> .....	13
5) DYSBIOSE ET MORTALITE.....	16
6) ENJEUX GERIATRIQUES .....	17
<b>II - MATERIEL ET METHODES</b> .....	19
1) POPULATION .....	19
<i>A – Etude princeps</i> .....	19
<i>B – Critères d’inclusion et d’exclusion</i> .....	20
2) RECUEIL DES ECHANTILLONS DE SELLES .....	21
3) OBJECTIFS ET CRITERES DE JUGEMENT .....	22
4) METHODE DE RECUEIL ET RECUEIL DES DIFFERENTES DONNEES .....	23
<i>A - Définition des critères de jugement</i> .....	23
<i>B – Caractéristiques à l’inclusion</i> .....	25
<i>C – Méthodologie de collecte des données</i> .....	27
5) ANALYSES STATISTIQUES .....	28
<b>III – RESULTATS</b> .....	29
1) PROCESSUS DE SELECTION DE LA POPULATION.....	29
2) CARACTERISTIQUES DES PATIENTS A L’INCLUSION .....	30
3) CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL : MORTALITE TOUTE CAUSE .....	32
4) CRITERES DE JUGEMENT SECONDAIRES : MORBIDITE, MICROBIOTE, EVALUATION DES VARIABLES GERIATRIQUES .....	34
<i>A – Morbidité</i> .....	34
<i>B – Microbiote : unités taxonomiques opérationnelles et analyse taxonomique</i> .....	36
<i>C – Evolution des variables gériatriques</i> .....	38
<b>IV – DISCUSSION</b> .....	39
1) ASSOCIATION ENTRE MORBI-MORTALITE ET MICROBIOTE .....	39

2) LE MICROBIOTE, UN BIOMARQUEUR DE FRAGILITE.....	41
3) MICROBIOTE ET NUTRITION.....	42
4) TAXONOMIE.....	43
5) PERSPECTIVES D'EVOLUTION.....	45
6) LIMITES DE L'ETUDE .....	47
<b>V – CONCLUSION</b> .....	<b>49</b>
<b>VI – ANNEXES</b> .....	<b>50</b>
<i>Annexe 1 : Grille AGGIR.....</i>	<i>50</i>
<i>Annexe 2 : Index ADL.....</i>	<i>51</i>
<i>Annexe 3: Score de Charlson .....</i>	<i>52</i>
<i>Annexe 4 – Analyse statistique de la différence entre les moyennes de jours entre inclusion dans l'étude et date du décès entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> tercile .....</i>	<i>53</i>
<i>Annexe 5 – Graphe en barre illustrant l'absence de différence significative sur la variable « jours entre inclusion et décès », entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> tercile.....</i>	<i>53</i>
<i>Annexe 6 – Espèce dominante chez les patients décédés à 6 mois versus non décédés dans la population générale .....</i>	<i>54</i>
<i>Annexe 7 – Espèce dominante chez les patients décédés à 6 mois versus non décédés dans le 1<sup>er</sup> tercile .....</i>	<i>55</i>
<i>Annexe 8 – Espèce dominante chez les patients décédés à 6 mois versus non décédés dans le 3<sup>ème</sup> tercile .....</i>	<i>56</i>
<b>VII – BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>57</b>

# I – INTRODUCTION

## 1) PREAMBULE

Le tractus gastro-intestinal humain est colonisé par des centaines de milliards de micro-organismes (de  $10^{13}$  à  $10^{14}$ ) que l'on regroupe sous le terme de microbiote. Ce dernier est donc une entité composée de l'ensemble des différentes espèces de bactéries (98% du microbiote), virus et champignons peuplant l'intestin (1), avec une densité de population plus marquée sur la dernière portion colique, puisque 90% du microbiote intestinal s'y trouve (2). Cette forte concentration (trois fois plus que dans le grêle, six fois plus que dans l'estomac) s'explique par l'absorption d'eau au niveau colique et par le temps de transit pouvant parfois aller jusqu'à un ou deux jours et autorisant la prolifération des micro-organismes (2). Il coexiste au niveau digestif plusieurs centaines d'espèces bactériennes, réparties en cinq embranchements principaux : *Bacteroides*, *Firmicutes*, *Protéobacteria* (comprenant entre autres *Escherichia*, *Salmonella*, *Helicobacter Pylori*), *Actinobacteria* et *Fusobacteria*. Ces espèces sont le reflet d'années de sélectivité du microbiote intestinal (1). L'ensemble des génomes rassemblé par ces espèces est appelé microbiome (3), il est équivalent à 150 fois celui de l'homme. La sélection de ces espèces dites commensales (indifférentes à l'hôte) ou mutualistes (amenant un bénéfice à l'hôte) a été permise par des siècles de coexistence entre tractus gastro-intestinal et microbiote (1).

Ces dernières années, de plus en plus d'études suggèrent que le microbiote pourrait être un organe à part entière, impliqué dans beaucoup de phénomènes physiopathologiques. On lui accorde un rôle central dans l'homéostasie au sens large, et entre autre immunitaire (4).

De nombreuses études analysent l'association entre la composition, la richesse ou la diversité du microbiote à un instant T et des données de morbi-mortalité (5), d'une manière générale, et plus spécifiquement à certaines pathologies, chez des sujets âgés (6). La réelle difficulté à vouloir expliquer le lien entre ces deux parties repose sur le fait que les variables attachées au microbiote peuvent être la résultante d'une pathologie et des traitements qui sont pris dans ce contexte, tout comme elle peut être à l'origine de l'état pathologique et des conséquences qui en résultent.

## 2) COMPOSITION ET EVOLUTION DU MICROBIOTE AU COURS DU TEMPS

Il semble essentiel dans ce contexte de fixer rapidement quelques notions sur la naissance puis l'évolution du microbiote au cours de la vie.

On fait le constat que les enfants naissent vierges de toute colonisation microbienne au niveau intestinal, mais que quelques heures à peine après la naissance, des micro-organismes sont détectés au niveau du liquide amniotique, du placenta, du méconium et du cordon ombilical (3,7,8). Ce microbiote initial est pauvre en diversité et instable. Sa composition diffère selon le mode de naissance (si césarienne – l'enfant aura plutôt été exposé à des germes portés par les soignants et par l'environnement hospitalier – ou accouchement voie basse : l'enfant aura été exposé à la flore vaginale et fécale de sa mère), le microbiote intestinal de la mère elle-même, le mode d'alimentation ainsi que l'environnement dans lequel évolue le nouveau-né. Quelques mois après la naissance, des facteurs supplémentaires interviennent dans la composition du microbiote : si hospitalisation, si frères et sœurs, si exposition à des traitements etc. (3,7,8).

La composition du microbiote est connue variable au cours de la vie (Figure 1). A la naissance donc, le microbiote est plutôt pauvre en diversité (index d'alpha diversité bas) et instable (3), dominé par le phylum *Bifidobacteria*, et dépendant de beaucoup de facteurs extrinsèques (cf. ci-dessus). Malgré des espèces et des répartitions différentes au départ, il a été prouvé que la composition du microbiote intestinal convergeait in fine, au bout de quelques années, spontanément vers des espèces communes (1). Alors survient une première étape majeure dans le changement de composition dans le microbiote : le passage à l'alimentation per os des nourrissons (9), le régime alimentaire étant l'un des facteurs d'influence connu et étudié (cf. partie ci-dessous).

Le développement du microbiote intestinal gagne ensuite en diversité et en stabilité au fur et à mesure du temps dans la première partie de vie adulte (10), pour atteindre un maximum en milieu de vie avant de décroître à nouveau. Ainsi, à l'inverse de l'adulte jeune, chez les personnes âgées, finalement comme pour les nouveau-nés, la diversité est diminuée, les bactéries pathogènes augmentent et il y a beaucoup plus de variations interpersonnelles (1,11). Le "noyau" microbiotique des sujets âgés se distingue de celui des patients jeunes par une plus grande proportion de phylum *Bacteroides* (10) entre autres, lorsqu'il n'est pas en état de dysbiose. Le vieillissement est la deuxième grande étape de modification de composition du

microbiote (9), bien que l'âge de considération d'un sujet âgé diffère selon les études et ne soit pas clairement défini, physiologique ou chronologique.

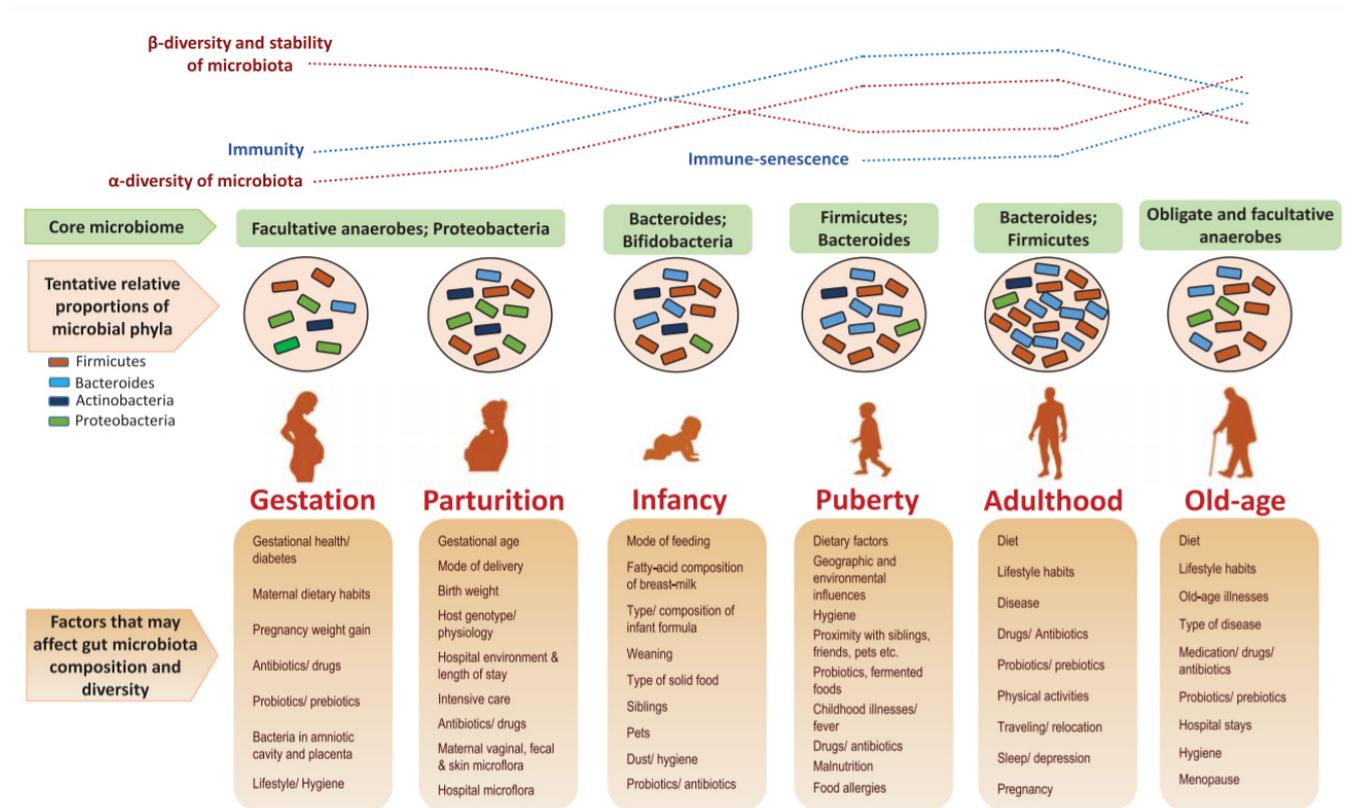


Figure 1. Extrait de Nagpal et al. (12)  
Composition du microbiote intestinal en fonction de l'âge

### 3) FACTEURS INFLUENCANT LA COMPOSITION DU MICROBIOTE INTESTINAL

En parallèle de l'évolution naturelle dans la composition du microbiote explicitée rapidement ci-dessus, induite par le vieillissement, influent sur celle-ci d'autres facteurs extrinsèques avec en tête de file la prise de traitements médicamenteux (13), le mode de vie et le régime alimentaire (1).

#### *A – Régime alimentaire, mode de vie*

Une étude a montré que les altérations du microbiote intestinal qui dépendaient du mode de vie étaient plus marquées chez les sujets âgés présentant une fragilité physique et vivant en EHPAD, en partie du fait d'une mobilité réduite et d'un régime alimentaire peu varié (14). En effet, comme indiqué dans la revue de littérature effectuée par Bischoff *et al.*, ces patients ont un profil alimentaire riche en graisse et en sucres, et pauvre en fibres, à l'inverse des patients non institutionnalisés dont le régime est plus équilibré (riche en fibres et plus pauvre en graisse et sucre) (15). De manière simplifiée, le régime riche en graisse augmenterait les espèces bactériennes pro-inflammatoires ce qui n'est pas le cas du régime riche en fibres qui augmente lui la diversité bactérienne et diminue la concentration de cytokines pro-inflammatoires (16). Ces données ont été retrouvées dans l'étude de Cleasson *et al.* (17) qui étudiait la corrélation entre la composition du microbiote intestinal de 178 sujets âgés et leur régime alimentaire (quatre groupes ont été créés selon la teneur en graisse et en fibres). On retrouvait dans celui riche en graisse/pauvre en fibres 83% des sujets institutionnalisés et qui présentaient alors un microbiote peu divers avec une plus forte proportion de *Bacteroides*.

#### *B – Thérapeutiques médicamenteuses*

Concernant les traitements médicamenteux, plusieurs études ont montré que certaines classes thérapeutiques avaient un fort pouvoir de modification du paysage microbiotique intestinal, responsables de dysbioses (cf. « dysbiose et morbidité »), soit par expansion d'espèces pathogènes, réduction de la diversité ou perte de bactéries mutualistes par exemple. On part du postulat que l'état de dysbiose pourrait ensuite être pourvoyeur d'un état pro-inflammatoire, potentiellement pathogène (cf. inflammaging ci-dessous).

Ainsi, il semble ressortir d'une étude menée par Ticinesi *et al.* que la polymédication (définie à partir de 5 traitements quotidiens) serait significativement associée à un état de

dysbiose du microbiote (aussi bien qualitativement que quantitativement), appréciée par la diminution de la diversité et des abondances moyennes d'espèces (18).

Lorsque l'on s'intéresse aux classes médicamenteuses influençant la composition du microbiote, on retrouve les antibiotiques en tête de liste, avec un fort potentiel de modification du microbiote (aussi bien sur sa physiologie, sa structure ou son génome) (19). La majeure partie du temps ingérés per os ou administrés en intra-veineux, et utilisés avec pour cible première des agents pathogènes, ils impactent rapidement, et sans surprise, les bactéries commensales et mutualistes du tube digestif (20). Beaucoup d'études ont montré que la consommation d'antibiotiques avait des effets à court et à long terme sur la composition du microbiote animal et humain, avec parfois des changements d'état pérennes et durables du microbiote (3). L'administration d'antibiotiques a des effets rapides de décroissance de diversité et de changement de composition, commençant après parfois seulement quelques jours de prise. Et souvent, quand bien même le microbiote se reconstruit, il ne le sera jamais complètement (21). Une autre conséquence de la prise d'antibiotiques est la sélection et la persistance de résistance d'espèces aux antibiotiques (aussi bien au niveau des espèces que des gènes), qui persistent au long terme et peuvent être préjudiciable pour les thérapeutiques futures (22).

En plus des antibiotiques, d'autres médicaments ont été démontré comme étant associé à la modification de la composition du microbiote (6,21,23), comme les antipsychotiques (18,24,25) et les IPP (25,26). Dans l'étude de Maier *et al.* (23), 27% des 1 000 traitements non antibiotiques testés inhibaient au moins la croissance d'une espèce *in vitro*, par des mécanismes très variés. Ce chiffre serait plutôt sous-estimé puisque les seuils de significativité étaient stricts et toutes les espèces bactériennes n'ont pas été explorées. Les tests ont certes été fait *in vitro* mais avec des concentrations de traitements qui étaient similaires à celles que l'on retrouve *in vivo*, et les observations tirées sont en accord avec les quelques études cliniques qui ont porté sur l'interaction traitement-microbiome. Ainsi, ces résultats soulignent la nécessité de ne pas méconnaître les effets confondants de la prise des traitements lors des futures analyses pathologies-microbiome.

#### 4) DYSBIOSE ET MORBIDITE

Une modification du microbiote peut induire ce que certains auteurs appellent une dysbiose (20). Une dysbiose est une rupture, une discontinuité dans l'équilibre de la balance entre microbiote intestinal et l'hôte qui s'exprime soit par l'expansion d'espèces pathogènes, par la réduction de la diversité microbienne ou par la perte d'espèces bénéfiques pour l'hôte (3,20) (Figure 2).

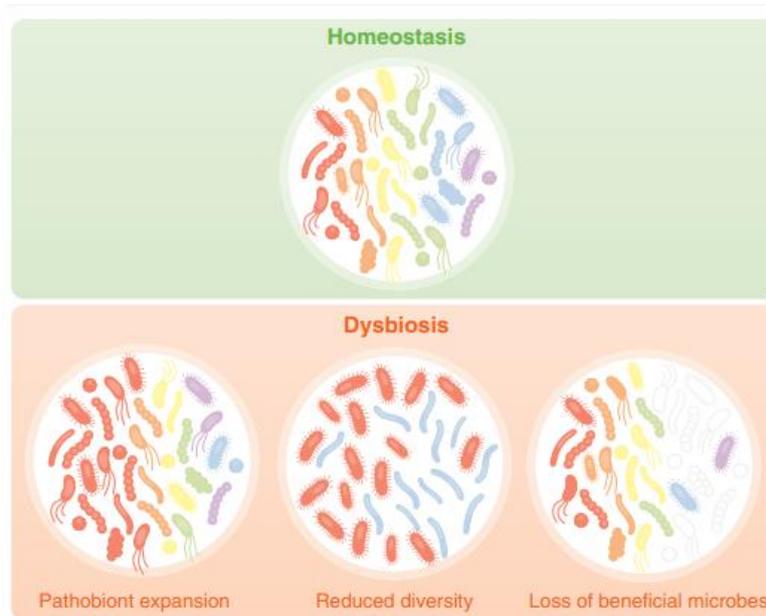


FIGURE 2 – Dysbioses définies comme rupture d'équilibre entre le microbiote intestinal et l'hôte. Etat provoqué soit par l'expansion d'espèces bactériennes pathogènes, par la réduction de la diversité microbienne ou par la perte de microbes bénéfiques à l'hôte. (20)

Plusieurs études réalisées ces dernières années se sont attelées à montrer un lien de causalité entre cette rupture d'équilibre dans la composition du microbiote et l'apparition ou l'évolution de pathologies liées à l'âge (1,6). Tout l'enjeu dans l'étude des dysbioses est de déterminer si elles sont causes ou conséquences de pathologies aiguës ou chroniques. Le lien est complexe et probablement que les deux sont intriqués et non individualisables. Il peut s'agir d'une part d'altérations du microbiote qui conduisent à l'apparition d'une pathologie ou du moins pouvant y contribuer, ou bien d'altérations qui reflètent une pression sélective engendrée par la pathologie elle-même (1).

Il existe différentes voies de pathogenèse liant dysbiose et pathologies, très imbriquées là encore, bien qu'on tente de les distinguer par souci de clarté. On en détaillera ici deux : la

notion d'inflammaging (résultante de l'interaction du microbiote avec le système immunitaire) et l'axe microbiote-intestin-cerveau (et ses multiples voies de communication).

### *A – Interaction microbiote et système immunitaire : notion d'inflammaging*

A l'image d'un organe à part entière du corps humain, le microbiote interagit avec l'Hôte, via des interactions complexes, incluant la barrière intestinale, la muqueuse intestinale, le système immunitaire de l'Hôte et par la métabolisation de composés organiques. Ainsi, l'ensemble du tractus gastro-intestinal représente le plus gros organe immunologique, en terme de quantité de lymphocytes, bien que les chiffres diffèrent franchement selon les études (4). L'homéostasie immunitaire repose sur l'équilibre issu de l'interaction entre microbiote intestinal et système immunitaire de la muqueuse digestive. Leur proximité au sein de l'intestin est l'occasion de nombreuses opportunités métaboliques et immunologiques (4).

Chez le sujet âgé, population d'intérêt dans cette thèse, ces acteurs subissent des modifications (4). Comme précisé ci-dessus, le microbiote intestinal devient de plus en plus pauvre avec des variations interpersonnelles de plus en plus marquées. Du côté du système immunitaire, on note des modifications : diminution des cellules T, diminution des CD3+/CD4+ helper, CD8+ cytotoxiques, augmentation des cytokines de type 1 (IL2, IFN gamma, TNF alpha), et des cytokines de type 2 (IL4, IL6 et IL10) – pro-inflammatoires, diminution de la production de mucus et de sa propriété immunorégulatrice – favorisant ainsi l'adhésion des bactéries pathogènes. Ces interactions sont à la fois source de bénéfice et de menace infectieuse perpétuelle. En effet, ce système immunitaire altéré est en permanence activé au contact du microbiote. Cela crée et entretient un statut inflammatoire permanent, et chronique (1), appelé Inflammaging (27). Cet état pro-inflammatoire serait associé à la majoration de l'incidence de maladies chroniques (maladies cardiovasculaires, déclin cognitif, maladies métaboliques, fragilité, mortalité) (1,4,9,10,28), ainsi que la susceptibilité infectieuse aux agents pathogènes.

### *B – Axe microbiote – intestin – cerveau : implication des dysbioses dans les troubles neurocognitifs et psychiatriques*

Parmi les différents champs d'interaction du microbiote intestinal avec les autres organes, il y en a un qui se dégage et qui attire l'attention en gériatrie : celui de la neurocognition. En effet, sur les dix dernières années, beaucoup d'études ont étudié ce que l'on

nomme le fameux axe microbiote-intestin-cerveau, réseau de communication bidirectionnel, un concept en émergence et qui se démocratise au sein de la communauté scientifique (14,24,29–34). Tout comme le microbiote occupe une place centrale par de multiples biais dans le développement du système nerveux dans l'enfance, celui-ci pourrait jouer un rôle central dans la dégénérescence neuronale du sujet âgé (24). Il est primordial d'y porter un intérêt puisque la préservation des fonctions cognitives est un enjeu individuel et collectif des populations vieillissantes dans beaucoup de pays.

Les études ayant investigué cet axe mettent en avant un rôle critique du microbiote intestinal dans le développement et le fonctionnement du cerveau, notamment en régulant par des voies chimiques les fonctions des cellules microgliales et astrocytaires, acteurs centraux dans les divers process neurophysiologiques (développement neuronal, neurotransmission, intégrité de la barrière hémato-encéphalique, inflammation cérébrale) (33). Le microbiote intestinal, quand il est dans un état de dysbiose, est suspecté d'être impliqué dans l'apparition et la progression de certaines dysfonctions neurologiques (32,34) (maladie d'Alzheimer, troubles du spectre autistique, dépression, maladie de Parkinson, SLA, maladie de Huntington (34)). Ainsi, en prenant de la hauteur, un changement dans la composition du microbiote pourrait affecter les fonctions cognitives et vice versa (34). En conséquence, le microbiome devient une cible diagnostique et thérapeutique pour ces pathologies.

Plusieurs hypothèses physiopathologiques ont été avancées par la communauté scientifique pour tenter d'expliquer le lien complexe entre microbiote et cerveau, en voici les 4 principales (24,32):

1/ Hypothèse émise d'un microbiote de **composition anormale**, modulée par environnement – traitements – comorbidités, qui générerait une neuro-inflammation par le relargage de cytokines (24), voire de fragments bactériens, dans la circulation systémique : voie de l'inflamming avec activation du système immunitaire (32).

2/ Hypothèse impliquant la **voie vagale**, voie de conduction parasympathique entre le cerveau et l'intestin, qui suppose la synthèse de métabolites microbiens qui agiraient comme des neurotransmetteurs et neuromodulateurs (24,32).

3/ Production d'**acides gras à chaîne courte** au niveau intestinal (24) (produit de la fermentation bactérienne des carbohydrates), agissant comme immunomodulateurs au niveau du système nerveux central (régulent la microglie), du système nerveux sympathique et

parasympathique. Ils régulent aussi le relargage de peptides des cellules neuroendocrines et de sérotonine, intervenant dans la communication hormonale cerveau-intestin.

4/ Influence du microbiote dans le métabolisme du **tryptophane** (24), acide aminé essentiel dans la production de sérotonine. Dans certaines populations, des concentrations réduites en tryptophane ont eu pour conséquence la réapparition de symptômes dépressifs chez des patients qui avaient été traités avec succès par IRSS pour des symptômes similaires.

Si on prend l'exemple de la maladie d'Alzheimer, différentes études s'y étant intéressé retrouvent un profil de microbiote avec tendance à la diminution – voire suppression – des espèces anti-inflammatoires, à la majoration des espèces pro-inflammatoires, au dépôt de cytokines inflammatoires et de peptides amyloïdes dans le système nerveux central (29–32). Les équipes de Verdi *et al* ainsi que celle de Zhuang *et al* constatent une diversité microbienne réduite ainsi qu'un profil d'espèces différent chez les patients atteints d'une maladie d'Alzheimer comparée à des échantillons de selles de volontaires sains (24,29,31). Ces études prouvent que des changements au niveau d'espèce microbienne intestinale, peuvent potentiellement jouer un rôle dans l'évolution, le maintien de certaines maladies via les voies citées ci-dessus.

## 5) DYSBIOSE ET MORTALITE

L'état de dysbiose associé à des critères de morbidité est bien établi, bien que le champ des recherches reste encore vaste. Parallèlement à ça, et dans un continuum logique, quelques études s'attachent à étudier la variable mortalité.

L'étude de Salosensaari *et al.* a permis d'identifier certaines fonctionnalités spécifiques du microbiote reliées à la mortalité toute cause, et ce malgré des bagages génétiques/modes de vie/taux de mortalité différents. Ils ont également montré l'existence d'un signal fort et significatif entre la beta-diversité et la mortalité (35). Dans une seconde étude, de Ticinesi *et al.*, la dysbiose était significativement associée à la mortalité dans le suivi à 2 ans, chez des patients hospitalisés (11).

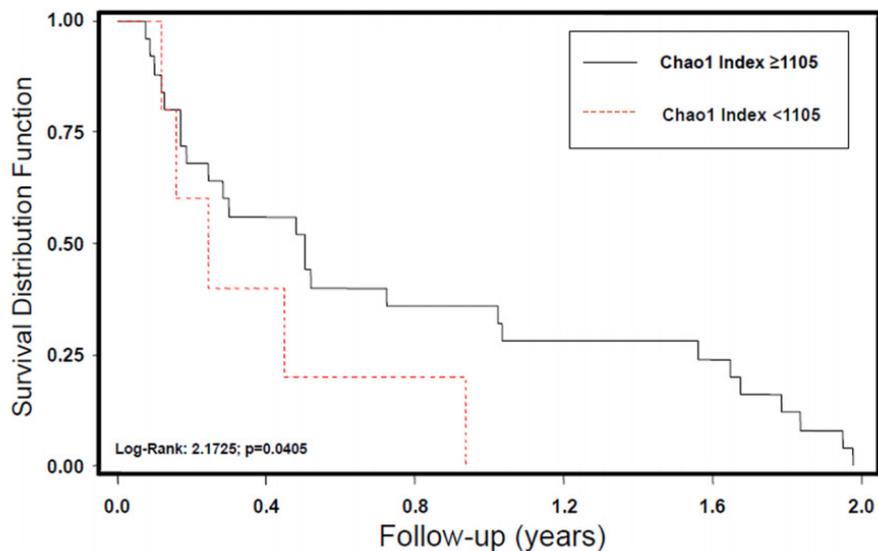


FIGURE 3 – Biodiversité microbienne (estimée par l'index Chao1) et courbe de survie chez des patients hospitalisés, répartis en 2 groupes selon leur alpha diversité avec seuil = Chao1 < ou > à 1105. Les patients présentant une biodiversité élevée avaient une espérance de vie supérieure à 2 ans de suivi. « Gut microbiota composition is associated with polypharmacy in elderly hospitalized patients » Extrait de Ticinesi *et al.*

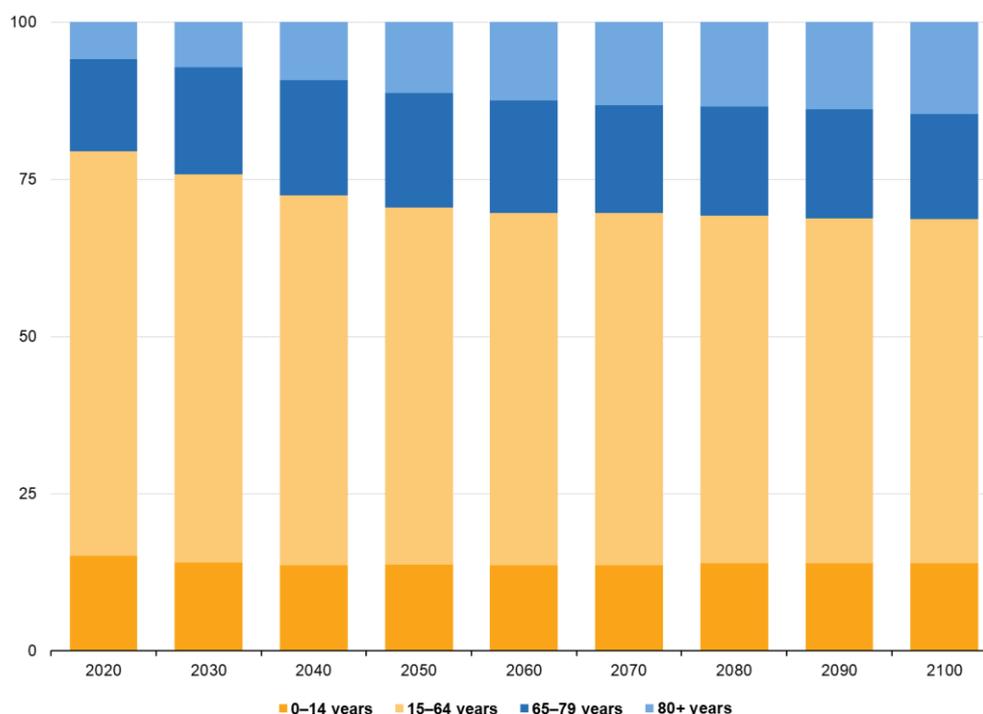
## 6) ENJEUX GERIATRIQUES

L'intérêt final de connaître et d'appréhender au mieux le microbiote intestinal et sa place dans les processus physiopathologiques serait de pouvoir tout d'abord utiliser le microbiote comme un biomarqueur prédictif ou pronostique de morbi-mortalité puis, dans un deuxième temps, comme éventuelle cible thérapeutique. Si l'on prend l'exemple des pathologies neuro-dégénératives, celles-ci constituent aujourd'hui un enjeu thérapeutique, puisque leur prévalence augmente avec l'avancée en âge, et socio-économique, car responsables d'une dépendance accrue avec nécessité pour la plupart de moyens humains et financiers à différents niveaux. Ainsi, pouvoir prédire l'évolution de ces pathologies avec un biomarqueur facile d'accès est une piste de recherche innovante.

Par ailleurs, la moyenne d'âge de la population ne fait qu'avancer dans les pays développés mais, maintenant aussi, dans ceux considérés en voie de développement. Les statistiques d'Eurostat (36) retrouvent une augmentation de toutes les catégories d'âge après 50 ans en 2020 comparé à 2005. En 2020, plus d'un cinquième de la population européenne est âgée de plus de 65 ans. La proportion de la population âgée de 80 ans et plus est de 5,9% en Europe en 2020 et passera à 14,6% en 2100.

### Population structure by major age groups, EU, 2020-2100

(% of total population)



Note: 2020: provisional, 2030-2100: projections (EUROPOP2019).  
Source: Eurostat (online data codes: demo\_pjanind and proj\_19ndbi)

eurostat

FIGURE 4 – Projection des pourcentages de répartition de la population européenne par catégorie d'âge pour les décennies à venir.  
Eurostat (36)

Ainsi, alors que la population se fait de plus en plus vieillissante, et ce à toutes les échelles, la connaissance et la maîtrise des facteurs jouant un rôle dans l'apparition et l'évolution de certaines maladie liées au vieillissement sont essentielles. De ce point de vue, la physiopathologie de l'interaction Hôte-Microbiote intestinal pourrait faire partie d'une piste de recherche innovante.

Cette thèse s'intègre dans cette démarche de réflexion et a pour volonté d'analyser l'association entre des facteurs de morbi-mortalité définis et le niveau de richesse/diversité du microbiote, par le biais d'indice d'alpha diversité, de patients âgés et institutionnalisés en EHPAD sur le CHU de Nantes. La mortalité toutes causes confondues à 6 mois est le critère de jugement principal. La morbidité, appréciée par différentes variables (évolution de troubles neurocognitifs, survenue d'évènements infectieux, survenue d'épisodes de décompensation cardiaque), l'analyse de l'évolution de certaines variables gériatriques ainsi que l'étude taxonomique sont les critères de jugement secondaire.

## II - MATERIEL ET METHODES

### 1) POPULATION

#### *A – Etude princeps*

Les sujets inclus dans cette étude rétrospective ont été tirés au sort aléatoirement parmi une cohorte de 144 patients issus de l'étude CARBEHPAD créée en juin 2016 (37). Ces patients sont ou étaient tous institutionnalisés dans deux EHPAD publics de la ville de Nantes (144 patients sélectionnés sur 312 résidents à l'époque au total) – dans l'ouest de la France, avec une gestion commune et un centre commun de distribution des repas. L'objectif principal de l'étude princeps CARBEHPAD était d'identifier des espèces bactériennes, voies pathogènes ou des gènes caractérisant le microbiote intestinal de patients institutionnalisés en EHPAD et porteurs d'EBLSE. Lors de cette première étude, le consentement a systématiquement été recherché auprès des 144 patients quand il était possible, sinon auprès de son représentant légal avant le recueil de selles.

A ce jour, aucune étude ne permet de calculer un nombre de patient nécessaire pour répondre à la question de recherche sur l'association du microbiote avec l'évolution de la morbi-mortalité. Dans cette étude exploratoire, de preuve de concept, nous avons fait l'hypothèse qu'un groupe de 90 patients nous permettrait de comparer deux terciles de diversité de microbiote de 30 patients chacun, ce qui correspond à une taille d'échantillon totale de même amplitude que l'étude antérieure de Ticinesi *et al.*, qui avait analysé chez 76 patients des facteurs cliniques similaires aux nôtres (11). Finalement, nous avons sélectionné aléatoirement 110 patients de la cohorte initiale, en considérant une marge d'erreur d'à peu près 20% de risque *a posteriori* de traitement par antibiotique dans le mois qui précédait le recueil du microbiote, de données manquantes et/ou non fiables de données du microbiote, qui constituaient nos critères de non inclusion.

## *B – Critères d'inclusion et d'exclusion*

Les critères d'inclusion étaient :

- Être institutionnalisé en EHPAD sur le CHU de Nantes
- Être porteur de troubles neurocognitifs à l'inclusion, sévérité non évaluée
- Avoir donné son consentement, ou par l'intermédiaire du tuteur légal
- Echantillon de selle prélevable pour chaque patient

Les critères de non inclusion étaient :

- Absence de données fiables concernant la composition du microbiote intestinal
- Avoir reçu une cure d'antibiothérapie le mois avant l'inclusion

## 2) RECUEIL DES ECHANTILLONS DE SELLES

Lors de l'étude princeps CARBEHPAD, des échantillons de selles fraîchement émises ont été prélevés par les équipes infirmières de chaque EHPAD avec le kit Copan ou FecalSwab (Copan Diagnostics<sup>®</sup>, Murrieta, CA, USA). Les selles ont été récoltées en 2016, au mois de juin, après inclusion à deux dates clés selon l'EHPAD concernée : 07/06/2016 ou le 10/06/2016.

Ces échantillons de selles ont été analysés dans le Minnesota, à l'Université de Minneapolis, Etats-Unis pour extraction ADN, amplification et séquençage du microbiome selon une technique de séquençage dite « *shallow shotgun* ». L'ADN a été extrait d'échantillons de selles congelés en utilisant le kit MO BIO PowerSoil DNA Isolation<sup>®</sup> (MO BIO, Carlsbad, CA, USA) puis quantifié en utilisant le kit Quant-iT PicoGreen dsDNA<sup>®</sup> (Fisher scientific, Waltham, MA, Etats-Unis). Un séquençage rapide de l'ADN total des selles a été appliqué en utilisant la plateforme Illumina HiSeq Platform. Le séquençage s'est fait par lecture de 250 paires de bases, identifiées selon les recommandations du fabricant. L'ensemble des séquences ADN obtenues ont été préparées (TruSeq DNA Sample Prep kit<sup>®</sup>) et les réactifs KAPA biosystems<sup>®</sup> associés aussi (KAPA Library Preparation). Une fois préparées, les séquences ADN ont été amplifiées par PCR en utilisant KAPA HiFi polymerase<sup>®</sup> (Roche, Bâle, Suisse). Puis les résultats ont été comparés à une base de données (NCBI RefSeq) pour pouvoir les relier à des espèces connues et pouvoir dresser la composition du microbiote avec un seuil de fiabilité de 97%. Toutes les espèces ainsi reconnues ont été incluses dans les données de l'étude. La biodiversité (indice d'alpha diversité) des échantillons ainsi recueillis a été appréciée en utilisant un script QIIME2 (version 2018.4).

### 3) OBJECTIFS ET CRITERES DE JUGEMENT

Les objectifs de cette étude étaient les suivants :

- Objectif principal : explorer une association entre faible diversité du microbiote (index de diversité Chao1) et la mortalité à 6 mois
- Objectifs secondaires :
  - Association entre diversité du microbiote et évolution de la morbidité. Pour ce faire, l'index Chao1 a été retenu comme indice d'alpha diversité.
  - Association entre diversité du microbiote et l'évolution de paramètres gériatriques
  - Analyse taxonomique du microbiote

#### 4) METHODE DE RECUEIL ET RECUEIL DES DIFFERENTES DONNEES

##### *A - Définition des critères de jugement*

###### *a. Critère de jugement principal*

Pour l'évaluation du critère de jugement principal, nous avons évalué la survenue d'un décès, oui (1) ou non (0) sur la période de 0 à 6 mois ayant suivi l'inclusion, en effectuant un recueil étalonné tous les 50 jours. Ces données nous ont permis d'effectuer un état des lieux à 6 mois du nombre de patients décédés, ainsi qu'une courbe de survie sur 6 mois.

Pour analyse complémentaire du critère de mortalité, nous avons calculé le nombre de jours entre la date d'inclusion et la date de décès sur une période poussée jusqu'à 5 ans. Quand le patient n'était pas décédé au 31/12/2020, nous avons attribué la valeur 0 à la donnée.

###### *b. Critères de jugement secondaire : morbidité*

Concernant l'évolution de la morbidité, nous avons choisi d'axer notre recueil sur les critères de jugement suivant, en scindant la récolte de données en deux semestres suivant l'inclusion (180 jours par période) :

###### *- L'évolution de troubles neurocognitifs :*

Calcul du nombre de jours de prise de neuroleptiques tous les semestres, peu importe la molécule, rapporté aux jours réellement vécus dans le semestre. Cette donnée nous permet d'avoir un taux d'exposition journalier sur le semestre concerné. Cela permet ainsi de s'affranchir de la contrainte statistique des patients décédés en cours de semestre et de la non équivalence des différentes molécules.

Nous avons également calculé la dose cumulée de benzodiazépines prise sur chacun des deux semestres de 180 jours, en convertissant à chaque fois en équivalent de doses diazépam selon un tableau d'équivalence utilisé par la société française d'addictologie (38).

###### *- La survenue d'épisodes infectieux a été évaluée via plusieurs critères en lien avec la prise de traitements antibiotiques.*

Tout d'abord, le nombre de cure d'antibiotiques par semestre, en se basant à chaque fois sur les recommandations de durée d'antibiothérapie appliquées actuellement (par exemple 7 jours de ceftriaxone = 1 cure, 7 jours d'Augmentin = 1 cure etc.).

Puis sur le même principe que les neuroleptiques ci-dessus, nous avons calculé le taux d'exposition journalier sur le semestre.

Enfin, nous avons calculé la dose cumulée d'antibiotique prise par chaque patient à chaque semestre concerné, puis l'avons rapporté en DDJ, Dose Définie Journalière (39) afin de pouvoir comparer les doses prises par les patients entre elles malgré des antibiotiques de classe différente.

Nous n'avons pas pris en compte dans notre analyse les traitements antiviraux et antifongiques car il n'existe pas de tableur permettant de les convertir sur un pied d'égalité avec les antibiotiques et donc de les comparer entre eux (39).

- La survenue d'une décompensation cardiaque est estimée via le calcul des doses cumulées journalières de prise de furosémide dans chacun des semestres concernés.

#### *c. Critère de jugement secondaire : Microbiote*

Concernant l'analyse du microbiote, les critères de jugement secondaires considérés étaient l'analyse taxonomique du microbiote et le nombre d'OTUs (Unités Taxonomiques Opérationnelles) des échantillons de selles prélevés à l'inclusion.

#### *d. Critères de jugement secondaire : évolution des variables gériatriques*

En analyse complémentaire, nous avons évalué, à 6 mois puis à 12 mois de l'inclusion, l'évolution de différentes variables gériatriques dans chacun des deux terciles, quand leur monitoring rapproché pouvait être pertinent et réalisable :

> la douleur : variable cotée 1 (si prise systématique d'un antalgique de classe 1 ou 2 ou 3) ou 0 (si pas de prise systématique d'antalgique) à 6 mois et 12 mois.

> L'état nutritionnel : paramètres de dénutrition à 6 mois évaluée par différentes données, 1 si l'un des critères de dénutrition était présent, 0 si le patient n'en avait aucun : IMC < 21 kg/m<sup>2</sup> ou albuminémie < 35 g/L ou perte de poids > 10% entre l'inclusion et à 6 mois.

Paramètres de dénutrition à 12 mois évalués par les mêmes données, 1 si l'un des critères de dénutrition était présent, 0 si le patient n'en avait aucun : IMC < 21 kg/m<sup>2</sup> ou albuminémie < 35 g/L ou perte de poids > 10% entre 6 mois et 12 mois.

Les critères de dénutrition ont été établis selon les dernières recommandation HAS de 2019, précisément concernant les populations ayant plus de 70 ans (40).

Deux critères manquaient : celui du MNA score (mini-nutritionnal assessment), non réalisable a posteriori, et du pourcentage de perte de poids évalué sur 1 mois (recueil de données pas assez rapproché).

> L'autonomie : sur la même base de calcul que ci-dessous (cf. caractéristiques de la population à l'inclusion), évaluation du score ADL à 6 mois, puis à 12 mois quand les patients étaient encore en vie.

> La iatrogénie médicamenteuse avec le recueil du nombre de classe thérapeutique ainsi que le nombre de traitement pris (indifféremment des classes thérapeutiques) prise PO ou IV (mais exclusion des topiques) à 6 mois et à 12 mois

## *B – Caractéristiques à l'inclusion*

Nous avons également cherché à caractériser les patients inclus au moment de l'inclusion, selon différentes caractéristiques listées ci-dessous, balayant entre autres les variables gériatriques :

- Caractéristiques socio-démographiques : sexe (1 pour les femmes, 0 pour les hommes), âge à l'inclusion.
- Dénutrition : on a attribué la valeur 1 si, à l'inclusion, le patient présentait l'une des caractéristique suivante, 0 s'il n'en présentait aucune : IMC < 21 kg/m<sup>2</sup> ou albuminémie < 35 g/L. N'ont pas pu être utilisés les critères suivants : score MNA, pourcentage de perte de poids. Les seuils ont été fixés selon les recommandations HAS de 2019 (40).
- Autonomie : les grilles AGGIR, évaluant l'autonomie dans les activités de la vie quotidiennes en 9 points, recueillies en EHPAD, sont faites tous les 3 mois. C'est donc la grille la plus proche temporellement au moment du recueil de données qui a été retenue. La grille AGGIR n'est pas reconnue internationalement (seulement en France), mais l'index ADL l'est. Etabli en 1963 par Katz *et al.* (41), il a pour but d'évaluer le degré de dépendance dans les activités de la vie quotidienne : un score égal à 0 signe une dépendance complète, un score égal à 6, à l'inverse, une autonomie complète. Un tableur de conversion a donc été créé selon la logique suivante : A sur la grille AGGIR équivalait à 1 au score ADL, B sur la grille AGGIR équivalait à 0,5 au score ADL, C sur la grille AGGIR équivalait à 0 au score ADL.

Le choix a été fait de ne pas étudier l'iADL puisque par définition, l'institutionnalisation en EHPAD est le reflet d'une perte de ces fonctions instrumentales ou bien si elles ne sont pas complètement altérées, du fait du fonctionnement des EHPAD, ces fonctions

instrumentales n'étaient pas évaluées (*Grille AGGIR en annexe 1. Index ADL en annexe 2*).

- Appréciation des comorbidités à l'inclusion avec le calcul du score de Charlson (42), non pondéré à l'âge (*Annexe 3*), présence particulière d'un diabète, d'une hypertension artérielle, d'une anémie, d'une carence en vitamine D, ainsi que l'estimation de la fonction rénale selon la formule CKD-EPI, ont été individualisés afin de pouvoir les analyser en tant que potentiels facteurs confondants. Décision de prendre en compte ces facteurs là puisqu'impliqués dans la fragilité du patient et fréquents dans la population âgée.
- Recherche des troubles cognitifs : facteur non discriminant, puisqu'après avoir passé en revue les 90 patients de l'étude CARBEHPAD, 100% d'entre eux avaient des troubles cognitifs à l'inclusion, mineurs, modérés ou majeurs, mais rapportés/décrits dans les différents comptes-rendus hospitaliers. N'ont cependant pas pu être recueillis, les scores d'évaluation des troubles cognitifs à l'inclusion, non disponibles pour la très grande majorité des patients.
- Evaluation de la iatrogénie médicamenteuse, variable d'intérêt gériatrique, par deux paramètres. Le calcul du nombre de classes thérapeutiques à l'inclusion d'une part, via l'onglet plan d'administration du logiciel « Millenium », permettant d'apprécier au mieux les traitements réellement pris par le patient. Puis le nombre de traitements à l'inclusion définit par le calcul du nombre de traitements en donnée brute chiffrée, indépendamment de leur classe thérapeutique, à l'exclusion des traitements à application locale (collyres, crèmes etc.). La polymédication était considérée à partir de 5 traitements pris quotidiennement (43).
- La douleur : variable gériatrique cotée 1 si le patient présentait une prise systématique d'antalgique à l'inclusion (pallier 1, 2 ou 3 indifféremment), 0 sinon.
- Calcul de la durée d'institutionnalisation, en jours, en prenant la date de début de l'institutionnalisation et la date d'inclusion comme repères temporels.

Une caractéristique notable influant sur le microbiote intestinal, et de ce fait facteur confondant de poids, dont nous nous sommes affranchis est le mode de vie et de régime alimentaire. Les patients étant tous institutionnalisés dans le même type d'établissement (EHPAD), dépendant d'un même gestionnaire : ils partagent ainsi le même régime, le même type d'organisation de vie.

### *C – Méthodologie de collecte des données*

Les patients provenaient soit de l'EHPAD de La Seilleraye, au nord-est de Nantes, soit de l'EHPAD Beauséjour, au nord de Nantes. A l'époque de l'inclusion, la capacité d'accueil était de 312 patients au total. Ces deux établissements sont rattachés à l'entité du CHU de Nantes et bénéficient donc du même mode de gestion avec entre autres le logiciel Millenium pour la partie médicale/paramédicale. La collecte des différentes données concernant la cohorte de 90 patients s'est faite via cet outil, hormis les index d'autonomie obtenus par les grilles AGGIR en version papier fournies par les deux EHPAD, pour la période d'intérêt. Toutes les données ont été anonymisées et conservées sur un serveur protégé.

Nous avons récolté, afin de définir au mieux la population étudiée, les caractéristiques socio-démographiques et les variables gériatriques, qui nous étaient accessibles a posteriori, au moment de l'inclusion.

## 5) ANALYSES STATISTIQUES

Des méthodes statistiques différentes ont été utilisées pour attester de l'absence de différence significative selon que les variables étaient binaires ou non binaires.

Les analyses descriptives de population ont été réalisées avec le logiciel SPSS version 15.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). L'analyse descriptive des variables binaires a fait appel au test de Chi-2., appliqué avec un risque alpha accepté à 5%. Ainsi, pour toute p-value  $> 0,05$ , on considère qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes. Pour l'analyse des variables non binaires ou continues, un test paramétrique (t-test) ou non paramétrique (Mann-Whitney) a été utilisé selon que les variables étaient de répartition normale ou non. Enfin, le critère de jugement principal a aussi été exploré dans le cadre d'une courbe de survie avec une analyse par Kaplan-Meier.

Les analyses du microbiote (diversité par l'index Chao1 et calcul du nombre d'OTU) ont été réalisées avec le package vegan sur R (version 2.5-1). Ensuite, nous avons identifié les différences d'abondances taxonomiques entre les tercile 1 et 3 en estimant le changement log<sub>2</sub>-fold avec le test du rapport de vraisemblance contenu dans le paquet *DESeq2*. Nous avons utilisé un modèle ajustant une régression locale de la dispersion logarithmique sur la moyenne de base logarithmique avec une distribution binomiale négative. Les valeurs P ont été ajustées pour les tests multiples en utilisant la méthode *False Discovery Rate* (FDR)

### III – RESULTATS

#### 1) PROCESSUS DE SELECTION DE LA POPULATION

Après screening de 110 patients parmi les 144 ayant été analysé dans l'étude princeps CARBEHAPD, 38 patients ont été exclus du fait de l'absence de données fiables concernant leur indice de diversité du microbiote, 1 patient a n'a pas été inclus car il avait reçu une cure d'antibiotique le mois précédent le recueil de selles et ses données de diversité du microbiote manquaient également. Finalement, dans cette étude, 72 patients au total ont été inclus, répartis en 3 terciles de 23 à 24 patients selon leur indice de diversité (Figure 5).

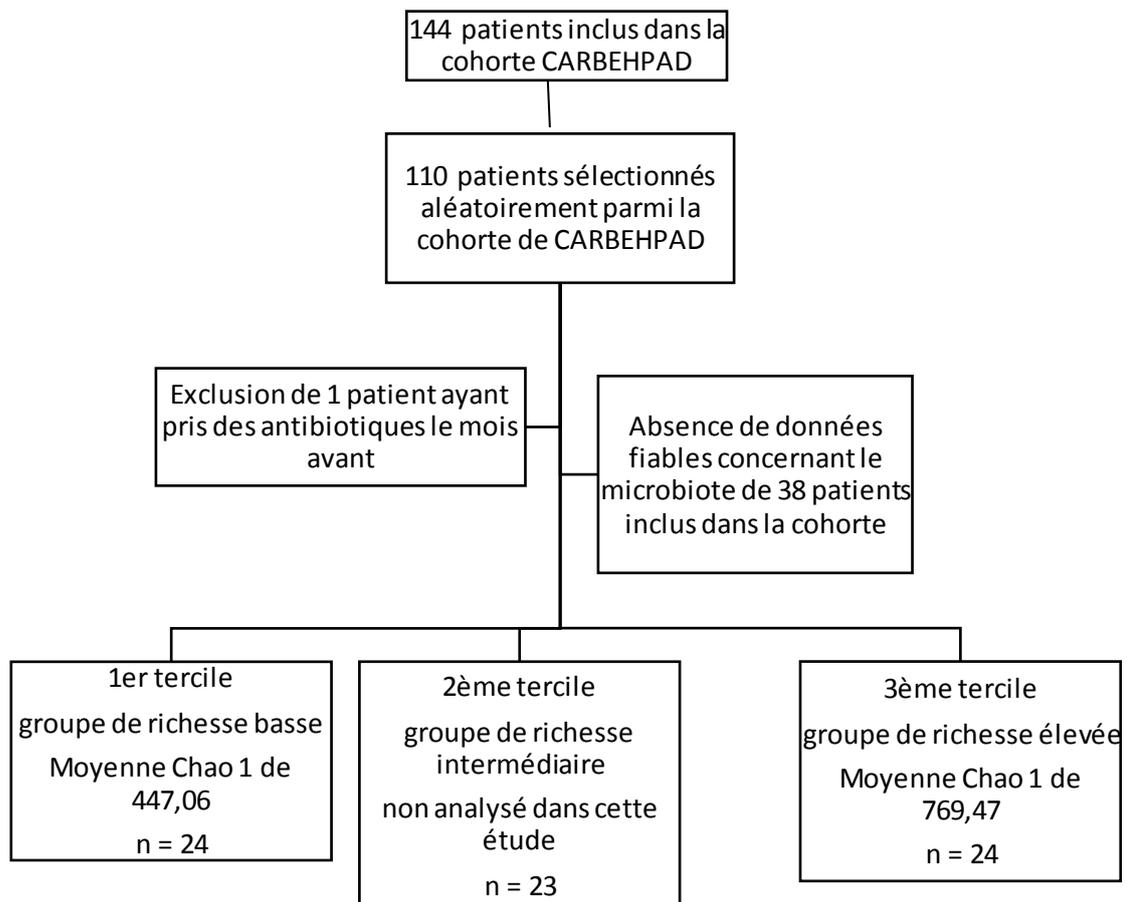


Figure 5 - Flowchart

L'indice Chao1 de la population générale, était de 589,73 (+/- 164,14). Finalement, après inclusion des patients, 3 terciles de diversité ont été considérés dans le cadre de cette étude. Dans le 1<sup>er</sup> tercile, la moyenne de diversité était de 447,06 (+/- 47,56), dans le 3<sup>ème</sup> elle était de 769,47 (+/- 150,17), avec des indices significativement différents entre ces deux groupes (Tableau 1).

*Tableau 1 – Moyenne des index Chao1 dans la population générale et dans chacun des terciles de populations*

	<i>Moyenne population générale (+/- ds)</i>	<i>Moyenne du 1<sup>er</sup> tercile (+/- ds) N = 24</i>	<i>Moyenne du 3<sup>ème</sup> tercile (+/- ds) N = 24</i>	<i>p-value calculée avec le test t pour l'égalité des moyennes</i>
<b>Chao1</b>	589,73 (+/- 164,14)	447,06 (+/- 47,56)	769,47 (+/- 150,17)	< 0,001

## 2) CARACTERISTIQUES DES PATIENTS A L'INCLUSION

Les caractéristiques des patients sont listées dans le Tableau 2 et le Tableau 3. L'analyse descriptive n'a pas montré de résultat significatif notamment concernant les différentes données anthropométriques, de prise de traitements, de comorbidités (score de Charlson ou comorbidité individualisée), d'autonomie, de dénutrition à l'inclusion entre les deux terciles de population étudiée. Il y avait dans chacun des deux groupes le même nombre d'hommes et de femmes : 14 hommes, 10 femmes. L'âge moyen dans le 1<sup>er</sup> tercile était de 85,96 ans (+/- 8,68) et de 86 ans (+/- 7,22) dans le 3<sup>ème</sup> tercile.

*Tableau 2– Comparaison du 1<sup>er</sup> et du 3<sup>ème</sup> terciles sur les variables binaires à l'inclusion*

	Pop. Générale	1 <sup>er</sup> tercile	3 <sup>ème</sup> tercile	p-value (test du Khi-deux)
<b>SEXE FEMININ</b>	34 (48%)	10 (42%)	10 (42%)	0,317
<b>DENUTRITION</b>	34 (48%)	7 (29%)	15 (62%)	0,109
<b>ANEMIE</b>	23 (32%)	9 (38%)	7 (30%)	0,727
<b>INSUFFISANCE CARDIAQUE</b>	7 (10%)	1 (4%)	3 (12%)	0,515
<b>HTA</b>	33 (46%)	9 (37%)	12 (50%)	0,550
<b>DIABETE</b>	17 (24%)	4 (17%)	8 (33%)	0,383
<b>DOULEUR</b>	36 (51%)	12 (50%)	14 (58%)	0,593
<b>LAXATIFS</b>	47 (66%)	16 (67%)	15 (62%)	0,876

Tableau 3 – Comparaison du 1<sup>er</sup> et du 3<sup>ème</sup> terciles sur les variables non binaires à l'inclusion

	<i>Moyenne dans la population générale (+/- ds)</i>	<i>Moyenne du 1<sup>er</sup> tercile de diversité (+/- ds)</i>	<i>Moyenne du 3<sup>ème</sup> tercile de diversité (+/- ds)</i>	<i>p-value calculée avec le test t pour l'égalité des moyennes</i>
<b>Jours entre entrée en EHPAD et inclusion</b>	2026,13 (+/- 2339,38)	1588,54 (+/- 1902,51)	1536,50 (+/- 1091,39)	0,908
<b>Age</b>	85,45 (+/- 7,70)	85,96 (+/- 8,68)	86 (+/- 7,22)	0,986
<b>Taille</b>	1,59 (+/- 0,09)	1,61 (+/- 0,09)	1,60 (+/- 0,09)	0,647
<b>Poids</b>	57,31 (+/- 11)	61,09 (+/- 13,24)	53,72 (+/- 10,71)	0,053
<b>IMC</b>	22,06 (+/- 4,41)	22,84 (+/- 5,13)	20,49 (+/- 3,37)	0,104
<b>ADL</b>	0,831 (+/- 1,18)	0,85 (+/- 1,22)	0,68 (+/- 1,20)	0,632
<b>Charlson</b>	2,27 (+/- 0,94)	2,41 (+/- 1,06)	2,25 (+/- 0,85)	0,550
<b>Vitamine D</b>	20,20 (+/- 10,04)	18,21 (+/- 8,70)	21,66 (+/- 12,10)	0,338
<b>Fonction rénale selon CKD-EPI</b>	69,82 (+/- 19,89)	70,22 (+/- 23,72)	71,57 (+/- 18,20)	0,831
<b>Nombre de traitements</b>	4,72 (+/- 2,59)	4,58 (+/- 2,80)	4,96 (+/- 2,09)	0,602
<b>Nombre de classes thérapeutiques</b>	4,21 (+/- 2,31)	4,13 (+/- 2,53)	4,46 (+/- 1,84)	0,604

### 3) CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL : MORTALITE TOUTE CAUSE

Les analyses statistiques n'ont pas retrouvé de différence significative sur le critère de jugement principal de mortalité toutes causes confondues à 6 mois de l'inclusion entre nos deux terciles de diversité (tableau 4). Ainsi, dans le 1<sup>er</sup> tercile, 5 patients sur 24 (21%) étaient décédés à 6 mois, versus 4 sur 24 (17%) pour le 3<sup>ème</sup> tercile, avec une p-value égale à 1.

*Tableau 4 – Nombre de patients décédés à 6 mois de l'inclusion, analyse des variables non binaires entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> tercile*

	<i>Population Générale (N = 71)</i>	<i>1er tercile (n = 24)</i>	<i>3ème tercile (n = 24)</i>	<i>p-value (test du Khi-deux)</i>
<b>Nb de patients décédés à 6 mois</b>	12 (17%)	5 (21%)	4 (17%)	1.

La mortalité à 6 mois a aussi été évaluée à l'aide d'une analyse de la survie (Kaplan-Meier), effectuée à partir des données recueillies tous les 50 jours (figure 7). On ne notait là non plus, pas de différence significative entre les deux courbes de survie sur la période des 6 mois étudiés après l'inclusion ( $p = 0,7081$ ).

Par ailleurs, il n'y avait pas de différence significative en termes de mortalité dans les 5 années ayant suivi l'inclusion (cf. annexe 4 et 5). En effet, dans le premier tercile, la moyenne de survie à compter de l'inclusion était de 780,58 jours (écart type de 619,99 jours), versus 739,13 jours (écart type de 554,61 jours) dans le troisième tercile ( $p = 0,808$ ). Finalement, dans cette population, un bas niveau de diversité initial n'était pas corrélé avec une surmortalité.

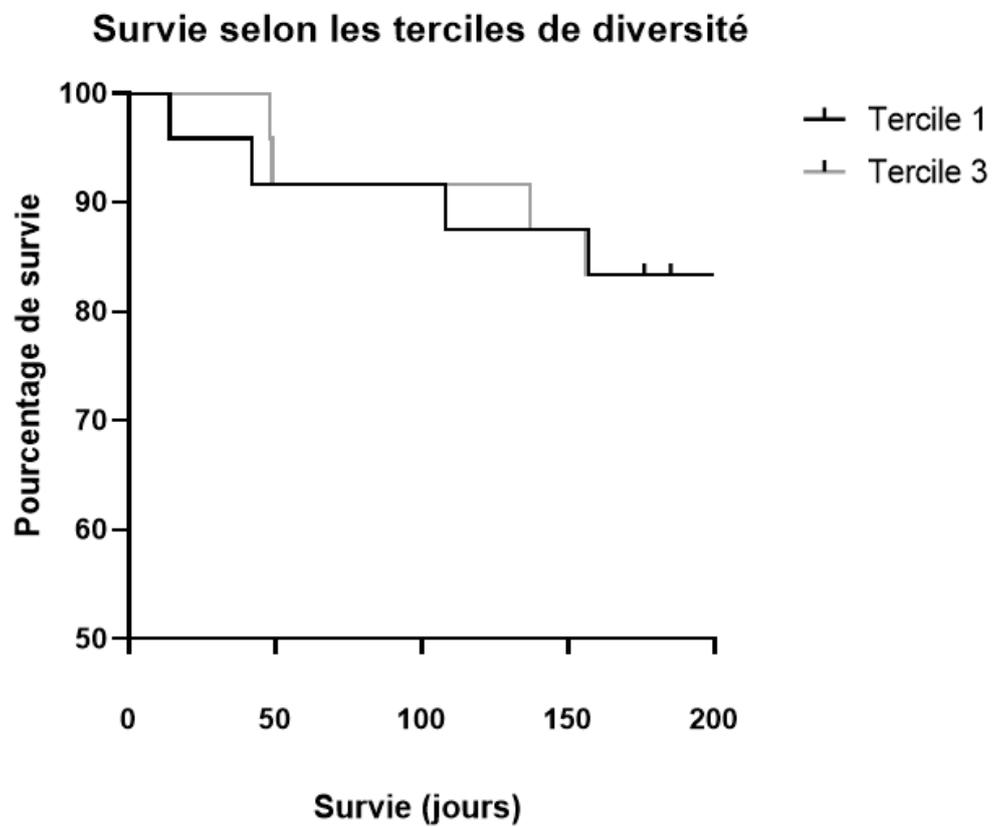


Figure 6 – Courbe de survie à 6 mois par analyse de Kaplan Meier ( $p = 0,708$ )

#### 4) CRITERES DE JUGEMENT SECONDAIRES : MORBIDITE, MICROBIOTE, EVALUATION DES VARIABLES GERIATRIQUES

##### *A – Morbidité*

Concernant l'un de nos critères de jugement secondaire, l'évaluation de la morbidité, nous n'avons pas réussi à obtenir de résultats significatifs sur les analyses descriptives comparatives (Tableau 5).

L'évolution de troubles neurocognitifs était appréciée par la consommation de neuroleptique (taux d'exposition) et de benzodiazépines (dose journalière en équivalent Diazépam et taux d'exposition) sur les deux semestres ayant suivi l'inclusion (période 1 = 0 à 6 mois après inclusion, période 2 = 6 à 12 mois après inclusion). Il ne semble pas y avoir de différence significative dans leur utilisation entre les deux terciles, quelles que soient la variable et la période évaluée.

Sur une même lancée et sur le même découpage temporel, la survenue d'évènements infectieux était évaluée par le nombre de cure d'antibiotiques, la dose définie journalière d'antibiotiques et le taux d'exposition sur chaque semestre. Aucun de ces critères n'était significativement différent entre les deux terciles, et pour chacune des périodes.

Pour finir, le troisième point de morbidité était la survenue d'épisode de décompensation cardiaque, appréciée par la consommation de Furosémide (dose journalière et taux d'exposition). Là encore, il ne semblait pas exister de différence significative entre les deux terciles de diversité, sur aucune des deux périodes. Il n'est donc pas survenu plus d'épisode de décompensation cardiaque dans un tercile ou dans l'autre.

In fine, il n'y avait pas d'association significative entre la diversité du microbiote de notre population âgée institutionnalisée en EHPAD à un instant T et les indices de morbidité tels que définis dans notre étude exploratoire.

*Tableau 5 – Analyse des différents facteurs de morbidité et comparaison des moyennes entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> tercile*

			<i>Moyenne population générale</i>	<i>Moyenne 1<sup>er</sup> tercile</i>	<i>Moyenne 3<sup>ème</sup> tercile</i>	<i>p-value (test t pour l'égalité des moyennes)</i>
<b>Evolution de troubles neurocognitifs</b>	<i>NLP</i>	Taux d'exposition période 1	0,28 (+/- 0,43)	0,36 (+/- 0,45)	0,29 (+/-0,46)	0,583
		Taux d'exposition période 2	0,21 (+/- 0,39)	0,19 (+/-0,40)	0,21 (+/-0,39)	0,881
	<i>BZD</i>	Dose journalière période 1	5,38 (+/- 10,03)	4,02 (+/- 8,36)	4,60 (+/-6,99)	0,797
		Dose journalière période 2	2,92 (+/- 6,08)	1,89 (+/- 4,46)	3,84 (+/-7,29)	0,272
		Taux d'exposition période 1	0,48 (+/- 0,47)	0,42 (+/- 0,47)	0,48 (+/-0,50)	0,668
		Taux d'exposition période 2	0,35 (+/- 0,44)	0,26 (+/- 0,42)	0,38 (+/-0,48)	0,396
<b>Evènements infectieux</b>	<i>ATB</i>	Nombre de cures d'antibiotiques période 1	0,61 (+/- 1,10)	0,42 (+/-0,65)	0,75 (+/-1,57)	0,341
		DDJ période 1	7,13 (+/- 14,08)	4,40 (+/-9,26)	9,58 (+/-19,46)	0,247
		Nombre de jours d'exposition à des antibiotiques période 1	4,39 (+/- 8,13)	3,38 (+/-6,23)	5,08 (+/-10,88)	0,508
		Nombre de cures d'antibiotiques période 2	0,44 (+/- 0,91)	0,58 (+/-1,02)	0,38 (+/-0,92)	0,462
		DDJ période 2	5,21 (+/- 11,56)	7,75 (+/-12,93)	3,60 (+/-10,70)	0,232
		Nombre de jours d'exposition à des antibiotiques période 2	3,45 (+/- 6,90)	5,38 (+/-8,40)	2,54 (+/-6,42)	0,195
<b>Décompensation cardiaque</b>	<i>Furosémide</i>	Dose journalière de furosémide période 1	2,60 (+/- 9,87)	2,22 (+/- 7,04)	4,39 (+/-15,04)	0,525
		Nombre de jours d'exposition au furosémide période 1	10,89 (+/- 37,64)	12,04 (+/-35,70)	15,25 (+/-51,67)	0,803
		Dose journalière de furosémide période 2	1,97 (+/- 7,41)	2,47 (+/- 8,91)	3,35 (+/- 9,04)	0,736
		Nombre de jours d'exposition au furosémide période 2	10,89 (+/- 40,04)	15 (+/-50,83)	17,21 (+/-46,02)	0,875

*NLP = neuroleptiques ; BZD = benzodiazépines ; ATB = antibiotiques ; Période 1 = de 0 à 6 mois après l'inclusion ; Période 2 = de 6 mois à 1 an après l'inclusion ; DDJ = dose définie journalière*

## B – Microbiote : unités taxonomiques opérationnelles et analyse taxonomique

### a. OTUs (unités taxonomiques opérationnelles)

Concernant les unités taxonomiques opérationnelles (OTUs), leur nombre n'était significativement pas différent. La moyenne du 1<sup>er</sup> tercile était de 424,17 (+/- 53,19) vs 432,40 (+/- 55,79) dans le 3<sup>ème</sup>, avoisinant celle de la population générale de 425,31 (+/- 51,62).

Tableau 6 – Moyenne des Unités Taxonomiques Opérationnelles dans la population générale et dans chacun des terciles de populations

	Moyenne population générale (+/- ds)	Moyenne du 1 <sup>er</sup> tercile (+/- ds) N = 24	Moyenne du 3 <sup>ème</sup> tercile (+/- ds) N = 24	p-value calculée avec le test t pour l'égalité des moyennes
<b>OTUs</b>	425,31 (+/- 51,62)	424,17 (+/- 53,19)	432,40 (+/- 55,79)	0,603

### b. Analyse taxonomique

Plusieurs analyses ont été faites en se basant sur la composition taxonomique des selles de nos patients.

On a comparé la composition taxonomique à l'inclusion entre les deux terciles, en se basant sur des données quantitatives (figure 7). On remarque que dans le groupe de diversité élevé, il y a une proportion plus importante des espèces *Clostridium perfringens* – phylum Firmicutes – et *Collinsella Tanakei* – phylum Actinobacteria (pour citer celles dont les ratios sont les plus forts) par rapport au 1<sup>er</sup> tercile. Dans le 1<sup>er</sup> tercile, se détachent *Porphyromonas Somerae* – phylum Porphyromonas (44) – et *Bacteroidales Bacterium* – phylum Bacteroidetes. Il n'y a pas d'indice de significativité associé à ces analyses.

Dans un deuxième temps, nous avons regardé chez les patients décédés à 6 mois quelle était l'espèce dominante à leur inclusion en comparaison aux patients de leur groupe non décédés à 6 mois. Chez les patients qui étaient décédés dans le 1<sup>er</sup> tercile, on retrouvait le *Ruminococcus Bicirculans* – phylum Firmicutes (annexe 7) en plus grande proportion, qui est également l'espèce retrouvée pour ceux du 3<sup>ème</sup> tercile (annexe 8). Si on mutualisait les données, parmi les décédés de la population générale c'était *Butyrivibrio Crossotus* – phylum Firmicutes – qui prédominait (annexe 6).

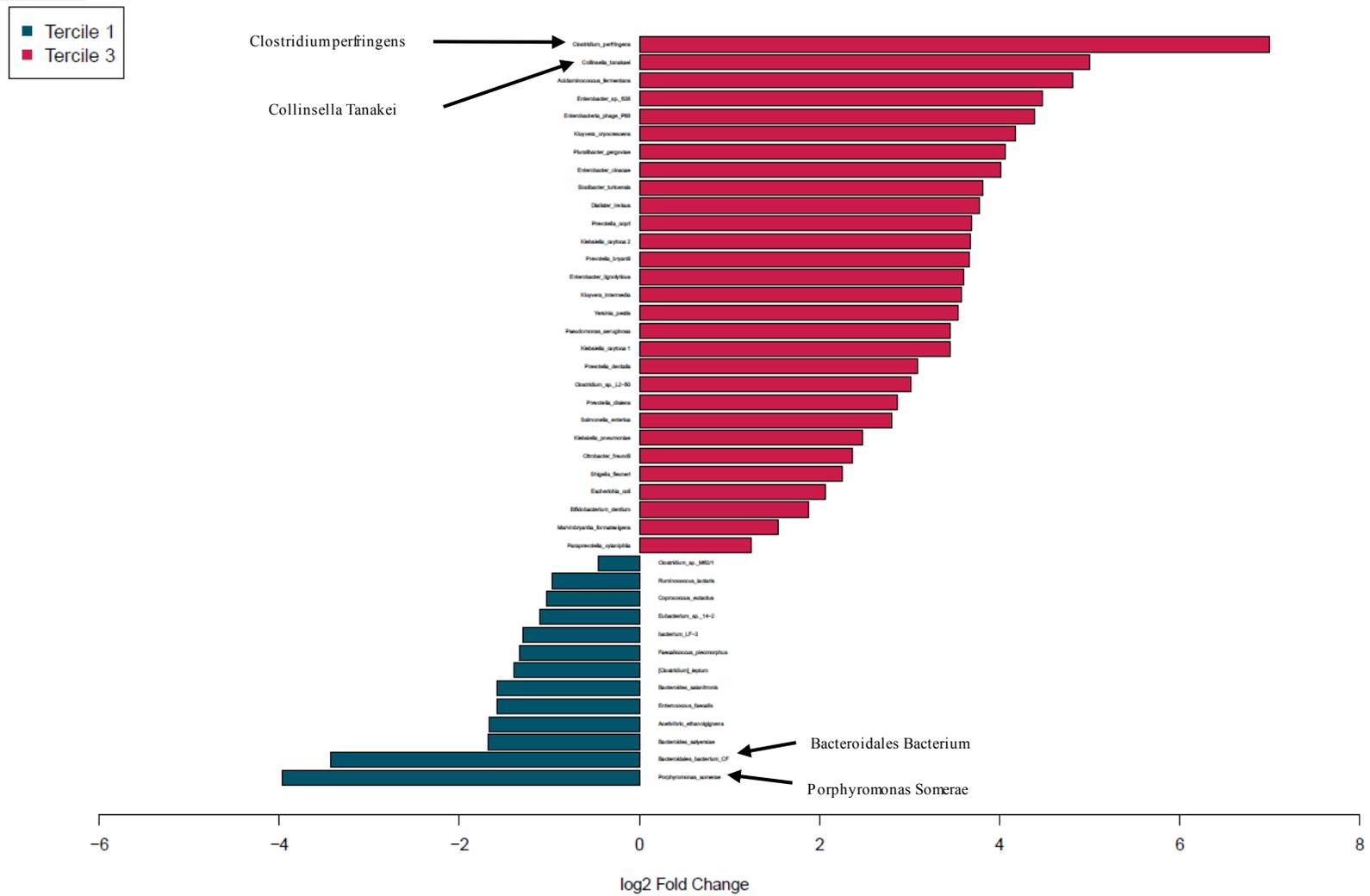


Figure 7 – Composition taxonomique entre les 2 groupes T1 et T3 à l'inclusion. T1 = tercile 1, T3 = tercile 3.

## C – Evolution des variables gériatriques

L'évolution de certaines variables gériatriques a été analysée dans cette étude exploratoire (Tableau 6). L'idée étant de comparer leurs évolutions, toujours entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> tercile de richesse microbienne, et toujours sur les deux périodes semestrielles suivant l'inclusion. La seule différence concernait la dénutrition à 6 mois ( $p = 0,049$ ). En effet 7/24 patients du 1<sup>er</sup> tercile, soit 29% (chiffre similaire à l'inclusion), et 14 patients du 3<sup>ème</sup> tercile, soit 58%, étaient dénutris.

Pour toutes les autres variables, les différences n'étaient pas significatives et ne permettaient pas d'associer l'évolution des variables gériatriques à des niveaux de richesses du microbiote.

*Tableau 6 – Evolution des variables gériatriques binaires et comparaison entre 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> tercile*

		Pop. Générale	1 <sup>er</sup> tercile	3 <sup>ème</sup> tercile	p-value
<b>DENUTRITION</b>	Dénutri à 6 mois	28 (39%)	7 (29%)	14 (58%)	0,049
	Dénutri à 1 an	30 (42%)	11 (46%)	10 (42%)	0,179
<b>DOULEUR</b>	Douleur à 6 mois	34 (48%)	11 (46%)	15 (62%)	0,159
	Douleur à 1 an	32 (45%)	10 (42%)	10 (42%)	0,707

*Tableau 7 – Evolution des variables gériatriques binaires et comparaison entre 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> tercile*

		Moyenne dans la Pop. générale	Moyenne 1 <sup>er</sup> tercile	Moyenne 3 <sup>ème</sup> tercile	p-value
<b>Autonomie</b>	ADL à 6 mois	0,627 (+/- 1,17)	0,90 (+/- 1,38)	0,313 (+/- 0,67)	0,72
	ADL à 1 an	0,333 (+/- 0,95)	0,46 (+/- 1,37)	0,261 (+/- 0,75)	0,557
<b>Iatrogénie</b>	Nombre de traitements à 6 mois	3,90 (+/- 2,82)	3,29 (+/- 2,61)	4,50 (+/- 2,89)	0,135
	Classes thérapeutiques à 6 mois	3,56 (+/- 2,49)	2,96 (+/- 2,20)	4,17 (+/- 2,62)	0,090
	Nombre de traitements à 1 an	3,37 (+/- 2,83)	2,71 (+/- 2,65)	3,79 (+/- 3,05)	0,195
	Classes thérapeutiques à 1 an	3,14 (+/- 2,62)	2,54 (+/- 2,41)	3,50 (+/- 2,78)	0,209

## IV – DISCUSSION

Cette étude exploratoire avait pour objectif principal d'étudier l'association entre diversité du microbiote et l'évolution de la morbi-mortalité de patients âgés vivant en EHPAD. En partant d'un groupe sélectionné aléatoirement de 110 patients, 72 ont finalement été inclus et analysés avec des données fiables du microbiote, nous permettant ainsi de créer 3 terciles selon la richesse du microbiote estimée par l'index de diversité Chao1. Le critère de jugement principal portait sur l'étude de l'association entre mortalité à 6 mois et diversité du microbiote. Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre les taux de mortalité des deux terciles de diversité. Concernant les critères de jugement secondaire, en dehors de la dénutrition à 6 mois, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux terciles, aussi bien sur les variables cliniques descriptives de morbidité que d'évaluation des paramètres gériatriques. En revanche, l'analyse taxonomique de la composition du microbiote retrouvait des espèces associées à la mortalité à 6 mois.

### 1) ASSOCIATION ENTRE MORBI-MORTALITE ET MICROBIOTE

Nous sommes confrontés à des résultats qui n'étaient pas ceux que nous attendions. En effet, concernant par exemple notre critère de jugement principal, la mortalité toute cause à 6 mois, nous n'avons obtenu aucune différence significative entre le 1<sup>er</sup> tercile de population (richesse du microbiote basse) et le 3<sup>ème</sup> tercile (richesse du microbiote élevée). Ceci contraste avec les conclusions de l'une des rares études analysant l'association entre mortalité et dysbiose, celle menée par Ticinesi *et al.* publiée en 2017 (11), qui avait réussi à mettre en évidence une surmortalité significative à 2 ans entre deux groupes de populations répartis selon leur indice d'alpha diversité Chao1 (figure 3, cf « dysbiose et mortalité »). Si l'on s'y penche d'un peu plus près, on remarque que d'une part leur population âgée est différente dans ses caractéristiques propres et que d'autre part le seuil retenu d'index Chao1 est beaucoup plus élevé que ceux que l'on retrouve dans notre étude exploratoire, témoin d'une hétérogénéité de diversité plus grande.

Au niveau des caractéristiques de population, les patients de la cohorte de Ticinesi étaient d'un âge de 83,3 +/- 7,5 ans, soit similaire aux nôtres, de 85,45 +/- 7,7 ans. Mais sur le reste des variables gériatriques, il semblerait que la population de Ticinesi présente moins de morbidités que la nôtre (bien qu'il soit difficile d'être formel puisque les index de comorbidités utilisés étaient différents) et on suppose plus autonome, puisque la voie de sélection des patients

était sensiblement différente (hospitalisation pour problématique médicale aiguë versus vivant en EHPAD). Par ailleurs, 100% des patients de notre cohorte étaient porteurs de troubles neurocognitifs, tout stade confondu, versus 35% dans la cohorte de Ticinesi *et al.* Concernant le seuil de Chao1 retenu par les auteurs pour faire leurs deux groupes de richesse de diversité du microbiote, celui-ci était de 1105. Dans notre population, seuls trois patients de la population totale avaient un index supérieur à cette limite. On fait donc le constat qu'en comparaison à la population de Ticinesi *et al.*, nous avons choisi d'étudier des patients plus fragiles et avec une diversité du microbiote beaucoup plus réduite. Par ailleurs, une autre étude, menée par Salosensaari *et al.* entre 2002 et 2017 (35), qui s'est elle aussi penchée sur cette association mortalité-microbiote, a réalisé un suivi prospectif, sur une durée de suivi d'en moyenne 14,8 ans. Leur population n'est en aucun point comparable à la nôtre puisque beaucoup plus jeune (moyenne d'âge de 49 ans). Mais il reste intéressant de voir qu'ils n'ont pas mis en évidence d'association entre mortalité et l'index d'alpha diversité (index de Shannon).

Finalement, nous faisons l'hypothèse que les caractéristiques de notre population, et son faible nombre, ne permettent pas de mettre en évidence une association entre microbiote et mortalité, notamment car cette population est globalement homogène (âge très avancé), avec un niveau de diversité très bas.

## 2) LE MICROBIOTE, UN BIOMARQUEUR DE FRAGILITE

Indépendamment de la mortalité, plusieurs études se sont intéressées au microbiote, en tant que biomarqueur de la morbidité et la fragilité des patients. Ainsi, l'étude de Jackson *et al.* (45) a mis en évidence une association significativement négative entre l'index de fragilité selon Rockwood et une alpha diversité diminuée (qu'elle ait été appréciée aussi bien par l'index de Shannon, de Simpson ou par les OTUs). O'toole et Jeffery (46) avancent le même postulat en 2015 dans le magazine Science et voit aussi dans le microbiote une biomarqueur de fragilité. Cette fragilité comprend par exemple le déclin des fonctions cognitives (cf. introduction pour le lien avec le microbiote, axe cerveau-intestin) ou la sarcopénie, due entre autres à l'augmentation des bactéries protéolytiques et une diminution des bactéries saccharolytiques (15). Ainsi il pourrait être intéressant de proposer une étude avec comme critère de jugement principal des indices de fragilité à associer avec la composition du microbiote, soit sur ses index de diversité microbienne soit sur sa composition taxonomique. En effet, outre la diversité, il s'avère que certaines études ont montré que certaines espèces en particulier étaient liées à la fragilité ou la mortalité, par exemple *Eubacterium dolichum* et *eggerthella lenta* dans l'étude de Jackson et al. (45).

### 3) MICROBIOTE ET NUTRITION

Finalement, le seul résultat qui est ressorti significatif dans notre étude concernait le statut nutritionnel à 6 mois, avec des patients significativement plus dénutris à 6 mois dans le groupe de 3<sup>ème</sup> tercile de richesse que dans le 1<sup>er</sup>. Ceci ramène sur le devant de la table une notion bien connue de tous : la place majeure du régime alimentaire, et par extension le statut nutritionnel comme reflet, et sa relation bidirectionnelle au microbiote intestinal (47).

Claesson et al. (17) ont fait une étude en 2012 sur la corrélation entre la composition du microbiote de 178 sujets âgés, de lieu de vie mixé entre communautaire et institutionnalisé, et leur régime alimentaire. Pour ce faire ils ont séparé les patients en 4 groupes, reflets de 4 types de régimes différents : 1 = pauvre en graisse/riche en fibres, 2 = modéré en graisse/riche en fibres, 3 = modéré en graisse/pauvre en fibres, 4 = riche en graisse/pauvre en fibres. Il est très intéressant et assez peu étonnant finalement de constater que les régimes 1 et 2 incluaient 98% des patients communautaires et que le 4 incluait 83 % des sujets institutionnalisés. Avec peu de surprise, les patients rattachés aux régimes 1 et 2 présentaient une plus grande diversité microbienne que ceux consommant le régime 4, avec une prédominance de *Firmicutes* (1), et par extension donc on peut extrapoler que les patients qui vivent encore à domicile ont un microbiote plus divers de par leur alimentation variée, à l'inverse des patients institutionnalisés. Ces derniers consomment des régimes riches en graisse, pauvre en fibres, et de surcroît souvent riches en sucres, qui sont associés à une augmentation de la production d'endotoxine systémique et d'inflammaging dans les modèles animaux (46) et à l'augmentation d'un entérotipe bactérien bien spécifique qui est les *Bacteroides* (1). On retrouve des informations concordantes dans l'article de synthèse de Bischoff (15).

Nous avons accordé au régime alimentaire une place peu centrale dans notre étude, en le considérant plutôt comme un facteur de confusion et en s'en affranchissant grâce au fait que nos patients étaient tous institutionnalisés dans la même structure, et partageaient donc le même mode alimentaire. Il s'avère que ce qu'on a supposé être un avantage a peut-être rendu notre population « trop » homogène et cela s'est avéré préjudiciable sur nos résultats puisqu'on ne s'attendait pas à trouver plus de patients dénutris dans le tercile le plus divers versus celui qui l'était moins. De surcroît, cette population trop uniforme n'est donc pas représentative de la population générale gériatrique, c'est-à-dire incluant celle qui vit encore à domicile.

#### 4) TAXONOMIE

A l'échelle taxonomique dans le critère de jugement secondaire, des espèces bactériennes se détachaient dans chacun des terciles à l'inclusion.

Pour le groupe 3<sup>ème</sup> tercile, duquel on pourrait attendre moins de morbidité du fait d'une plus grande diversité microbiotique, il y a une proportion plus importante de l'espèce *Clostridium perfringens*, qui est une espèce pathogène indiscutable, à croissance rapide connue pour sécréter plus de 20 toxines virulentes et intervenant dans la pathogenèse de plusieurs maladies intestinales importantes associées à l'homme : entérocolite nécrosante, diarrhées aiguës infectieuses etc. (56). Il y a aussi une proportion accrue de *Collinsella Tanakei*, qui est une espèce pro-inflammatoire régulièrement associée aux régimes riches en glucides et pauvres en protéines (57), ce qui se rapproche des régimes de nos patients en EHPAD. La présence de cette bactérie est donc plutôt cohérente et il n'est pas étonnant finalement de la retrouver dans nos échantillons.

Dans le 1<sup>er</sup> tercile, se détache *Porphyromonas Somerae* qui est une espèce relativement sous-étudiée retrouvée au niveau vaginal, suspecte d'intervenir dans la progression des cancers utérins (58), et également au niveau de la sphère ORL puisque retrouvée chez des patients atteints d'otites chroniques ou de cancer de la bouche (44). Il existe également *Bacteroidales Bacterium* qui compose la majorité des bactéries Gram négatif du colon humain, à l'origine de la sécrétion de toxines de contact appelées T6SS, s'opposant à la présence d'*E. Coli* symbiotiques et favorisant l'adhésion de bactéries *E. Coli* pathogènes (59). Ce sont donc deux espèces « pro-pathogènes ». Il n'est pas possible avec les données cliniques que nous avons recueillies, de faire des rapprochements avec les données de littérature concernant *Porphyromonas Somerae*, puisque nous n'avons pas de données concernant l'apparition d'éventuelles pathologies néoplasiques de la sphère gynécologique ou ORL. Vis-à-vis de *Bacteroidales Bacterium*, nous n'avons pas mis en évidence dans notre étude exploratoire de consommation augmentée d'antibiotiques sur l'année après l'inclusion, qui aurait pu être le reflet de sa pathogénicité.

Chez les patients qui étaient décédés à 6 mois dans le 1<sup>er</sup> tercile et le 3<sup>ème</sup> tercile, en comparaison de ceux non décédés dans le même groupe à 6 mois, on retrouvait à leur inclusion une plus grande proportion de *Ruminococcus Bicirculans*. Zhuang *et al.* ont prouvé dans une étude portant sur la comparaison taxonomique du microbiote intestinal de 43 patients porteurs de la maladie d'Alzheimer versus 43 patients sains, une augmentation de la prévalence de

*Ruminococcus* (31). Cette espèce est connue comme potentiellement impliquée dans l'activité immunitaire, car corrélée directement et indirectement avec la régulation d'interleukines, principaux inducteurs de la différenciation des cellules Th1 et Th2, et donc plutôt des valences pro-inflammatoires (60).

Si on regardait le même paramètre parmi les décédés de la population générale c'était *Butyrivibrio Crossotus* qui se démarquait chez le groupe de patients décédés. Luan *et al.* (61) ont repéré cette espèce bactérienne lors d'un suivi longitudinal et dynamique de la composition du microbiote chez des patients âgés centenaires, avec recueil de selles tous les 3 mois. Notre résultat est contradictoire avec le leur, puisque dans leur population, *Butyrivibrio Crossotus* diminuait significativement avant la mort de leurs patients, alors que dans notre population c'était l'espèce qui prédominait chez les patients qui décédaient 6 mois plus tard. Une hypothèse que l'on avance est que, âgé de plus de 100 ans, leurs patients étaient de manière logique probablement moins comorbides que les nôtres pour atteindre cet âge, ce qui constitue un biais de confusion important.

## 5) PERSPECTIVES D'EVOLUTION

A l'ère de la médecine personnalisée, découvrir de nouveaux biomarqueurs est toujours intéressant. Si dans un futur proche les techniques d'analyse du microbiote/microbiome se généralisaient et devenaient accessibles, aussi bien techniquement que financièrement, et que l'on met sur pied un modèle statistique fiable d'association de morbi-mortalité avec la richesse ou composition du microbiote, il serait intéressant de s'en servir pour adapter le suivi au profil de chaque patient.

Après avoir fait le constat, dans la littérature, de toutes ces interactions et connexions entre le microbiote et les autres organes, on a compris que certains états pathogènes sont entre autres influencés par un déséquilibre dans le microbiote intestinal. Il est licite de regarder désormais ce qu'il se passe quand on tente d'influer sur celui-ci. La restauration d'un microbiote intestinal équilibré a prouvé que c'était un outil intéressant en aidant à rétablir l'homéostasie intestinale (48), et cela peut se faire par différents moyens.

En premier lieu il existe les pré/pro/symbiotiques (34), simple d'utilisation car leur prise se fait per os. Les prébiotiques sont des fibres alimentaires non digestibles qui sélectionnent la croissance et l'activité de certains microbes, ce ne sont pas les plus étudiés actuellement. Les probiotiques, faisant l'objet de plus de recherche, sont un ensemble de micro-organismes vivant, souvent conditionnés sous forme de gélules, qui procure un bénéfice à l'hôte s'ils sont ingérés en quantités adéquates. Les espèces qui le constituent ne sont pas fixes, souvent multiples mais parfois uniques elles dépendent de l'objet d'intérêt de l'étude, de la souche étudiée. Quant aux symbiotiques, c'est une association à la fois de pré et de probiotiques, ils sont également peu étudiés en comparaison aux probiotiques.

Le but attendu est de rétablir la balance homéostasique avec l'hôte en ingérant ces compléments : diminuer les espèces pro-inflammatoires et les espèces pathogènes au profit des espèces à tendance anti-inflammatoire, avec les conséquences sur les axes que l'on a décrit dans l'introduction. Cela a déjà prouvé des bénéfices significatifs sur les fonctions cognitives de modèles murins et on essaie désormais d'étendre ces résultats à l'homme. Certaines études, citées après, ont mis en évidence une amélioration des scores de tests cognitifs après la prise de probiotiques, dans la maladie d'Alzheimer par exemple, même si les preuves n'en sont encore qu'à un stade débutant et nécessitent des explorations complémentaires pour envisager des objectifs à grande échelle. La méta-analyse de Den *et al.* (49), publiée en 2020 dans *Aging* fait état de 5 études randomisées, en double aveugle, contre placebo dont l'objectif principal était de prouver l'amélioration des fonction cognitives après une cure de douze semaines de

probiotiques. Trois d'entre elles (50–52) avaient recruté des patients atteints de maladie d'Alzheimer et deux autres des troubles cognitifs légers/modérés non étiquetés (53,54). L'étude d'Agahi et al. (50) ne retrouvait pas de différences significatives sur les tests cognitifs ni sur les marqueurs d'inflammation choisis en critère de jugement secondaire. Pour Akbari et al. (51) et Tamtaji *et al.* (52) par contre, le score MMSE s'est amélioré de manière significative et il a été mis en évidence des variations significatives dans les taux sériques de marqueurs d'oxydation/inflammation. Pour les deux études qui s'attachaient à étudier les troubles cognitifs légers, sans distinction de diagnostic, il existait une amélioration significative des performances cognitives (53,54), avec la petite subtilité pour l'équipe de Kobayashi et al. (54) que les scores cognitifs étaient augmentés pour les deux groupes à la fin des trois mois, sans différence significative, mais qu'après stratification, il existait une différence significative suite à la cure de probiotiques sur la sous-section qui étudiait la mémoire immédiate. Les résultats sont encore discordants et nécessiteraient des évaluations à plus grande échelle, en essayant de trouver la meilleure combinaison de souches bactériennes, en nombre suffisant, et sur la durée la plus adéquate. Une donnée sur laquelle les études s'accordent, c'est que les bénéfices ne sont pas retrouvés, ou alors trop difficiles à mettre en évidence, aux stades trop avancés des troubles cognitifs. Il serait intéressant de questionner une administration plus précocement dans la maladie et peut-être sur une plus longue durée. Les probiotiques constitueraient par le futur une stratégie thérapeutique abordable avec une sécurité d'emploi non négligeable pour nos patients âgés, déjà poly-médiqués et poly-comorbides pour la plupart (49).

Une autre manière de restaurer un microbiote intestinal équilibré, mais peut-être plus drastique, est la transplantation fécale. Cette méthode thérapeutique a récemment attiré l'attention, surtout avec le traitement de l'infection à *Clostridium Difficile*, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et l'autisme. L'équipe de Kim *et al.* (55) l'a testée sur des modèles murins de maladie d'Alzheimer. Dans cette étude finalement, le fait d'effectuer une transplantation fécale du microbiote d'une souris sauvage dans l'intestin d'une souris modèle Alzheimer permettait d'alléger quantitativement la formation des plaques Beta amyloïdes et de protéine Tau. Il n'y a cependant pas eu d'évaluation de tests neurocognitifs dans cette étude. Il faudra projeter sur des modèles humains ces expériences afin d'en voir les bénéfices.

## 6) LIMITES DE L'ETUDE

Comme détaillée ci-dessus dans la partie « association entre morbi-mortalité et microbiote », notre population était « trop » homogène, aussi bien dans le poids de leurs comorbidités que dans leur indice d'alpha diversité et il était donc compliqué de faire ressortir des résultats significatifs. La population sélectionnée, de patients âgés vivant en EHPAD, n'est peut-être pas la plus appropriée à l'étude de facteurs de morbidité, bien que les données les concernant soient facile d'accès dans notre cas.

L'autre biais principal : il s'agit d'une étude rétrospective. Ainsi toutes les données récoltées l'ont été a posteriori, et il existe, au degré souhaité le plus bas possible, un biais de mesure. En effet, toutes les appréciations de la morbidité, compte tenu de l'absence de recueil prospectif, ont été faites de manière indirecte par la quantification des traitements pris. Bien que cela soit la manière la plus objective que nous ayons trouvée d'apprécier la variable morbidité, il faut admettre que toutes les prescriptions de ces traitements répondaient à l'évaluation subjective d'un praticien médical et que nous n'avions pas de regard direct sur les critères cliniques que nous souhaitions au mieux approcher. C'est un moyen d'étude de qualité plus faible, le seul accessible a posteriori pour nous, mais qui permet cependant de mettre en avant quelques grandes idées et ainsi nous pousser à vouloir explorer de manière plus précise cette question de l'association de la diversité du microbiote avec les données de morbi-mortalité chez le sujet âgé.

De plus, par manque de moyen humain et du fait d'un temps de recueil de données limité, il a fallu une sélection drastique des traitements que l'on jugeait pertinent à répertorier, soit comme reflet de la morbidité. La liste était donc très épurée, analysée en catégories médicamenteuses. Cela rend l'analyse plutôt spartiate et peu fine (par exemple : prise en compte seulement du furosémide pour les décompensations cardiaques, antibiotiques non distingués par classes mais analysés en DDJ, taux d'exposition aux neuroleptiques sans distinction moléculaire), les biais de confusion peuvent être nombreux. Cela est d'autant plus vrai et réducteur pour l'évaluation des troubles neurocognitifs, dont l'évolution s'atteste normalement par la réalisation de tests neurocognitifs normés, trop peu de patients s'étaient vu proposer ce test dans les dates de l'étude. D'autre part nous n'avons pas pris en compte toutes les traitements non médicamenteuses (observation de soignants, contention physique etc.) dans l'évaluation de leur évolution, trop complexes à répertorier et souvent non existant, cela constitue là aussi un

biais car il existe beaucoup de combinaisons thérapeutiques parfois non accessibles aux traitements médicamenteux.

La récolte des échantillons de selles s'est faite à un instant T, photographie suspendue de la composition du microbiote à un moment donné, alors que l'on sait la rapidité d'évolution et de changement du paysage microbiotique selon le mode de vie, les traitements pris (cf. introduction), cette limite est bien connue des chercheurs (28). Il faudrait idéalement un modèle de suivi plus dynamique, avec des recueils de selles plus réguliers qui nous permettrait d'obtenir un monitoring des indices de diversité et ainsi pouvoir cibler plus facilement les facteurs influençant ceux-ci.

Quand bien même nous aurions obtenu des résultats significatifs, nous n'aurions pas pu extrapoler avec fiabilité nos résultats à la population âgée de manière générale puisque la validité externe n'a pas été vérifiée avec la population âgée communautaire (vivant encore à domicile). On suppose en plus, que si on le faisait, cette validité externe serait manquante puisque la population âgée communautaire présente des caractéristiques très différentes : moins de troubles cognitifs, un régime alimentaire complètement différent, moins comorbide, moins poly-médiquée, plus autonome, ainsi qu'une alpha diversité de base plus grande (62).

## V – CONCLUSION

La place du microbiote intestinal dans de multiples phénomènes physiopathologiques n'est aujourd'hui plus à débattre. Sa composition et sa biodiversité font désormais partie intégrante des démarches de réflexion sur les mécanismes d'apparition, d'évolution de pathologies liées au vieillissement (pathologies cardiovasculaires, épisodes infectieux, aggravation de troubles neurocognitifs).

Dans cette étude exploratoire, qui a l'avantage de s'interroger sur un sujet en plein essor, nous n'avons pas réussi à attester qu'un index d'alpha diversité bas est corrélé avec la mortalité à 6 mois. Même constat pour les critères de morbidité que nous avons choisis. Le seul résultat significatif concernait la dénutrition majorée à 6 mois dans le 3<sup>ème</sup> tercile de richesse, ce qui nous rappelle la place centrale de la nutrition.

A l'échelle taxonomique, chez les patients qui étaient décédés à 6 mois dans le 1<sup>er</sup> tercile et le 3<sup>ème</sup> tercile, on retrouvait une plus grande proportion de *Ruminococcus Bicirculans*, espèce connue pro-inflammatoire et associée dans certaines études à la maladie d'Alzheimer. Pour les autres espèces mises en évidence, les résultats sont plus controversés en comparaison aux données de la littérature.

Notre étude manquait de puissance et présentait des limites, mais au vu des données de la littérature, il nous semble réellement possible de nous projeter dans l'utilisation des données du microbiote comme biomarqueur prédictif ou pronostic de morbi-mortalité et de fragilité. Dans cette optique, une meilleure adaptation du suivi pourrait être proposée, avec tous les avantages que cela comporte : meilleure gestion des traitements, moins de réhospitalisations, moins de décompensations d'organe. Ces données se vérifient de plus en plus dans la littérature et constituent un espoir pour l'avenir, alors que l'on commence à considérer ce microbiote intestinal comme une cible préventive et thérapeutique d'intérêt majeur, avec les études sur les probiotiques ou la transplantation fécale.

Tout l'intérêt d'explorer cette piste est qu'en influant sur le microbiote on pourra à terme peut-être ralentir l'évolution et au plus utopique empêcher l'apparition de comorbidités, liées de manière inéluctable au vieillissement, et toutes leurs conséquences : perte d'autonomie, décès prématurés, polymédication, institutionnalisation, consommation en soin. Il s'agit non pas seulement d'un enjeu médical mais également socio-économique majeur, et ce au niveau mondial puisque le vieillissement de la population est planétaire et ne concerne aujourd'hui plus seulement les pays développés.

## VI – ANNEXES

*Annexe 1 : Grille AGGIR*  
*Issue du protocole CERFA N°14732\*03*

Données sur l'autonomie		A <sup>1</sup>	B <sup>2</sup>	C <sup>3</sup>
<b>Transferts (se lever, s'asseoir, se coucher)</b>				
<b>Déplacement</b>	<b>À l'intérieur</b>			
	<b>À l'extérieur</b>			
<b>Toilette</b>	<b>Haut</b>			
	<b>Bas</b>			
<b>Elimination</b>	<b>Urinaire</b>			
	<b>Fécale</b>			
<b>Habillage</b>	<b>Haut</b>			
	<b>Moyen</b>			
	<b>Bas</b>			
<b>Alimentation</b>	<b>Se servir</b>			
	<b>Manger</b>			
<b>Alerter</b>				
<b>Orientation</b>	<b>Temps</b>			
	<b>Espace</b>			
<b>Cohérence</b>	<b>Communication</b>			
	<b>Comportement</b>			

<sup>1</sup> A = fait seul les actes quotidiens : spontanément, et totalement, et habituellement, et correctement.

<sup>2</sup> B = fait partiellement : non spontanément, et/ou partiellement, et/ou non habituellement, et/ou non correctement.

<sup>3</sup> C = ne fait pas : ni spontanément, ni totalement, ni habituellement, ni correctement.

<sup>4</sup> Idées délirantes ; hallucinations ; agitation/agressivité ; dépression/dysphorie ; anxiété ; exaltation de l'humeur/dysphorie ; apathie/indifférence ; désinhibition ; irritabilité/instabilité de l'humeur ; comportement moteur aberrant ; sommeil ; appétit. (HAS - Inventaire neuropsychiatrique).

Annexe 2 : Index ADL  
Établi en 1963 par Katz et al. (41)

Table 2.—Evaluation Form

Name..... Date of evaluation.....

For each area of functioning listed below, check description that applies. (The word "assistance" means supervision, direction of personal assistance.)

**Bathing**—either sponge bath, tub bath, or shower.

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Receives no assistance (gets in and out of tub by self if tub is usual means of bathing)	Receives assistance in bathing only one part of the body (such as back or a leg)	Receives assistance in bathing more than one part of the body (or not bathed)

**Dressing**—gets clothes from closets and drawers—including underclothes, outer garments and using fasteners (including braces if worn)

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gets clothes and gets completely dressed without assistance	Gets clothes and gets dressed without assistance except for assistance in tying shoes	Receives assistance in getting clothes or in getting dressed, or stays partly or completely undressed

**Toileting**—going to the "toilet room" for bowel and urine elimination; cleaning self after elimination, and arranging clothes

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Goes to "toilet room," cleans self, and arranges clothes without assistance (may use object for support such as cane, walker, or wheelchair and may manage night bedpan or commode, emptying same in morning)	Receives assistance in going to "toilet room" or in cleansing self or in arranging clothes after elimination or in use of night bedpan or commode	Doesn't go to room termed "toilet" for the elimination process

**Transfer**—

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Moves in and out of bed as well as in and out of chair without assistance (may be using object for support such as cane or walker)	Moves in or out of bed or chair with assistance	Doesn't get out of bed

**Continence**—

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Controls urination and bowel movement completely by self	Has occasional "accidents"	Supervision helps keep urine or bowel control; catheter is used, or is incontinent

**Feeding**—

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Feeds self without assistance	Feeds self except for getting assistance in cutting meat or buttering bread	Receives assistance in feeding or is fed partly or completely by using tubes or intravenous fluids

Annexe 3: Score de Charlson

Issu de l'article "A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies : development and validation", Charlson et al. (42)

Table 3. Weighted index of comorbidity

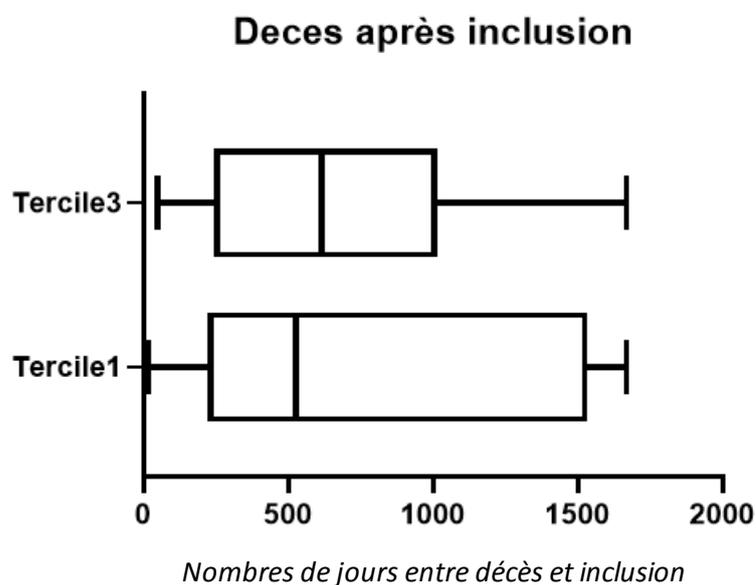
Assigned weights for diseases	Conditions
1	Myocardial infarct Congestive heart failure Peripheral vascular disease Cerebrovascular disease Dementia Chronic pulmonary disease Connective tissue disease Ulcer disease Mild liver disease Diabetes
2	Hemiplegia Moderate or severe renal disease Diabetes with end organ damage Any tumor Leukemia Lymphoma
3	Moderate or severe liver disease
6	Metastatic solid tumor AIDS

Assigned weights for each condition that a patient has. The total equals the score. Example: chronic pulmonary (1) and lymphoma (2) = total score (3).

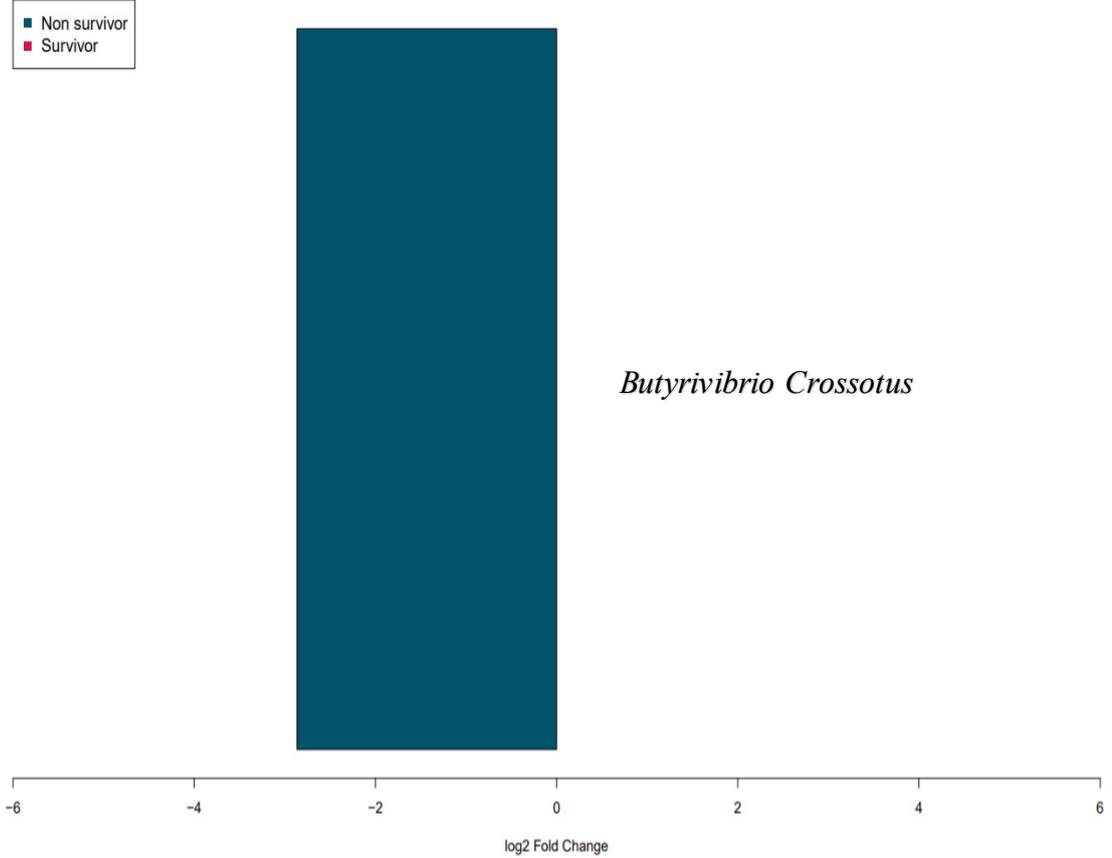
Annexe 4 – Analyse statistique de la différence entre les moyennes de jours entre inclusion dans l'étude et date du décès entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> tercile

	Moyenne population générale (+/- ds)	Moyenne 1er tercile (+/- ds)	Moyenne 3ème tercile (+/- ds)	p-value calculée avec le test t pour l'égalité des moyennes
<b>Jours entre inclusion et décès toute cause dans les 5 ans</b>	817,37 (+/- 604,50)	780,58 (+/- 619,98)	739,13 (+/- 554,61)	0,808

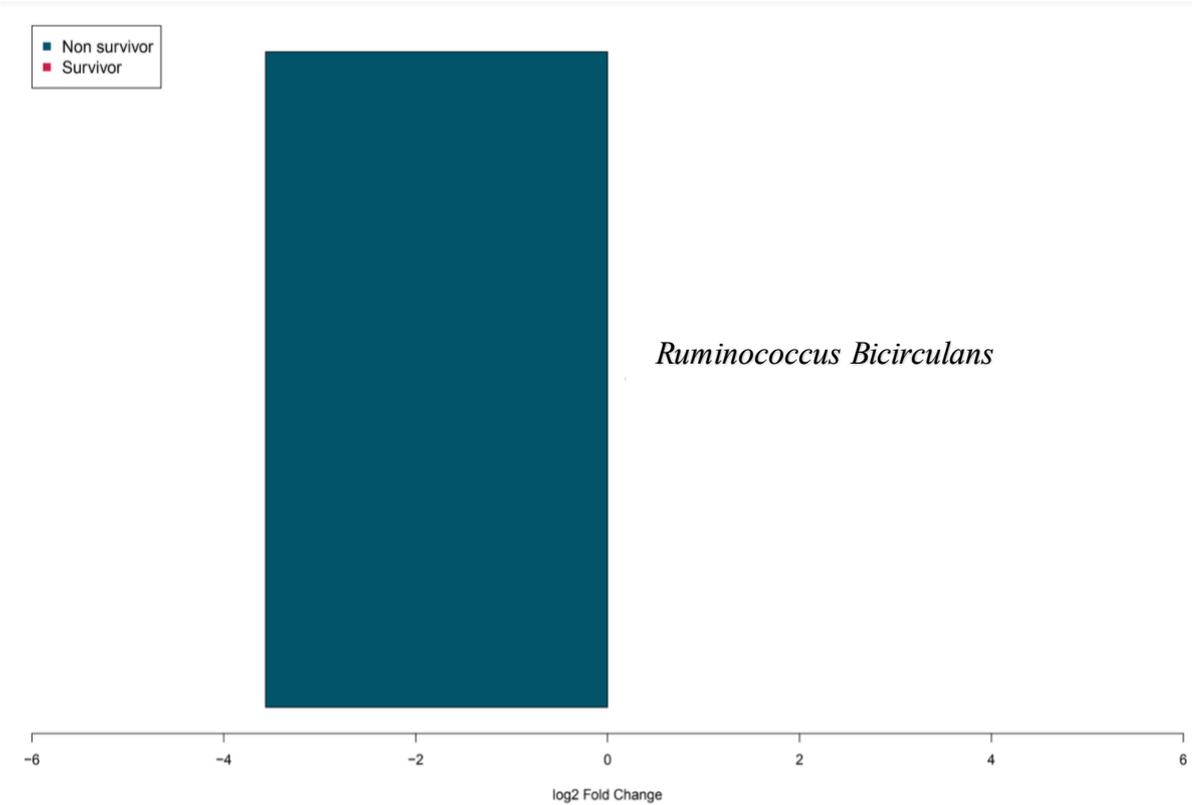
Annexe 5 – Graphe en barre illustrant l'absence de différence significative sur la variable « jours entre inclusion et décès », entre le 1er et le 3ème tercile



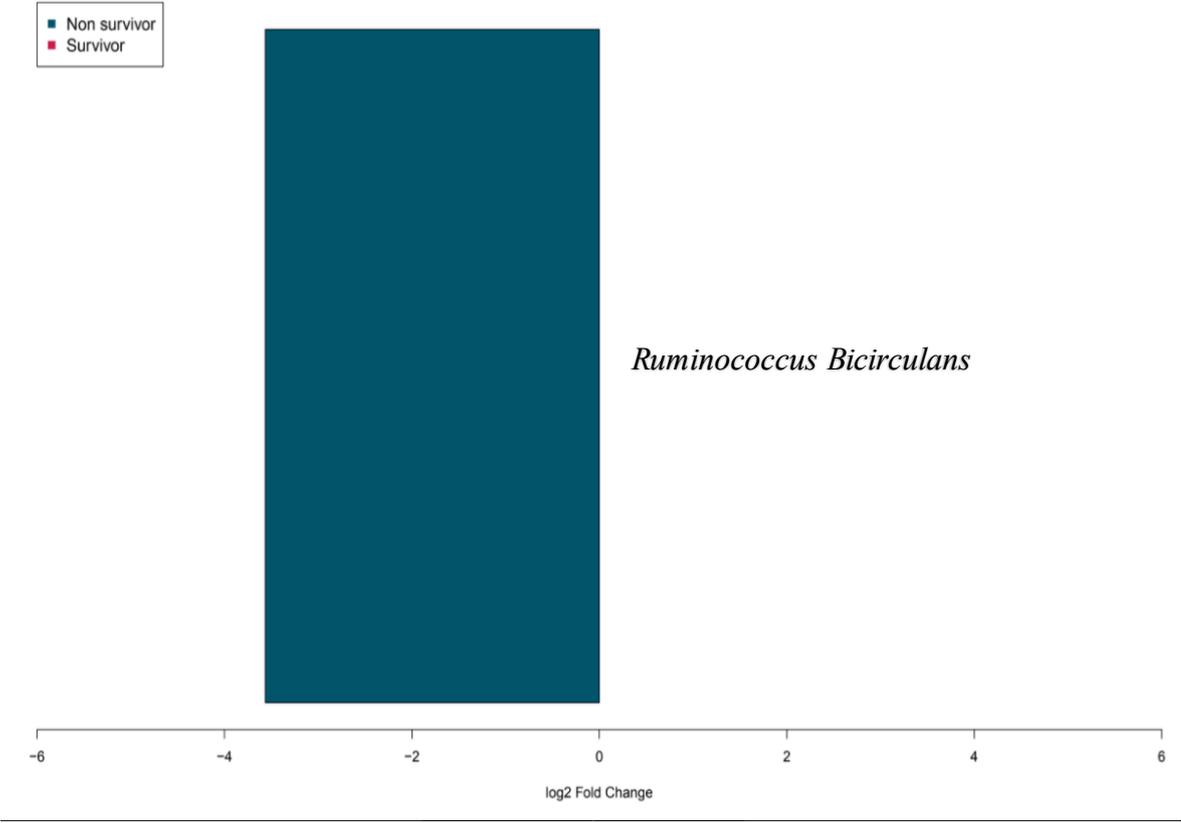
Annexe 6 – Espèce dominante chez les patients décédés à 6 mois versus non décédés dans la population générale



Annexe 7 – Espèce dominante chez les patients décédés à 6 mois versus non décédés dans le 1<sup>er</sup> tercile



Annexe 8 – Espèce dominante chez les patients décédés à 6 mois versus non décédés dans le 3ème tercile



## VII – BIBLIOGRAPHIE

1. Peterson CT, Sharma V, Elmén L, Peterson SN. Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. *Clin Exp Immunol.* mars 2015;179(3):363- 77.
2. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* août 2016;14(8):e1002533.
3. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature.* sept 2012;489(7415):220- 30.
4. Man AL, Gicheva N, Nicoletti C. The impact of ageing on the intestinal epithelial barrier and immune system. *Cell Immunol.* juin 2014;289(1- 2):112- 8.
5. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev.* juill 2010;90(3):859- 904.
6. Jackson MA, Verdi S, Maxan M-E, Shin CM, Zierer J, Bowyer RCE, et al. Gut microbiota associations with common diseases and prescription medications in a population-based cohort. *Nat Commun.* 9 juill 2018;9(1):2655.
7. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. *Pediatrics.* 1 août 2006;118(2):511- 21.
8. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLOS Biol.* 26 juin 2007;5(7):e177.
9. Odamaki T, Kato K, Sugahara H, Hashikura N, Takahashi S, Xiao J, et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiol.* 25 mai 2016;16(1):90.
10. Claesson MJ, Cusack S, O’Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci.* 15 mars 2011;108(Supplement\_1):4586- 91.
11. Ticinesi A, Milani C, Lauretani F, Nouvenne A, Mancabelli L, Lugli GA, et al. Gut microbiota composition is associated with polypharmacy in elderly hospitalized patients. *Sci Rep.* 11 sept 2017;7(1):11102.
12. Nagpal R, Mainali R, Ahmadi S, Wang S, Singh R, Kavanagh K, et al. Gut microbiome and aging: Physiological and mechanistic insights. *Nutr Healthy Aging.* 4(4):267- 85.
13. Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science.* 29 avr 2016;352(6285):560- 4.
14. Ticinesi A, Tana C, Nouvenne A, Prati B, Lauretani F, Meschi T. Gut microbiota, cognitive frailty and dementia in older individuals: a systematic review. *Clin Interv Aging.* 29 août 2018;13:1497- 511.

15. Bischoff SC. Microbiota and aging: *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. janv 2016;19(1):26- 30.
16. Brown E, Tanner C, Goldman S. The Microbiome in Neurodegenerative Disease. *Curr Geriatr Rep*. 1 juin 2018;7.
17. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, Power SE, O'Connor EM, Cusack S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*. 9 août 2012;488(7410):178- 84.
18. Flowers SA, Evans SJ, Ward KM, McInnis MG, Ellingrod VL. Interaction Between Atypical Antipsychotics and the Gut Microbiome in a Bipolar Disease Cohort. *Pharmacotherapy*. mars 2017;37(3):261- 7.
19. Maurice CF, Haiser HJ, Turnbaugh PJ. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell*. 17 janv 2013;152(1- 2):39- 50.
20. Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cell Microbiol*. juill 2014;16(7):1024- 33.
21. Wilson ID, Nicholson JK. Gut microbiome interactions with drug metabolism, efficacy, and toxicity. *Transl Res J Lab Clin Med*. janv 2017;179:204- 22.
22. Weiss GA, Hennet T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell Mol Life Sci CMLS*. août 2017;74(16):2959- 77.
23. Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, Zeller G, Telzerow A, Anderson EE, et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature*. 29 mars 2018;555(7698):623- 8.
24. Rogers GB, Keating DJ, Young RL, Wong M-L, Licinio J, Wesselingh S. From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways. *Mol Psychiatry*. juin 2016;21(6):738- 48.
25. Le Bastard Q, Al-Ghalith GA, Grégoire M, Chapelet G, Javaudin F, Dailly E, et al. Systematic review: human gut dysbiosis induced by non-antibiotic prescription medications. *Aliment Pharmacol Ther*. févr 2018;47(3):332- 45.
26. Vich Vila A, Collij V, Sanna S, Sinha T, Imhann F, Bourgonje AR, et al. Impact of commonly used drugs on the composition and metabolic function of the gut microbiota. *Nat Commun*. 17 janv 2020;11(1):362.
27. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenescence. *Ann NY Acad Sci*. 25 janv 2006;908(1):244- 54.
28. Badal VD, Vaccariello ED, Murray ER, Yu KE, Knight R, Jeste DV, et al. The Gut Microbiome, Aging, and Longevity: A Systematic Review. *Nutrients*. 7 déc 2020;12(12).
29. Verdi S, Jackson MA, Beaumont M, Bowyer RCE, Bell JT, Spector TD, et al. An Investigation Into Physical Frailty as a Link Between the Gut Microbiome and Cognitive

- Health. *Front Aging Neurosci* [Internet]. 2018 [cité 5 juin 2021];10. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnagi.2018.00398/full>
30. Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, Harding SJ, Merluzzi AP, Johnson SC, et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Sci Rep*. 19 oct 2017;7(1):13537.
  31. Zhuang Z-Q, Shen L-L, Li W-W, Fu X, Zeng F, Gui L, et al. Gut Microbiota is Altered in Patients with Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis JAD*. 2018;63(4):1337- 46.
  32. Quigley EMM. Microbiota-Brain-Gut Axis and Neurodegenerative Diseases. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 17 oct 2017;17(12):94.
  33. Fung TC, Olson CA, Hsiao EY. Interactions between the microbiota, immune and nervous systems in health and disease. *Nat Neurosci*. févr 2017;20(2):145- 55.
  34. Suganya K, Koo B-S. Gut-Brain Axis: Role of Gut Microbiota on Neurological Disorders and How Probiotics/Prebiotics Beneficially Modulate Microbial and Immune Pathways to Improve Brain Functions. *Int J Mol Sci*. 13 oct 2020;21(20):E7551.
  35. Salosensaari A, Laitinen V, Havulinna AS, Meric G, Cheng S, Perola M, et al. Taxonomic signatures of cause-specific mortality risk in human gut microbiome. *Nat Commun*. 11 mai 2021;12(1):2671.
  36. Population structure and ageing [Internet]. [cité 13 août 2021]. Disponible sur: [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Population\\_structure\\_and\\_ageing](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Population_structure_and_ageing)
  37. Le Bastard Q, Chapelet G, Birgand G, Hillmann BM, Javaudin F, Hayatgheib N, et al. Gut microbiome signatures of nursing home residents carrying Enterobacteria producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Resist Infect Control*. 14 juill 2020;9:107.
  38. benzo.org.uk : Benzodiazepine Equivalence Table [Internet]. [cité 15 août 2021]. Disponible sur: <https://www.benzo.org.uk/bzequiv.htm>
  39. SANT4 - Bulletin Officiel N°2006-4: Annonce N°20 [Internet]. [cité 15 août 2021]. Disponible sur: <https://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2006/06-04/a0040020.htm>
  40. Alexandre P. Haute Autorité de santé. 2019;25.
  41. Katz S, Ford AB, Moskowitz RW, Jackson BA, Jaffe MW. STUDIES OF ILLNESS IN THE AGED. THE INDEX OF ADL: A STANDARDIZED MEASURE OF BIOLOGICAL AND PSYCHOSOCIAL FUNCTION. *JAMA*. 21 sept 1963;185:914- 9.
  42. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. *J Chronic Dis*. janv 1987;40(5):373- 83.
  43. Gnjjidic D, Hilmer SN, Blyth FM, Naganathan V, Waite L, Seibel MJ, et al. Polypharmacy cutoff and outcomes: five or more medicines were used to identify community-dwelling older men at risk of different adverse outcomes. *J Clin Epidemiol*. sept 2012;65(9):989- 95.

44. Summanen PH, Durmaz B, Väisänen M-L, Liu C, Molitoris D, Eerola E, et al. *Porphyromonas somerae* sp. nov., a pathogen isolated from humans and distinct from *porphyromonas levii*. *J Clin Microbiol.* sept 2005;43(9):4455- 9.
45. Jackson MA, Jeffery IB, Beaumont M, Bell JT, Clark AG, Ley RE, et al. Signatures of early frailty in the gut microbiota. *Genome Med.* déc 2016;8(1):8.
46. O'Toole PW, Jeffery IB. Gut microbiota and aging. *Science.* 4 déc 2015;350(6265):1214- 5.
47. Lynch DB, Jeffery IB, Cusack S, O'Connor EM, O'Toole PW. Diet-Microbiota-Health Interactions in Older Subjects: Implications for Healthy Aging. In: Yashin AI, Jazwinski SM, éditeurs. *Interdisciplinary Topics in Gerontology* [Internet]. Basel: S. KARGER AG; 2014 [cité 7 sept 2021]. p. 141- 54. Disponible sur: <https://www.karger.com/Article/FullText/364976>
48. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell.* 16 mars 2012;148(6):1258- 70.
49. Den H, Dong X, Chen M, Zou Z. Efficacy of probiotics on cognition, and biomarkers of inflammation and oxidative stress in adults with Alzheimer's disease or mild cognitive impairment — a meta-analysis of randomized controlled trials. *Aging.* 15 févr 2020;12(4):4010- 39.
50. Agahi A, Hamidi GA, Daneshvar R, Hamdih M, Soheili M, Alinaghypour A, et al. Does Severity of Alzheimer's Disease Contribute to Its Responsiveness to Modifying Gut Microbiota? A Double Blind Clinical Trial. *Front Neurol.* 2018;9:662.
51. Akbari E, Asemi Z, Daneshvar Kakhaki R, Bahmani F, Kouchaki E, Tamtaji OR, et al. Effect of Probiotic Supplementation on Cognitive Function and Metabolic Status in Alzheimer's Disease: A Randomized, Double-Blind and Controlled Trial. *Front Aging Neurosci.* 2016;8:256.
52. Tamtaji OR, Heidari-Soureshjani R, Mirhosseini N, Kouchaki E, Bahmani F, Aghadavod E, et al. Probiotic and selenium co-supplementation, and the effects on clinical, metabolic and genetic status in Alzheimer's disease: A randomized, double-blind, controlled trial. *Clin Nutr Edinb Scotl.* déc 2019;38(6):2569- 75.
53. Hwang Y-H, Park S, Paik J-W, Chae S-W, Kim D-H, Jeong D-G, et al. Efficacy and Safety of *Lactobacillus Plantarum* C29-Fermented Soybean (DW2009) in Individuals with Mild Cognitive Impairment: A 12-Week, Multi-Center, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Nutrients.* 1 févr 2019;11(2):E305.
54. Kobayashi Y, Kuhara T, Oki M, Xiao J-Z. Effects of *Bifidobacterium breve* A1 on the cognitive function of older adults with memory complaints: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Benef Microbes.* 28 mai 2019;10(5):511- 20.
55. Kim M-S, Kim Y, Choi H, Kim W, Park S, Lee D, et al. Transfer of a healthy microbiota reduces amyloid and tau pathology in an Alzheimer's disease animal model. *Gut.* 1 févr 2020;69(2):283- 94.

56. Kiu R, Hall LJ. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerg Microbes Infect.* 6 août 2018;7:141.
57. Jaagura M, Viiard E, Karu-Lavits K, Adamberg K. Low-carbohydrate high-fat weight reduction diet induces changes in human gut microbiota. *MicrobiologyOpen.* juin 2021;10(3):e1194.
58. Crooks TA, Madison JD, Walsh DM, Herbert WG, Jeraldo PR, Chia N, et al. *Porphyromonas somerae* Invasion of Endometrial Cancer Cells. *Front Microbiol.* 2021;12:2006.
59. Coyne MJ, Comstock LE. Type VI Secretion Systems and the Gut Microbiota. *Microbiol Spectr.* mars 2019;7(2).
60. Renson A, Mullan Harris K, Dowd JB, Gaydos L, McQueen MB, Krauter KS, et al. Early Signs of Gut Microbiome Aging: Biomarkers of Inflammation, Metabolism, and Macromolecular Damage in Young Adulthood. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 18 juin 2020;75(7):1258- 66.
61. Luan Z, Sun G, Huang Y, Yang Y, Yang R, Li C, et al. Metagenomics Study Reveals Changes in Gut Microbiota in Centenarians: A Cohort Study of Hainan Centenarians. *Front Microbiol.* 2020;11:1474.
62. Jeffery IB, Lynch DB, O'Toole PW. Composition and temporal stability of the gut microbiota in older persons. *ISME J.* janv 2016;10(1):170- 82.

**Titre de Thèse :** Association entre composition du microbiote intestinal et évolution de la morbi-mortalité à 6 mois, chez des patients âgés vivant en EHPAD, au CHU de Nantes

---

## RESUME

**Introduction :** plusieurs études suggèrent que la composition du microbiote intestinal pourrait être un biomarqueur de survenue de pathologies liées à l'âge, associées à une augmentation de la morbi-mortalité. Peu d'études se sont intéressées à l'association entre morbi-mortalité et composition du microbiote, chez des patients âgés, en EHPAD.

**Matériel et méthodes :** une analyse de diversité du microbiote (index Chao1) a permis de définir des terciles de diversité de composition du microbiote de 72 patients âgés vivant en EHPAD, au CHU de Nantes. Cette étude a consisté en la comparaison de paramètres cliniques et microbiotique (analyse taxonomique) dans les terciles de diversité opposée (n=24). Le critère de jugement principal était la mortalité de toutes causes, à 6 mois. Les critères de jugement secondaires évaluaient l'association entre diversité microbiotique et morbidité (évolution des troubles neurocognitifs, survenue d'évènements infectieux et d'épisodes de décompensation cardiaque).

**Résultats :** La comparaison de 2 groupes de 24 patients n'a pas mis en évidence de différence en termes de mortalité à 6 mois (21% de patients décédés dans le 1<sup>er</sup> tercile (n=5/24) et 17% dans le 3<sup>ème</sup> tercile (n=4/24)). Seule la prévalence de la dénutrition à 6 mois variait significativement entre les deux terciles de diversité. L'analyse taxonomique a mis en évidence une association entre décès et composition du microbiote. Ainsi, il été retrouvé, chez les patients décédés à 6 mois du 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> tercile, une plus grande proportion de *Ruminococcus Bicirculans*, espèce connue ayant des propriétés pro-inflammatoires.

**Conclusion :** Cette étude exploratoire, la première à s'être intéressée à l'association entre composition du microbiote et évolution de la morbi-mortalité de patients âgés, vivant en EHPAD, suggèrent que la composition du microbiote pourrait être un biomarqueur prédictif d'évolution de la morbi-mortalité. Cela devra être confirmé par des études incluant un plus grand nombre de patients.

---

## MOTS-CLES

MICROBIOTE INTESTINAL, INDEX D'ALPHA DIVERSITÉ, POPULATION ÂGÉE, MORTALITÉ TOUTE CAUSE, MORBIDITÉ, TAXONOMIE, VARIABLES GÉRIATRIQUES