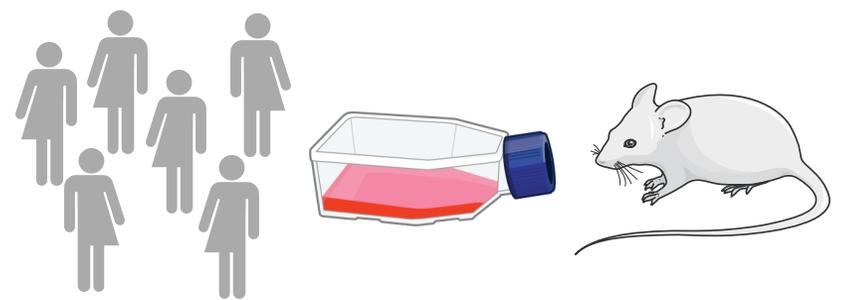
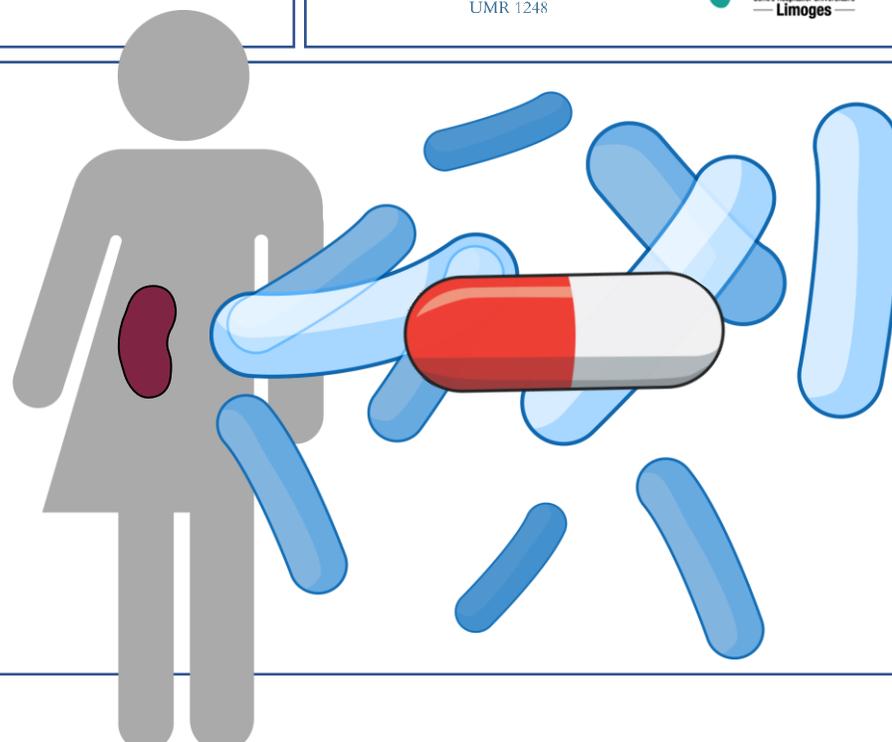
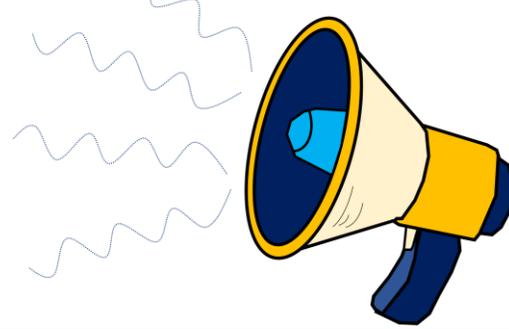




La construction de la
connaissance : exemple d'un
projet sur le microbiote digestif

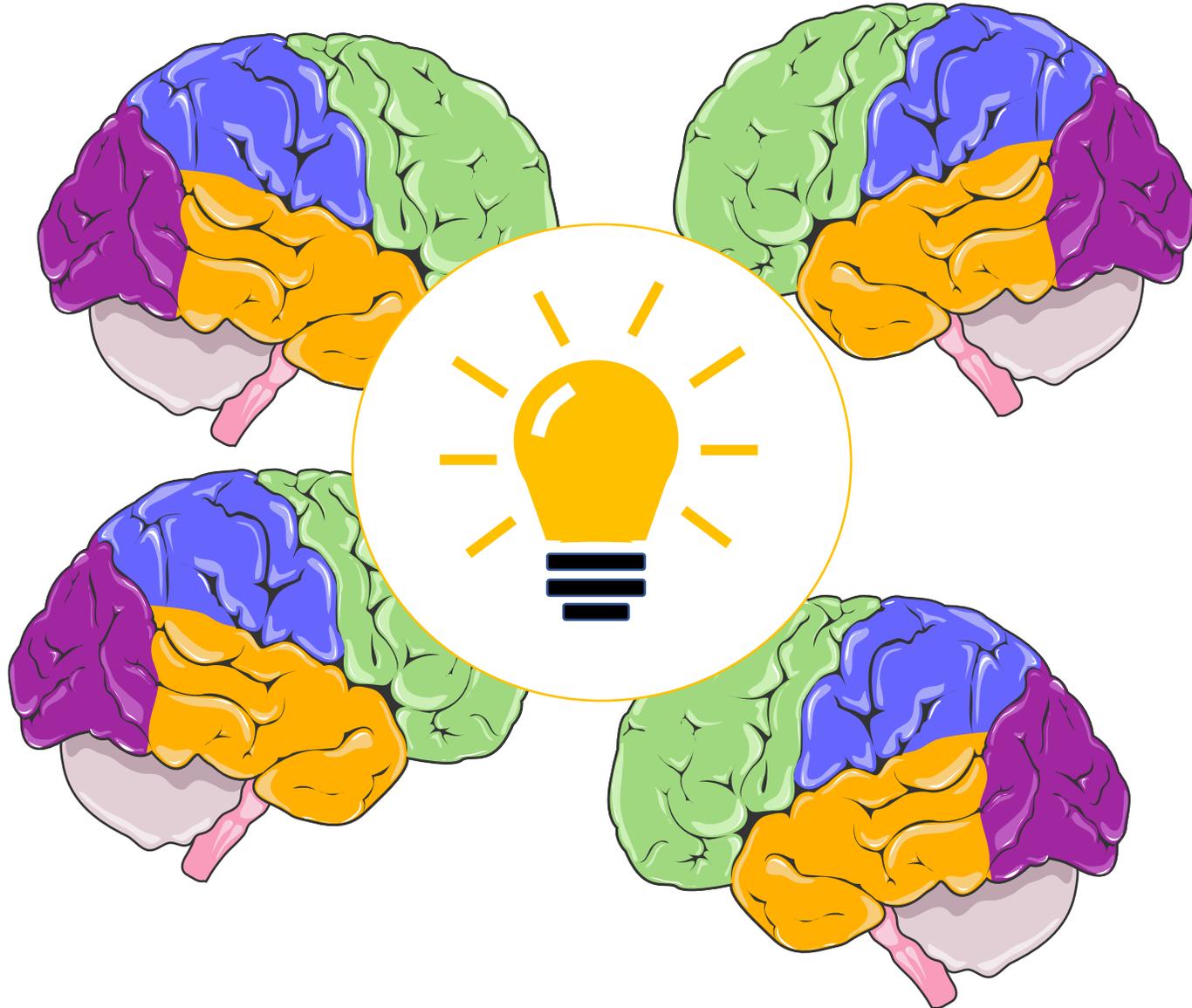
Anne Druilhe
anne.druilhe@inserm.fr

Liens d'intérêt

<p>Chercheuse Inserm</p>	<p>PHARMACOLOGY & TRANSPLANTATION P & T UMR 1248</p> <p>Inserm Université de Limoges CHU Centre hospitalier universitaire Limoges</p>	<p>Spécialisée en physiopathologie animale</p> 	
		<p>Responsabilités réglementaires</p> 	<p>Diffusion de la culture scientifique</p> 

*Membre AFSTAL (Association Animaux de Laboratoire)
Membre Récréasciences (Centre Culture Scientifique, Technique, Industrielle)*

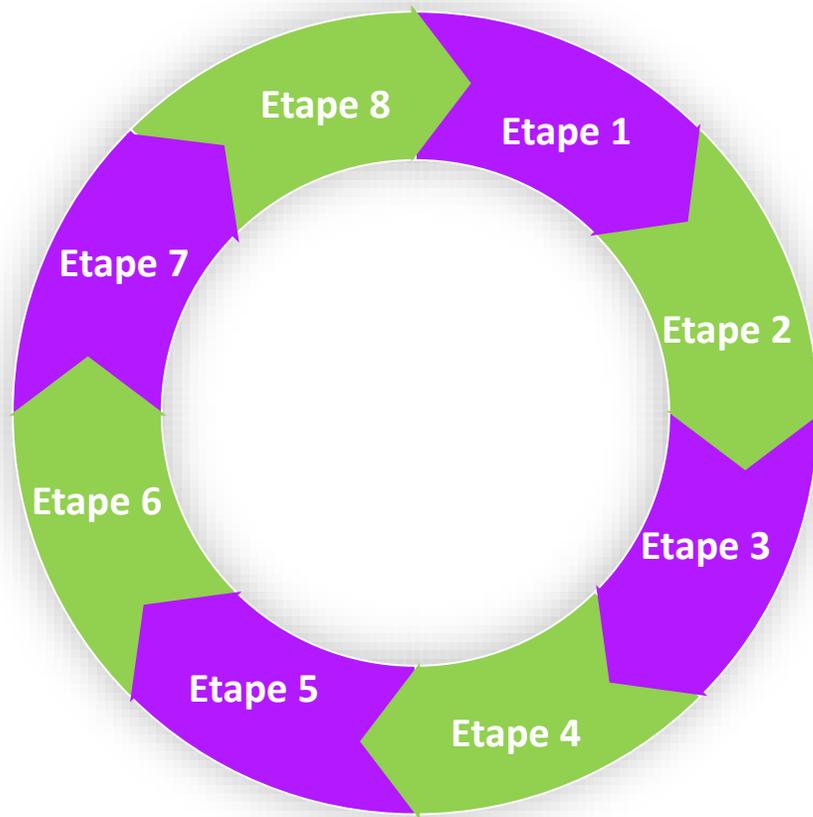
L'avancée des connaissances



L'avancée des connaissances repose sur des équipes de scientifiques qui mènent des projets de recherche en suivant une démarche scientifique (rigoureuse, impartiale).

Les 8 étapes d'un projet de recherche

Quelles sont les 8 étapes ?



Les 8 étapes d'un projet de recherche

Quelles sont les 8 étapes ?

Quelques réponses proposées le 20 janvier.

Faire une recherche bibliographique

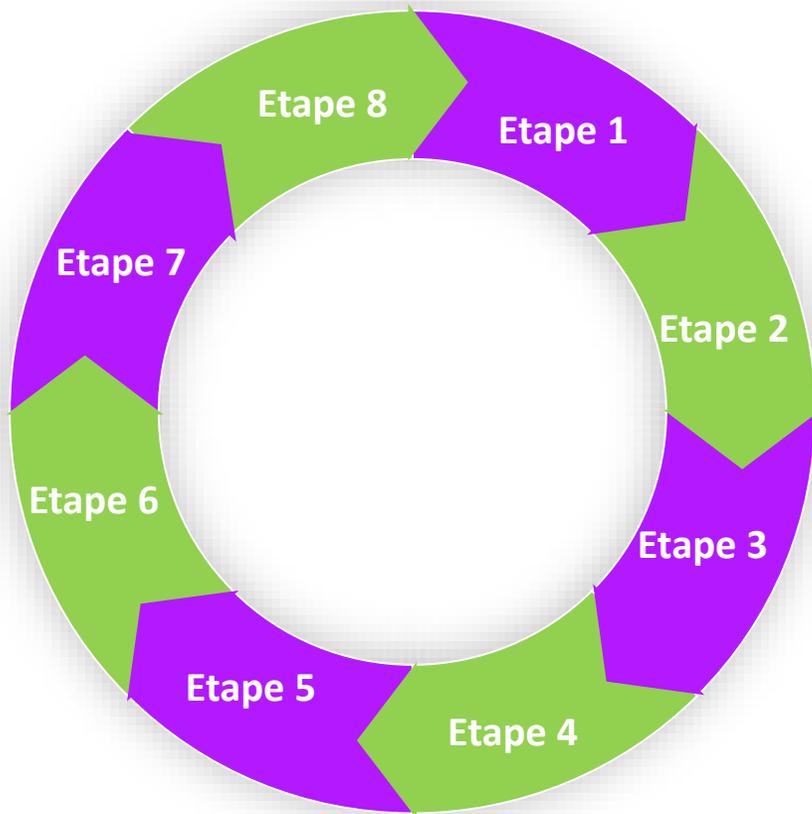
Analyser les résultats

Trouver de l'argent

Faire des expériences

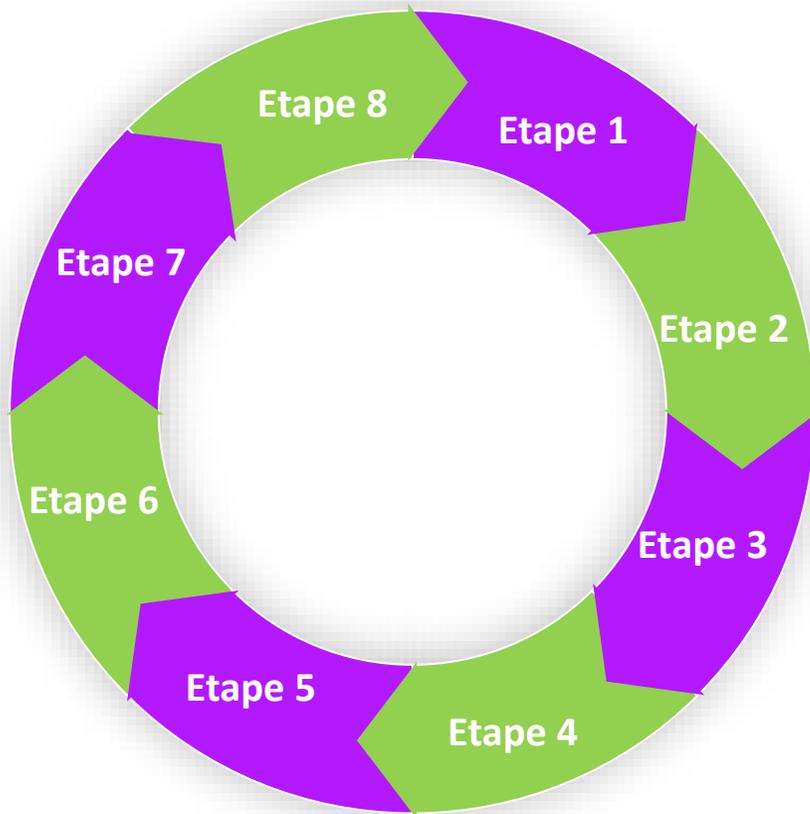
Répéter les expériences

Critiquer les résultats



Les 8 étapes d'un projet de recherche

Quelles sont les 8 étapes ?



1) Identifier une **question d'intérêt** (sans réponse)
Chaque question d'intérêt est sous divisée en x sous-questions, chacune faisant l'objet des étapes 2 à 6.

2) Identifier les **stratégies & méthodes** à utiliser

3) **Obtenir** les moyens de réalisation des projets

4) **Réaliser** les analyses de données, les observations et/ou les expériences

5) **Analyser** les résultats

6) **Interpréter** les résultats

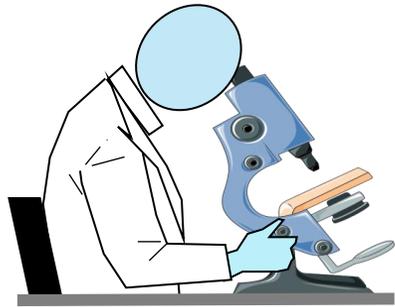
7) **Conclure** sur le projet

8) **Rendre compte** de ses résultats à la société

Etape 1 – Identifier une question d'intérêt (sans réponse)



Connaissance d'un domaine
Centre d'intérêt personnel



Roland Lawson



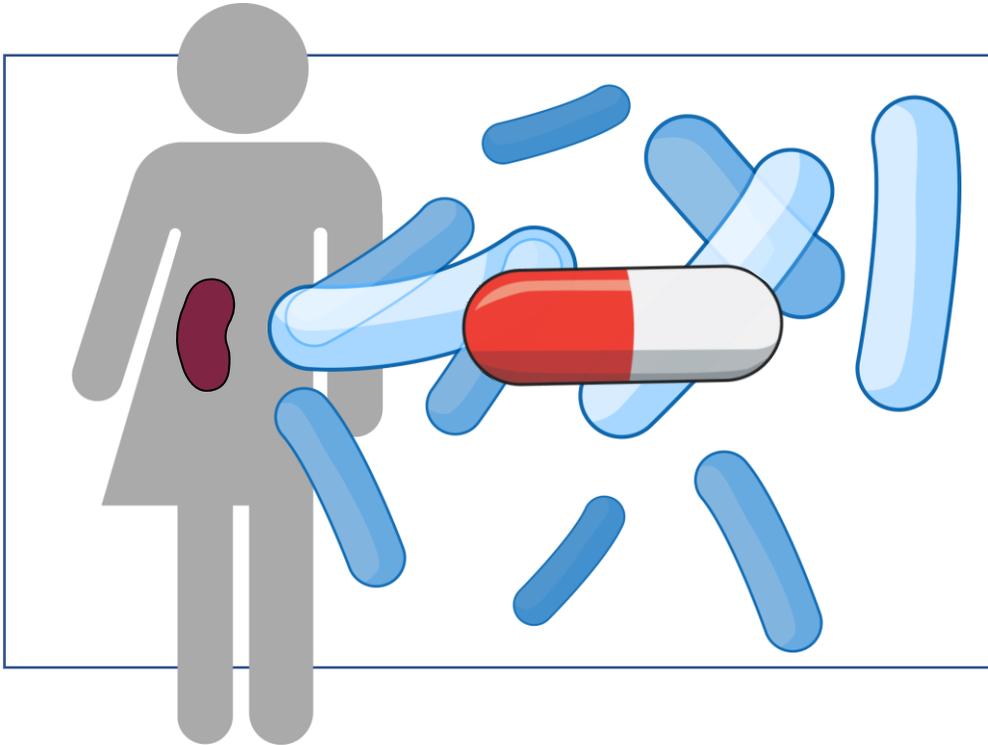
Culture générale
dans un domaine

Connaissance ciblée (mots clés)
d'un domaine



Revue
systématique
de la littérature
(limite les biais)

Etape 1 – Identifier une question d'intérêt (sans réponse)



Question principale :

Est-ce que le microbiote digestif joue un rôle dans les effets indésirables digestifs des immunosuppresseurs chez les transplantés ?

Questions secondaires :

- Par quel mécanisme ?
- Quelle intervention pour éviter les effets indésirables ?

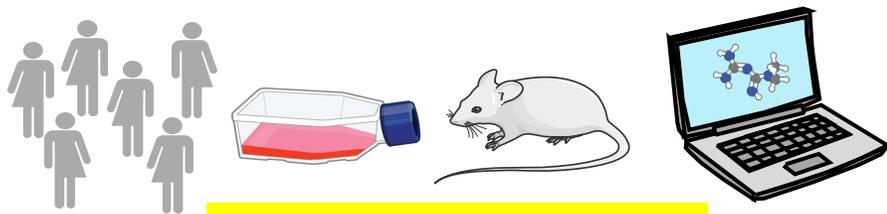
Etape 2 – Identifier stratégies et méthodes à utiliser

Stratégie sans à priori ?
Stratégie avec hypothèse
(quelle hypothèse) ?

Paramètre(s) analysé(s)/mesuré(s) ?

Analyse de données / observations ?
Réalisation d'expériences ?

Association entre 2 paramètres ?
Comparaison d'1 paramètre entre 2
conditions (dont 1 contrôle) ?
Quel contrôle ?

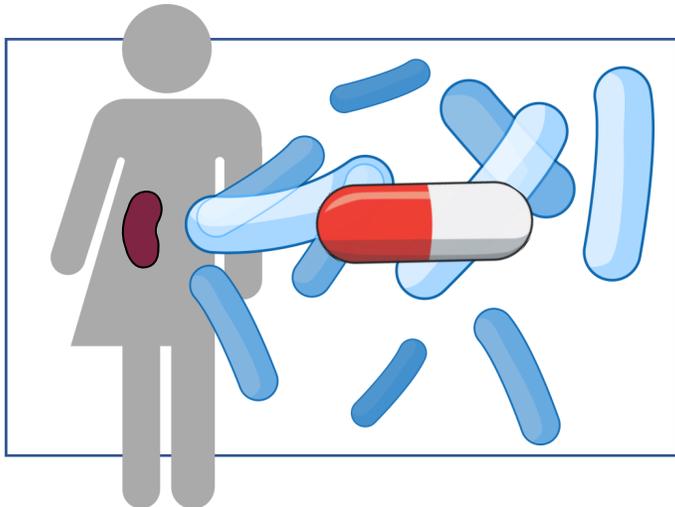


Limites à connaître

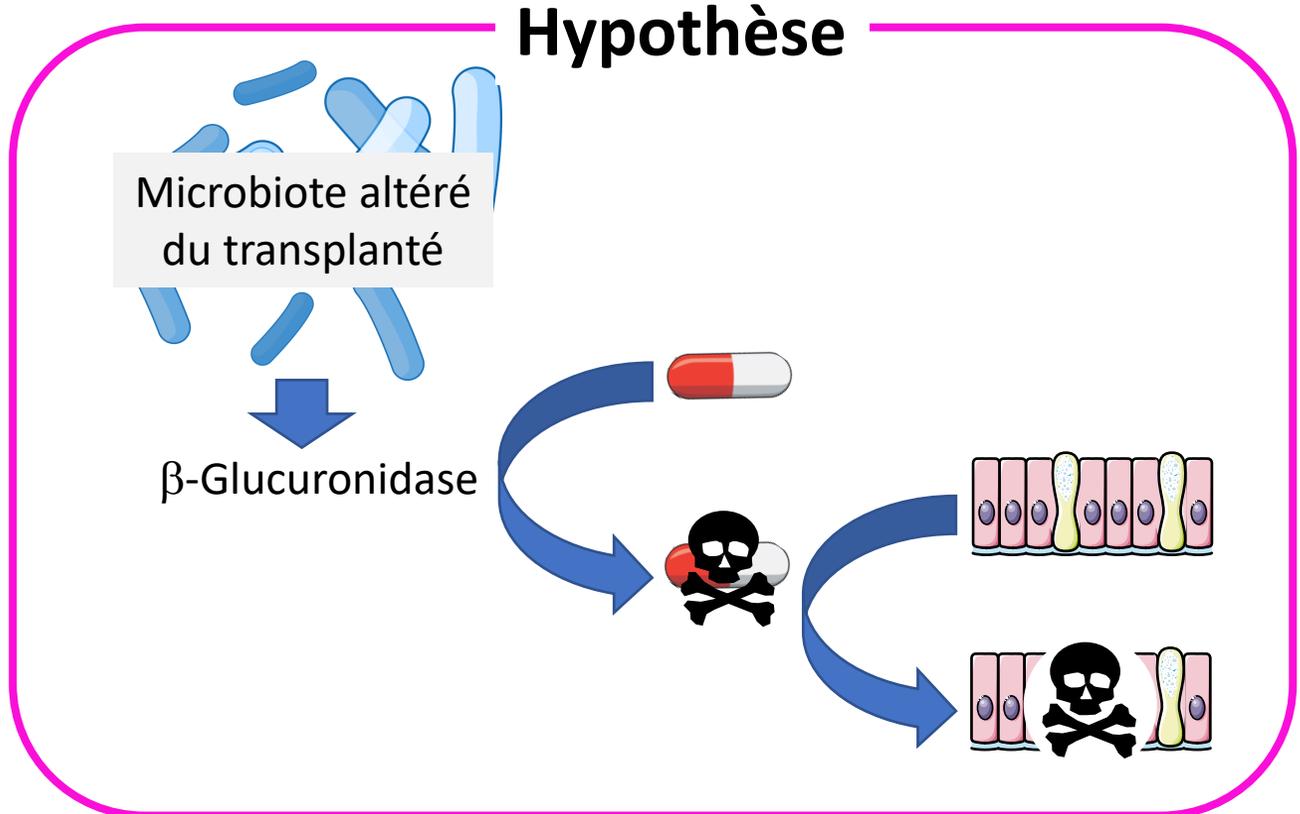
Technique(s) / Technologie(s) ?
Méthode(s) statistique(s) ?

Limites à connaître

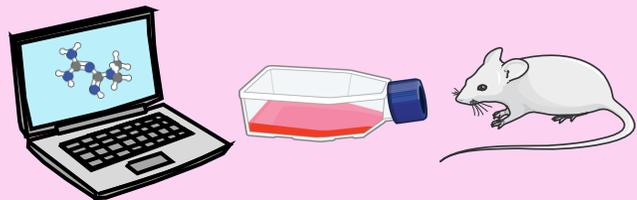
Etape 2 – Identifier stratégies et méthodes à utiliser



Microbiote digestif et effet indésirable digestif des immunosuppresseurs ?
Mécanisme ? Intervention ?



Approches



Comparaison de 2 états
Nombreux paramètres mesurés/techniques

Etape 3 – Obtenir les moyens nécessaires

Savoir-faire

Personnels du laboratoire
Doctorants
Collaborateurs



Recruter / Former

Recruter

Obtenir

Obtenir

Argent

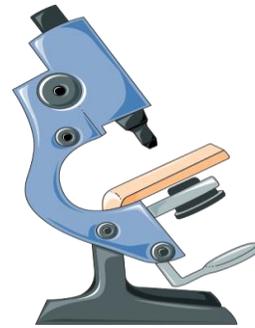
Dotation de l'état
Autre financement



Acheter
Réviser

Acheter

Equipement & animalerie



Réactifs & consommables

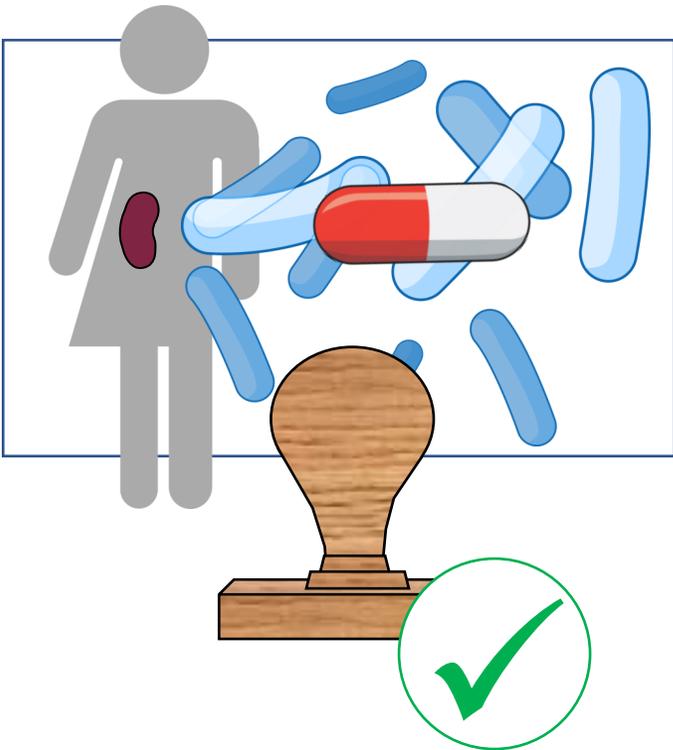
Produits pour faire les expériences :
boites de culture, pipettes, gants, ..



Autorisation

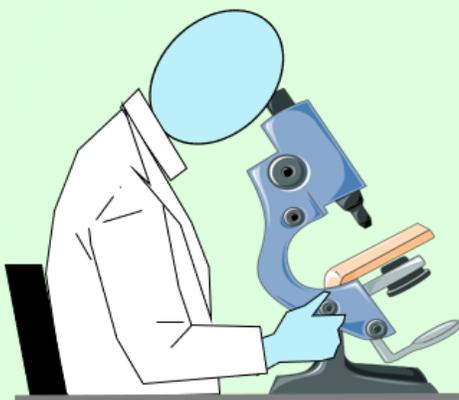


Etape 3 – Obtenir les moyens nécessaires



- Espace de vie
- Eau et nourriture
- Enrichissement physique, social
- Surveillance quotidienne
- Vétérinaire
- Anesthésique et antalgique
- Trace écrite de tous évènements

Directive 2010/63/EU :
protection des animaux utilisés en sciences.



Personnes
formées
& compétentes

- Avis éthique favorable**
Principe des 3R :
- Remplacer
 - Réduire
 - Raffiner

Autorisation ministérielle



Etape 4 – Réaliser les analyses, les observations et/ou les expériences

Mise au point d'un modèle, d'une technique :
variation des conditions et validation

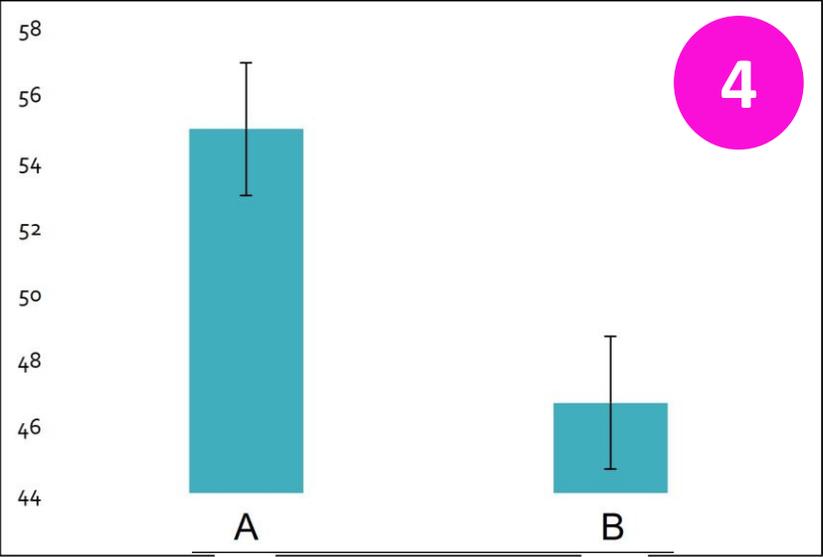
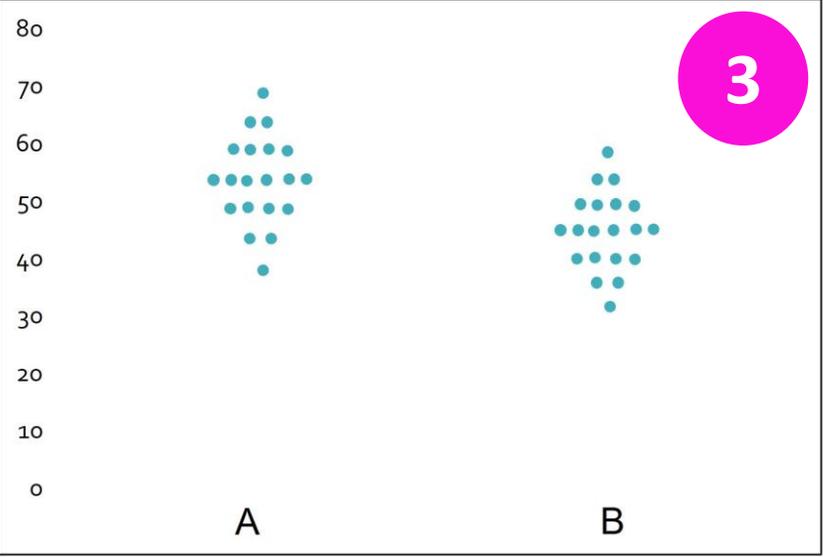
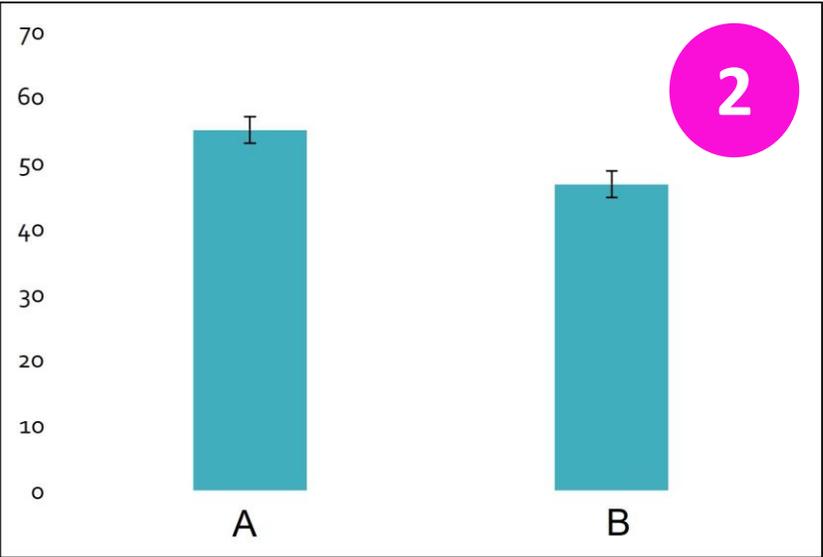
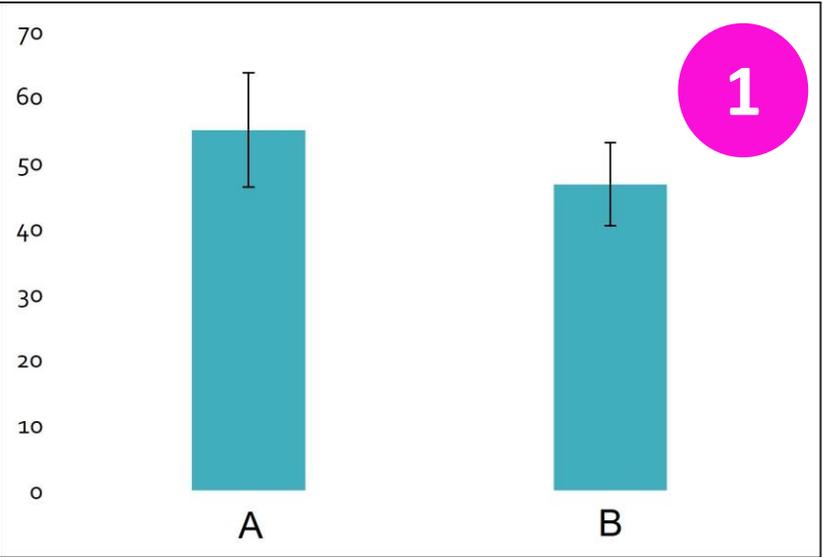
Critique !

Etude en aveugle (pour limiter les biais cognitifs)

Répétition des analyses (*in silico*), des expériences (*in vitro*)
dans des conditions standardisées

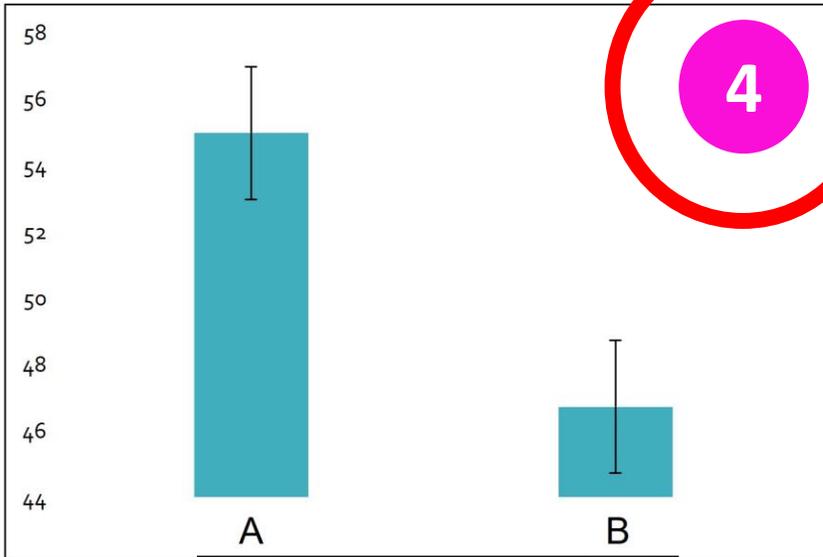
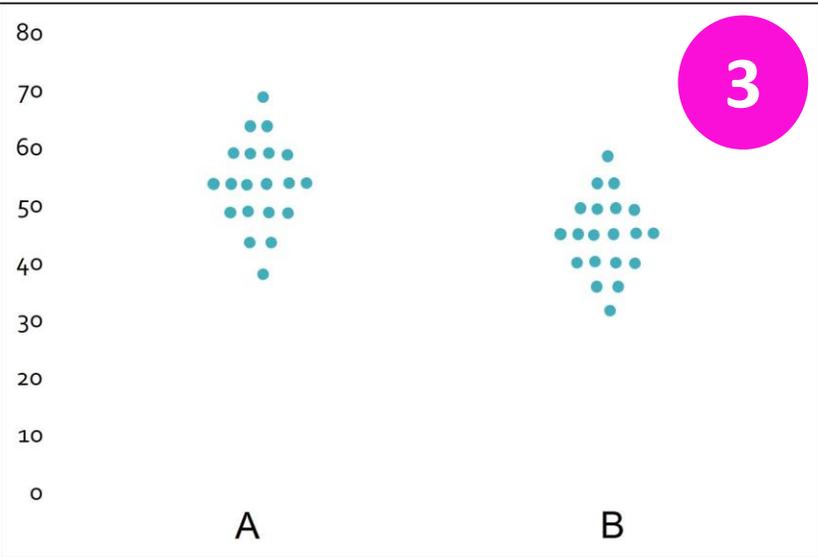
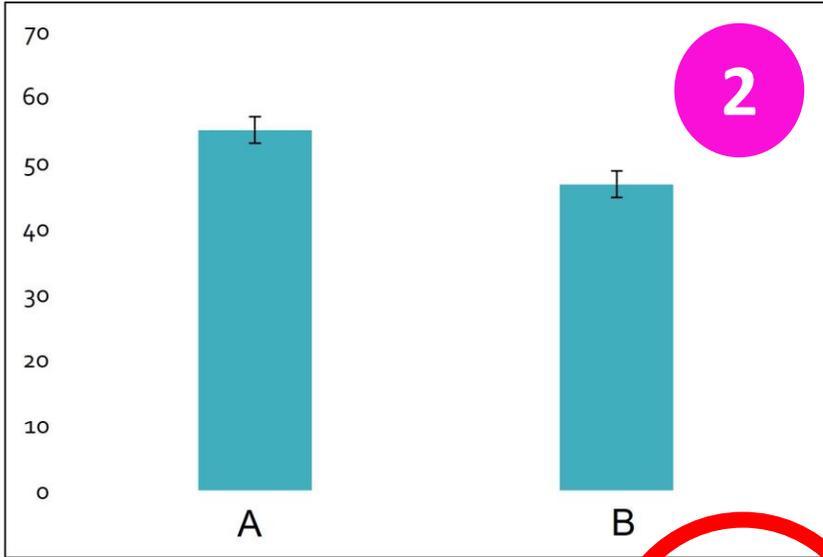
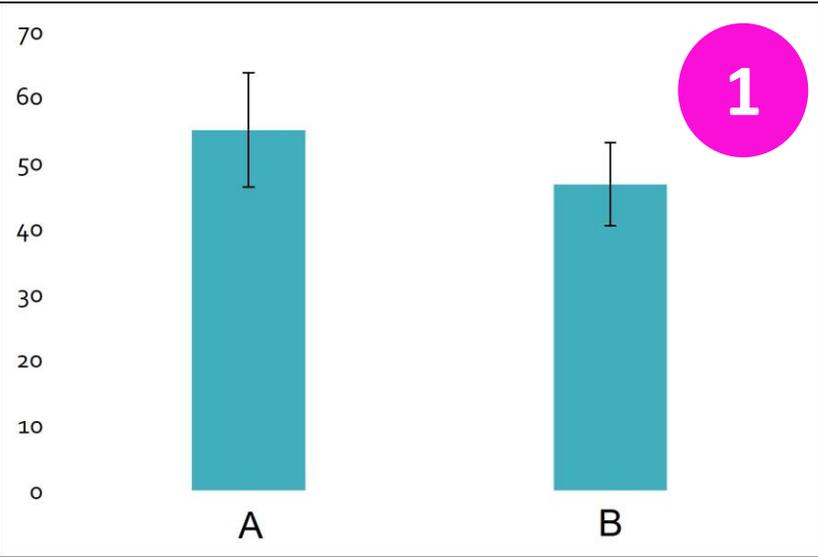
Utilisation dans des conditions standardisées
d'un nombre d'individus suffisants (étude clinique -chez l'Homme-, *in vivo*)
et randomisation des échantillons
pour prendre en compte la variabilité individuelle

Etape 5 – Analyser les résultats



Dans quel(s) graphe(s) les groupes A et B sont différents ?

Etape 5 – Analyser les résultats

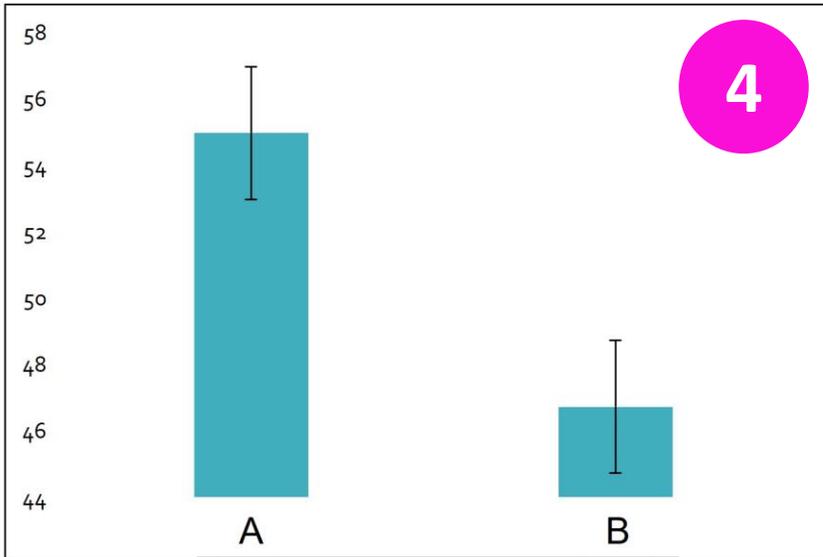
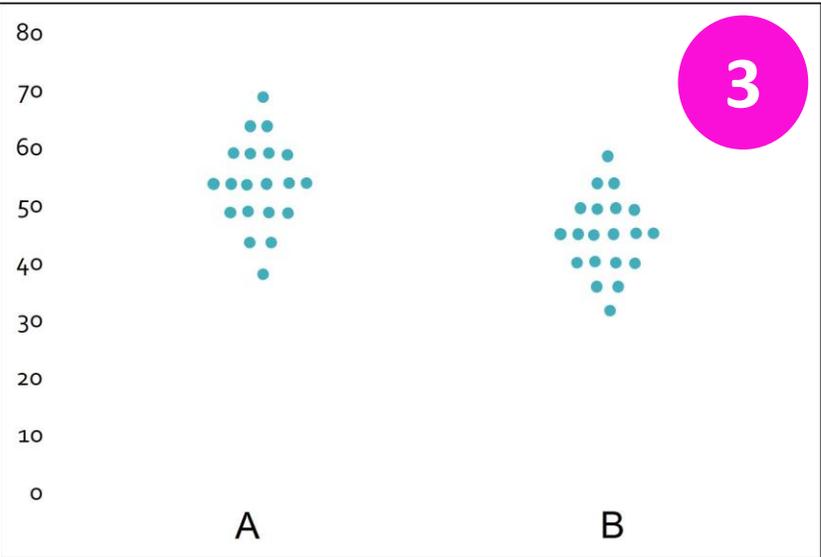
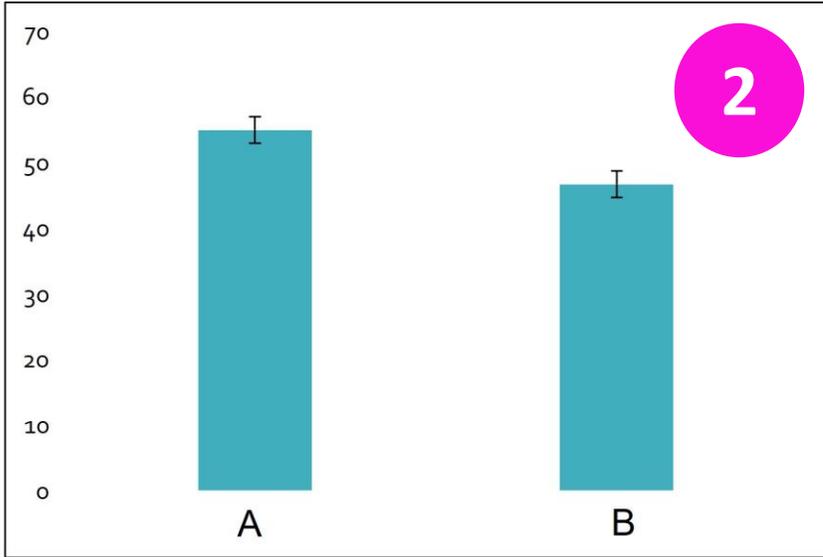
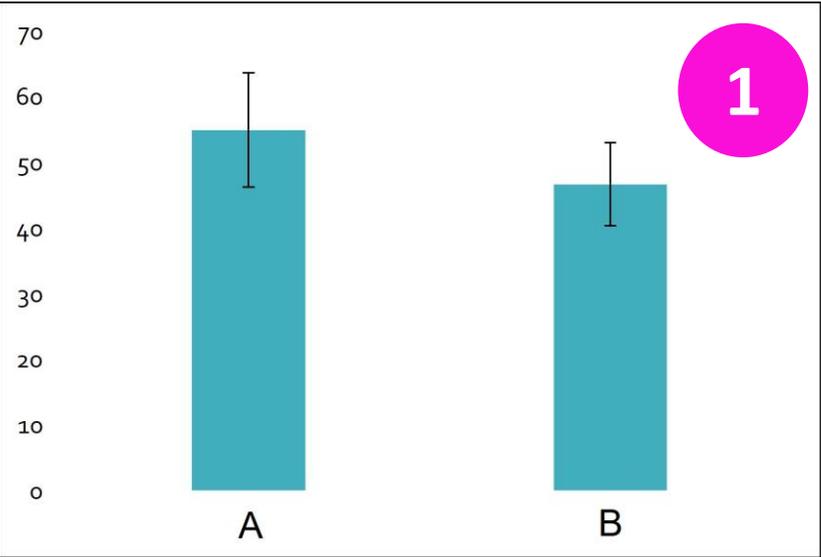


Dans quel(s) graphe(s) les groupes A et B sont différents ?

Réponse majoritaire donnée le 20 janvier.

Nota Bene : les 4 graphes présentent le même jeu de données représenté différemment avec moyenne +/- écart-type (1), moyenne +/- erreur standard à la moyenne (2 et 4, ordonnée +/- zoomée), valeurs individuelles (3). Exemple pour illustrer la nécessité d'utiliser des tests statistiques.

Etape 5 – Analyser les résultats



Utilisation de **tests statistiques (limites !)** pour affirmer une différence ou une association
+
réflexion sur le **sens biologique** de la différence ou de l'association (*Nota Bene : une différence statistiquement significative peut ne pas avoir d'intérêt en biologie ou en médecine – exemple fictif : cas d'un traitement anti cancéreux à forte dose qui limiterait la pousse tumorale de 1 mm³ partant d'une tumeur de 1 cm³ avec un effet statistiquement significatif = faut il donner de l'importance à ce résultat ?*)

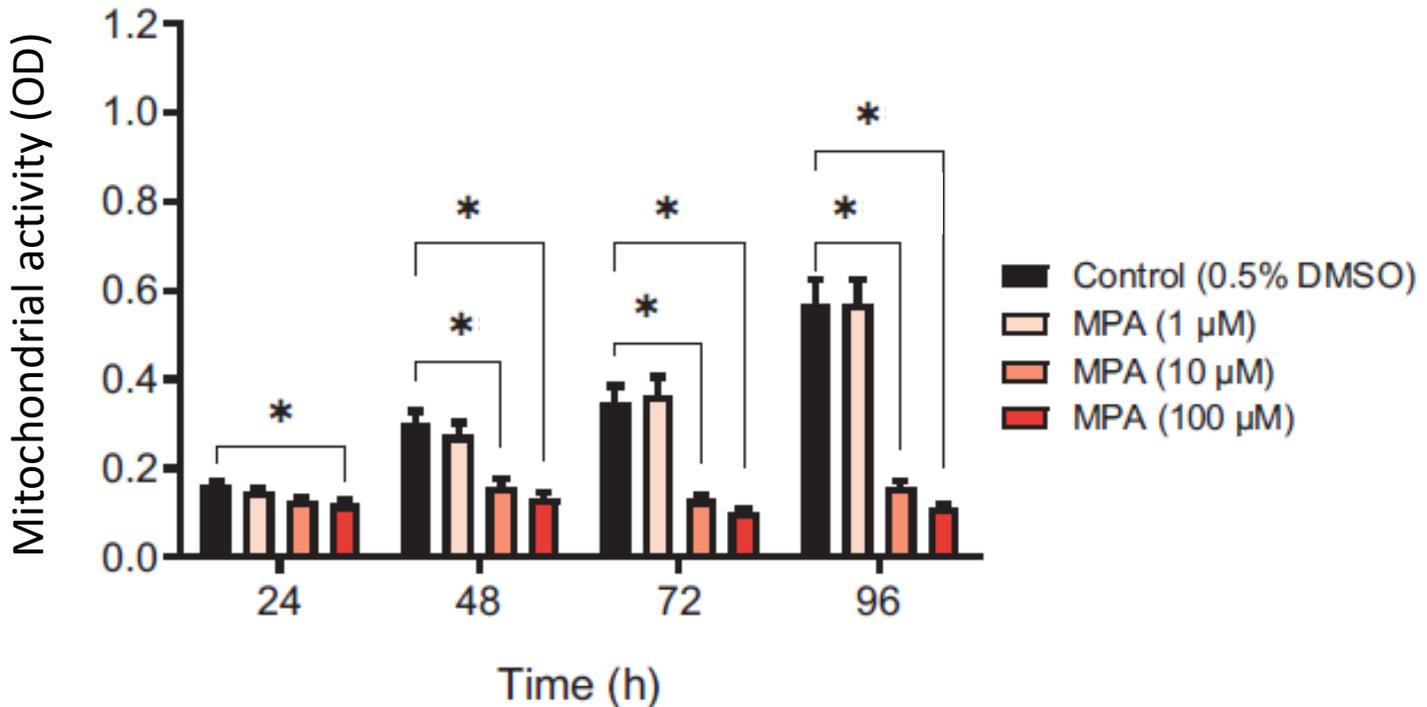
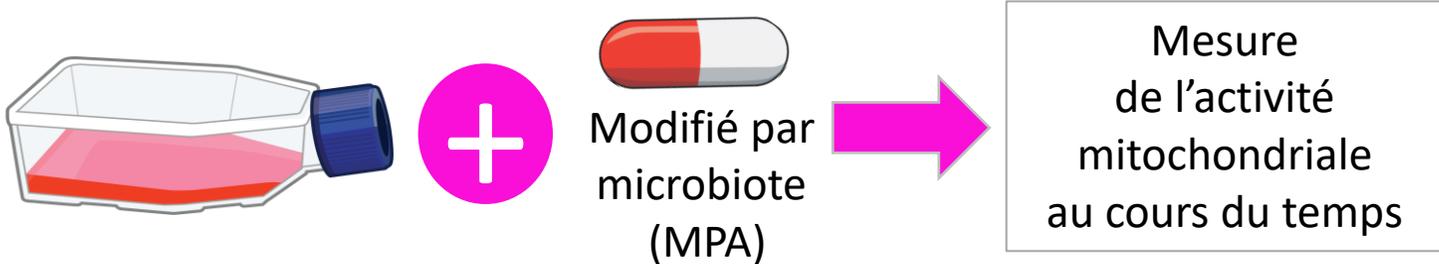
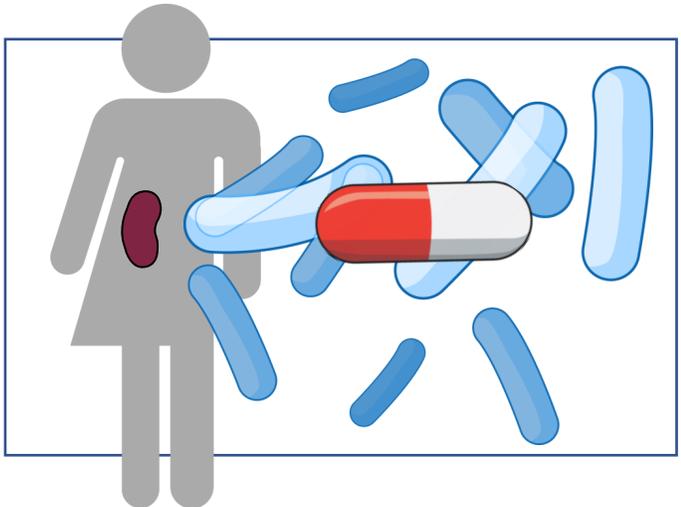
Etape 6 – Interpréter les résultats

Conclure sur le résultat en tenant compte :

- de l'analyse statistique et du sens biologique donnés aux résultats,
- du modèle, le cas échéant, et des techniques, et de leurs **limites**.

Quand, dans une même analyse ou expérience, plusieurs paramètres sont étudiés, la conclusion prend en compte l'ensemble des mesures et leur cohérence.

Etapes 4, 5 et 6 – Réaliser des expériences, analyser et interpréter les résultats



Brossier *et al.* Life Sciences, 2024

Etapes 4, 5 et 6 – Réaliser des expériences, analyser et interpréter les résultats

Analyse :

Augmentation de l'activité mitochondriale à 48, 72 et 96 h pour les cellules contrôles ou traitées avec du MPA à 1 μM .

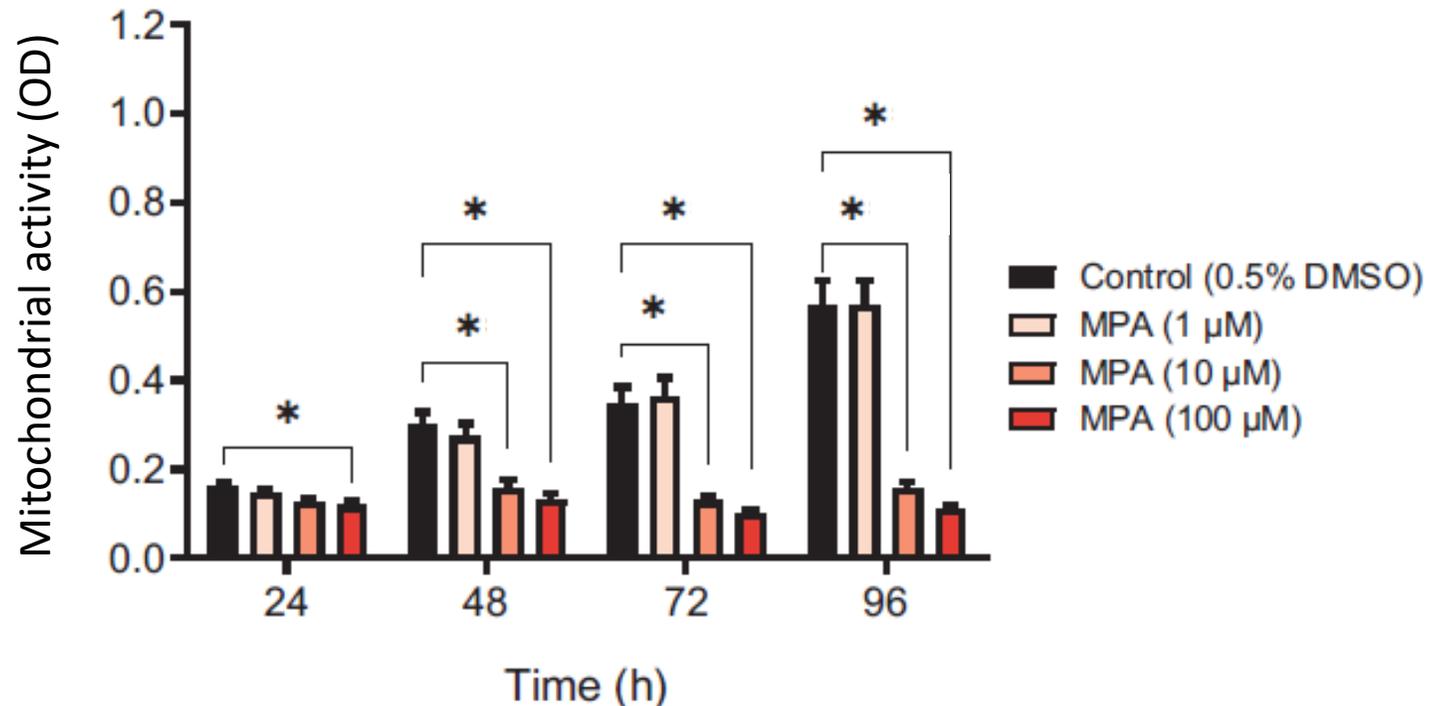
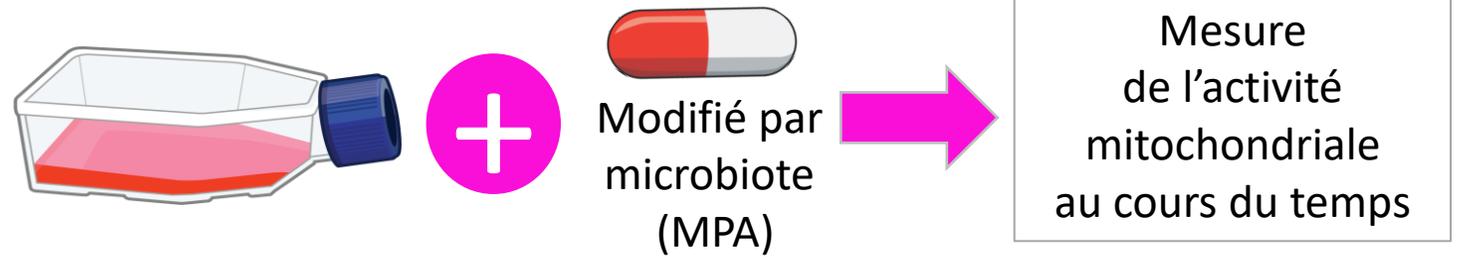
Pas d'augmentation avec le MPA à 10 et 100 μM .

Interprétation :

Dans ces conditions expérimentales, l'activité mitochondriale reflète le nombre de cellules.

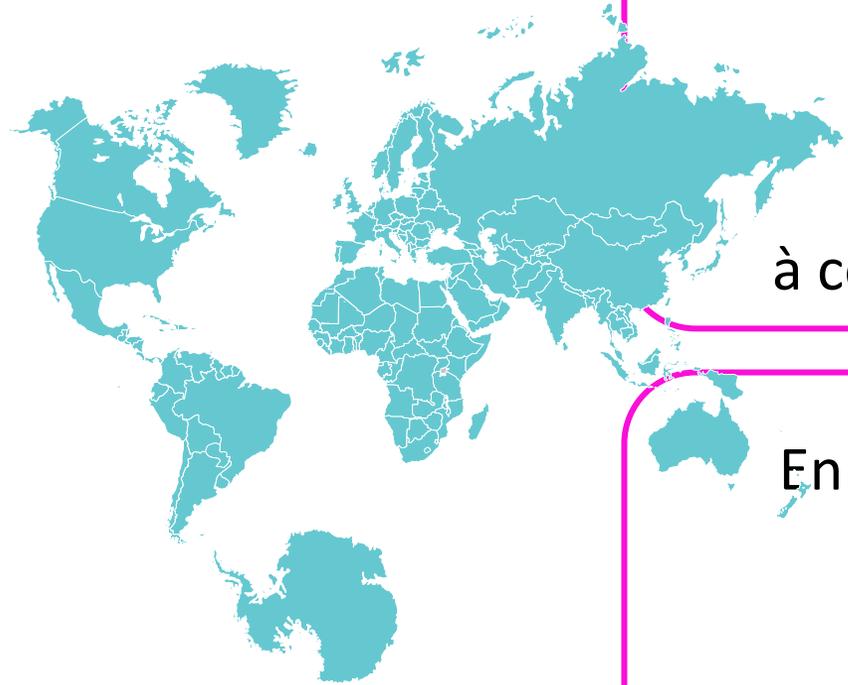
Donc le MPA à 10 et 100 μM bloque la prolifération des cellules épithéliales.

Le MPA aux 2 plus fortes concentrations est toxique pour les cellules épithéliales digestives.



Brossier *et al.* Life Sciences, 2024

Etape 7 – Conclure sur le projet



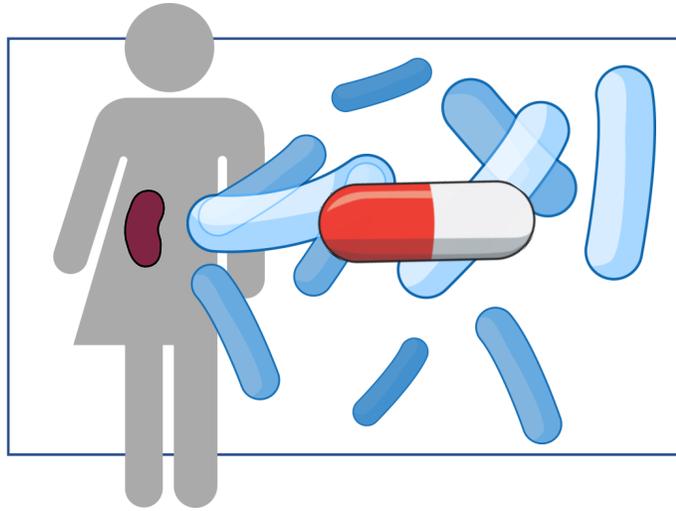
Confronter tous les résultats obtenus dans le projet pour en comprendre la cohérence.

Critique !

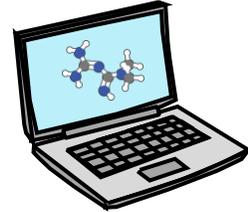
Confronter les résultats du projet à ceux obtenus par d'autres sur des sujets similaires.

En tenant compte de l'ensemble des résultats d'un projet et de ceux obtenus par d'autres, conclure sur la nouvelle connaissance et, le cas échéant, sur la vérification de l'hypothèse.

Etape 7 – Conclure sur le projet



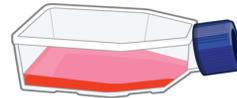
Microbiote digestif et effet indésirable
digestif des immunosuppresseurs ?
Mécanisme ? Intervention ?



In silico

 = substrat de la β -Glucuronidase bactérienne

Le **produit A**, décrit comme un inhibiteur de la β -Glucuronidase bactérienne, se lie au même endroit que 



In vitro

Les bactéries du microbiote transforment 
Le **produit A** bloque la transformation de 

 transformé est toxique pour les cellules digestives.



In vivo

 transformé provoque des lésions digestives.

Le **produit A** bloque les lésions digestives.

Le microbiote digestif altéré, *via* la production de la β -Glucuronidase, transforme l'immunosuppresseur en un produit toxique pour l'épithélium intestinal. Un médicament, de type produit A, qui inhibe la β -Glucuronidase du microbiote digestif pourrait limiter la survenue des effets indésirables chez les transplantés.

Etape 8 – Rendre compte de ses résultats à la société

Publication scientifique

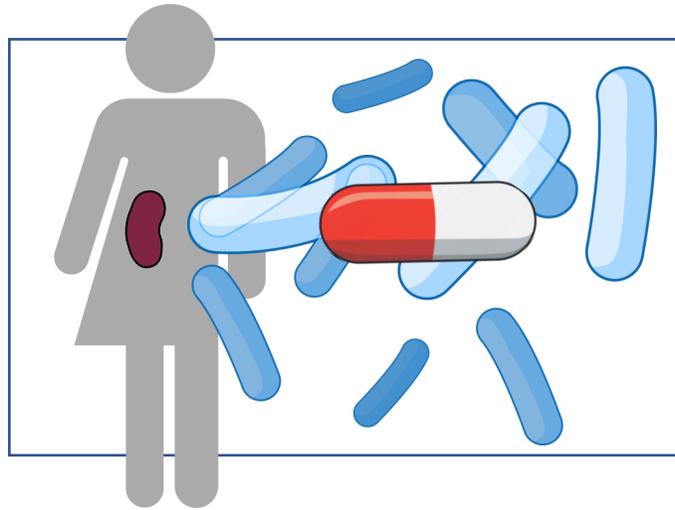
Base de données

*Importance de publier les résultats « négatifs »
pour ne pas biaiser la connaissance*

Brevet

Recommandation (médicale, politique)

Etape 8 – Valoriser les résultats



Life Sciences 351 (2024) 122792



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Life Sciences

journal homepage: www.elsevier.com/locate/lifescie

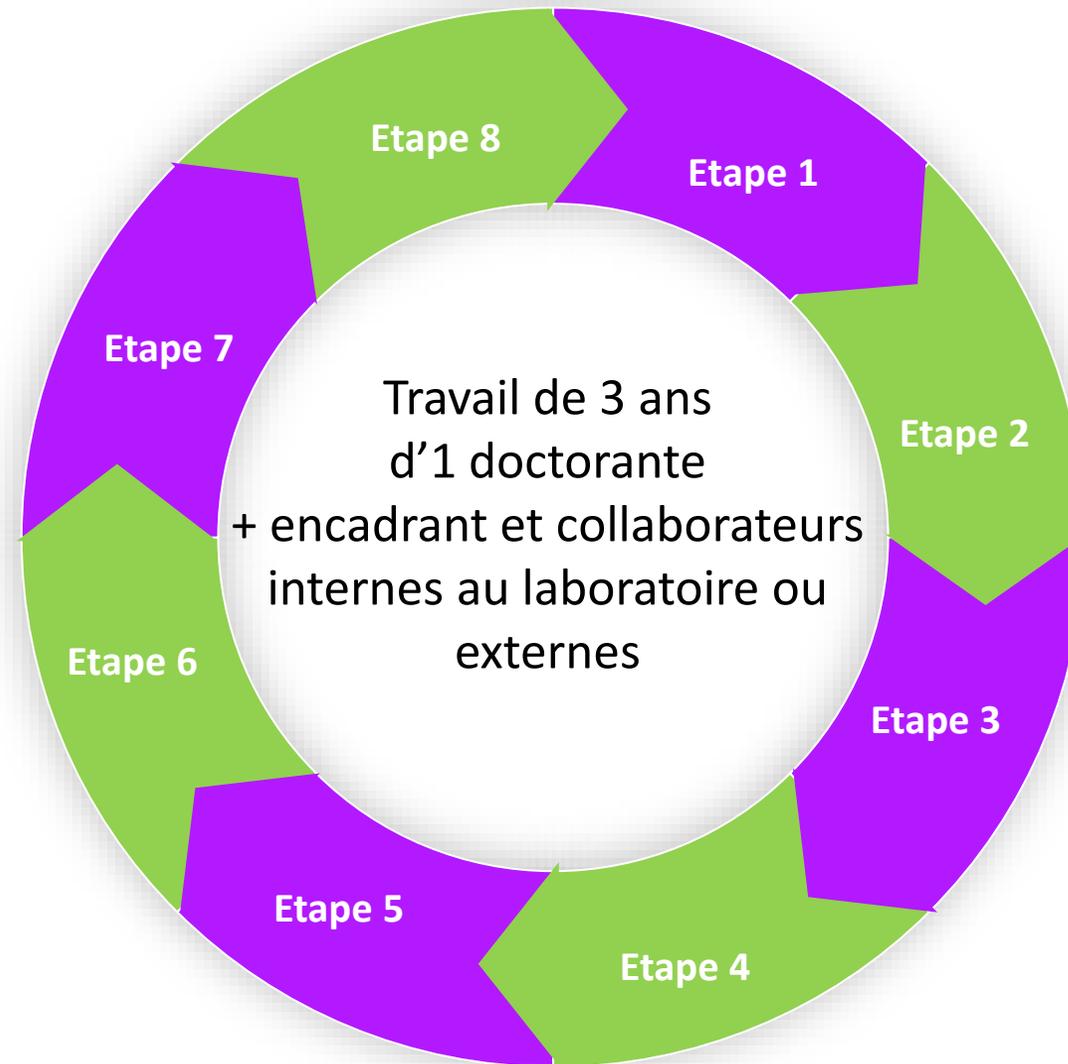
Gut microbiota biotransformation of drug glucuronides leading to gastrointestinal toxicity: Therapeutic potential of bacterial β -glucuronidase inhibition in mycophenolate-induced enteropathy

Clarisse Brossier^{a,1}, Manon Jardou^{a,1}, Angelika Janaszekiewicz^a, Djouher Firoud^a, Isy Petit^a,
Hélène Arnion^a, Emilie Pinault^a, François-Ludovic Sauvage^a, Anne Druilhe^a, Nicolas Picard^{a,b},
Florent Di Meo^a, Pierre Marquet^{a,b}, Roland Lawson^{a,*}

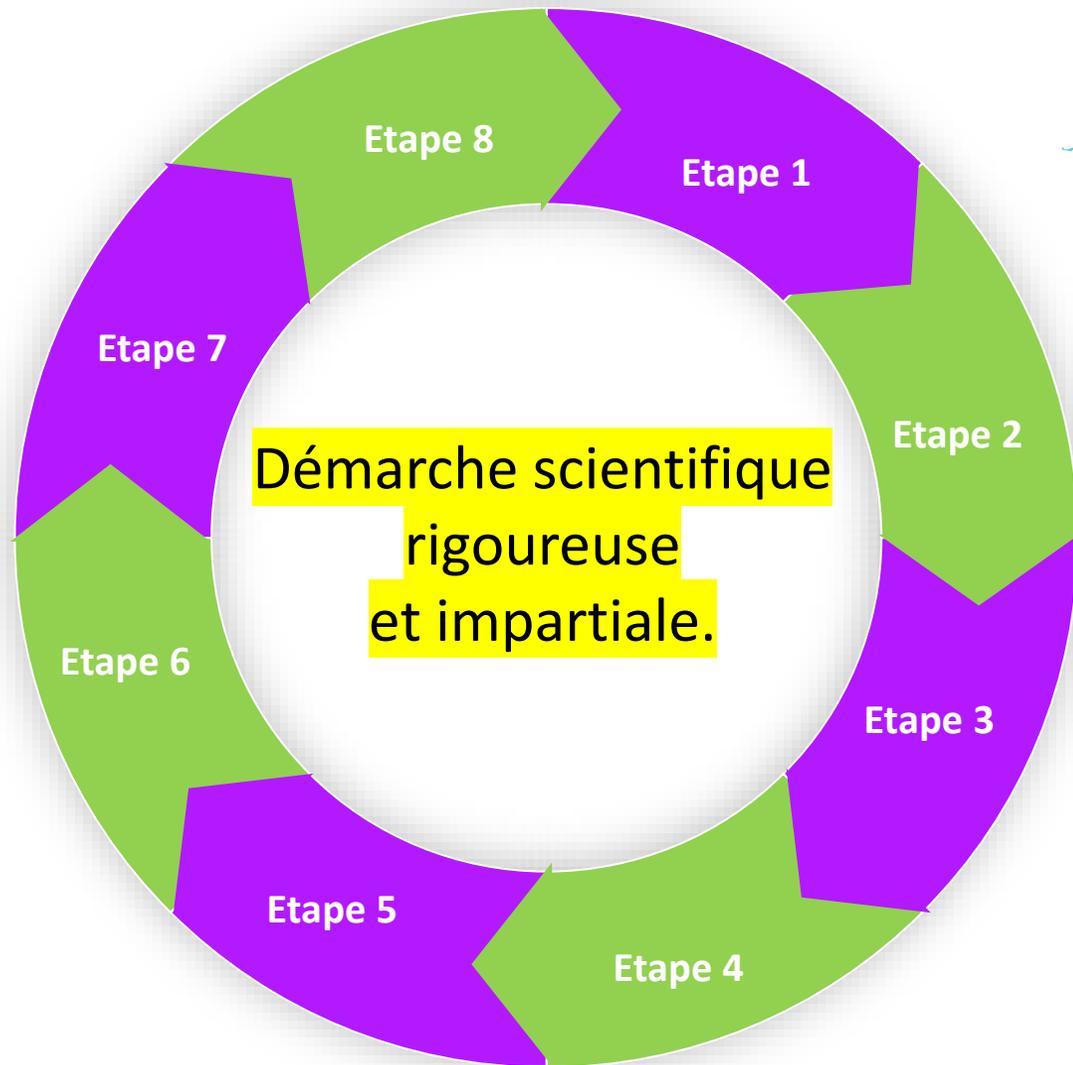
^a Pharmacology & Transplantation (P&T), INSERM U1248, Université de Limoges, F-87000 Limoges, France

^b Department of Pharmacology, Toxicology and Pharmacovigilance, CHU Limoges, F-87000 Limoges, France

Les 8 étapes d'un projet de recherche



L'avancée des connaissances



- Faire une revue exhaustive de la littérature
- Randomiser, travailler en aveugle
- Utiliser des modèles, des techniques, des méthodes (y compris statistiques) dont on connaît les limites
- Décrire précisément la stratégie, le modèle, les techniques
- Valoriser tous les résultats



Merci pour votre attention !

Illustrations :

- Images créées par Anne Druilhe avec Powerpoint
- Images (*souris, cerveau, cellules, microscope, mappemonde*) extraites de Servier Medical Art (<https://smart.servier.com/>) sous licence CC BY 4.0
- Images (*humain, bactéries, pilule, molécule, flasque de culture, tube*) extraites de NIAID NIH BIOART (<https://bioart.niaid.nih.gov/>)
- Pages de sites internet
- Photographies de Anne Druilhe