



HAL
open science

Impact du microbiote intestinal sur le stress et l'anxiété: un espoir thérapeutique pour l'avenir

Estelle Favard

► **To cite this version:**

Estelle Favard. Impact du microbiote intestinal sur le stress et l'anxiété: un espoir thérapeutique pour l'avenir. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-01845349

HAL Id: dumas-01845349

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01845349>

Submitted on 20 Jul 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE BORDEAUX
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2018

Thèse n°61

Thèse pour l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Le 6 juillet 2018

Par

Estelle FAVARD

Née le 24/10/1993 à Talence

**IMPACT DU MICROBIOTE INTESTINAL SUR LE STRESS ET
L'ANXIETE :
UN ESPOIR THERAPEUTIQUE POUR L'AVENIR**

Directeur de thèse

Dr. Catherine CHÈZE

Jury

Dr. Catherine CHÈZE

Maître de Conférences

Président

Dr. Françoise TESSIER

Maître de Conférences

Assesseur

Dr. Bernadette BICHET

Docteur en Pharmacie

Assesseur

Remerciements

Je remercie Madame Catherine Chèze pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse et de présider ce jury. Merci pour votre aide dans le choix du sujet et pour le temps que vous m'avez accordé durant l'élaboration de cette thèse.

Je remercie Madame Françoise Tessier de me faire l'honneur de sa présence au sein de ce jury. Merci de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail.

Je remercie également Madame Bernadette Bichet d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Merci de m'avoir fait partager vos connaissances et votre expérience. Merci pour votre gentillesse et vos précieux conseils.

Merci à mes maîtres de stage de 6e année, Messieurs Paul Malet et Jean-Marie Troadec, de la confiance que vous m'avez accordée. Merci de m'avoir si bien accueillie dans votre officine et de votre patience. Je suis heureuse de faire encore partie de l'équipe de la pharmacie cet été.

Merci aussi à toute l'équipe de la pharmacie de La Pyramide pour votre aide et les moments agréables passés avec vous. Merci de m'avoir tout de suite intégrée dans votre équipe.

Merci à mes parents de m'avoir écoutée, soutenue et conseillée tout au long de ces années d'étude. Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir encouragée dans les moments de doute.

Merci à mes amies Bénédicte, Maïlys, Julia, Léa, Léa et Louise pour tous nos moments de complicité. Votre amitié, votre bonne humeur et votre soutien m'ont été essentiels durant toutes ces années. Merci Bénédicte d'avoir été ma colocataire pendant 4 ans et de m'avoir supportée pendant les périodes d'examen.

Sommaire

Introduction.....	7
I Stress et anxiété	8
I.1 Le stress	8
I.1.1 Evolution du concept de stress	8
I.1.2 L'axe HHS.....	10
I.1.2.1 Fonctionnement de l'axe.....	10
I.1.2.2 Effet périphérique des GC	11
I.1.2.3 Récepteurs GC	12
I.1.2.4 Axe HHS à l'état basal : rythme circadien.....	12
I.1.2.5 Modulation de la réponse physiologique et comportementale à l'agent stressant par le système cortico limbique	12
I.2 L'anxiété	13
I.2.1 Classification des troubles anxieux.....	14
I.2.2 Tests comportementaux d'anxiété.....	14
I.2.2.1 Test du champ ouvert ("Open Field", OF)	13
I.2.2.2 Test Thatcher-Britton (Novelty-Suppressed Feeding).....	15
I.2.2.3 Test du labyrinthe en croix surélevé (« Elevated Plus Maze », EPM)	16
I.2.2.4 Test de step down	17
I.2.2.5 Test clair et obscur (« Light Dark Test », L/D).....	17
I.2.2.6 Test de la planche à trous (« Holeboard »)	18
I.2.2.7 Test d'enfouissement de billes (« Marble Burying »).....	18
I.2.2.8 Test d'enfouissement défensif (Defensive Burying).....	19
I.2.2.9 Test d'interactions sociales	19
I.2.3 Mécanismes neurobiologiques impliqués dans les troubles anxieux	20
I.2.3.1 Le système GABAergique	20
I.2.3.2 Les systèmes monoaminergiques	20
I.2.3.3 Les autres systèmes cérébraux.....	21
II Microbiote.....	22
II.1 Présentation	22
II.2 Composition et répartition.....	22
II.2.1 Les Phyla	23
II.2.2 Les entérotypes	24
II.3 Etablissement du microbiote intestinal	25
II.3.1 Influence du mode d'accouchement.....	26
II.3.2 Influence du terme de naissance	26
II.3.3 Influence du mode d'alimentation.....	26
II.3.4 Influence d'une antibiothérapie.....	27
II.3.5 Influence de l'environnement	27
II.3.6 Influence du stress maternel prénatal	27
II.4 Fonctions du microbiote intestinal.....	28
II.4.1 Fonctions nutritives et métaboliques.....	28
II.4.2 Fonctions protectrices.....	29

II.4.3	Fonctions immunitaires	29
III	Implication du microbiote intestinal sur le stress et l'anxiété	31
III.1	L'axe microbiote-intestin-cerveau	32
III.2	Impact du microbiote intestinal sur la maturation et la régulation de l'axe corticotrope ..	35
III.2.1	Animaux AX versus animaux SPF	35
III.2.2	Importance de la période post natale	36
III.2.3	Effet des probiotiques	37
III.3	Impact du microbiote intestinal sur la régulation du comportement anxieux	37
III.3.1	Animaux AX versus animaux SPF	37
III.3.2	Manipulation du microbiote intestinal.....	40
III.3.2.1	Entéropathogènes modérés	40
III.3.2.2	Antibiotiques	42
III.3.2.3	Probiotiques	44
III.3.2.4	Prébiotiques	48
III.4	Effet des probiotiques sur le stress et l'anxiété chez les humains.....	50
	Conclusion générale.....	61
	Perspectives thérapeutiques.....	64
	Annexes.....	66
	Références.....	77

Liste des figures

- Figure 1 : Activation et rétrocontrôle négatif de l'axe HHS
- Figure 2 : Dispositif « Champ ouvert »
- Figure 3 : Dispositif « Labyrinthe en croix surélevé »
- Figure 4 : Dispositif « Step down »
- Figure 5 : Dispositif « Clair/obscur »
- Figure 6 : Dispositif « Planche à trous »
- Figure 7 : Dispositif « Enfouissement défensif »
- Figure 8 : Abondance relative des phyla majoritaires du microbiote intestinal humain
- Figure 9 : Distribution des microbiotes en fonction de leur richesse en gènes et par entérotype
- Figure 10 : Stratégies utilisées pour étudier le rôle du microbiote intestinal sur le cerveau
- Figure 11 : Les voies d'action du microbiote intestinal sur le cerveau
- Figure 12 : Transfert de microbiote intestinal
- Figure 13 : L'infection par *C. jejuni* augmente le comportement de type anxieux dans le test de la planche à trous 6-7 heures suivant l'infection
- Figure 14 : Le traitement par la souche 23272 de *L. reuteri* réduit le comportement de type anxieux exacerbé par une exposition prolongée au stress de contention chez des souris CD-1 infectées par *C. rodentium*
- Figure 15 : Le traitement avec *B. longum* NCC3001, mais pas avec *L. rhamnosus* NCC4007, annule l'augmentation du comportement de type anxieux induite par le parasite *T. muris*
- Figure 16 : Impact d'un régime de prébiotiques sur le comportement de type anxieux chez des rats Fisher 344 dans le test de l'OF
- Figure 17 : Effet de *L. casei* Shirota sur le niveau d'anxiété mesuré par le STAI et sur le taux de cortisol salivaire
- Figure 18 : Effet de *L. casei* Shirota sur les symptômes physiques
- Figure 19 : Effet de *Clostridium butyricum* sur le niveau d'anxiété (échelle HAMA)
- Figure 20 : Effet de *Clostridium butyricum* sur le taux de CRF sérique et la fréquence cardiaque

Liste des tableaux

Tableau 1 : Pathologies ou troubles fonctionnels associés à des dysbioses du microbiote intestinal

Tableau 2 : Impact de l'absence de microbiote intestinal sur la réactivité de l'axe HHS chez les rongeurs

Tableau 3 : Impact de l'absence de microbiote intestinal sur le comportement de type anxieux chez les rongeurs

Tableau 4 : Impact de la restauration du microbiote intestinal sur le comportement de type anxieux chez les rongeurs

Tableau 5 : Effet anxiolytique de probiotiques chez les rongeurs

Tableau 6 : Tests d'évaluation du stress et de l'anxiété chez les humains.

Tableau 7 : Effet des probiotiques sur le stress et l'anxiété chez les humains.

Introduction

L'homme vit en symbiose avec une communauté de quelque cent mille milliards de micro-organismes (essentiellement des bactéries) appelée microbiote, dont le plus grand nombre se trouve au niveau intestinal. Le microbiote intestinal assure plusieurs fonctions essentielles pour l'hôte qui l'héberge comme la digestion des fibres alimentaires et la synthèse des vitamines, un effet protecteur vis-à-vis des bactéries pathogènes exogènes et aussi vis-à-vis de certaines bactéries présentes dans l'intestin et potentiellement délétères si leur concentration augmente, il contribue également à la régulation du système immunitaire. En retour, l'hôte offre au microbiote un environnement nécessaire à son développement.

Normalement, l'écosystème microbien est en équilibre dans le tube digestif. Cependant, une perturbation de cet équilibre, appelée dysbiose, peut entraîner un dysfonctionnement de ses activités et, par conséquent, jouer un rôle dans l'initiation ou tout du moins le maintien ou la sévérité de certaines maladies.

La relation microbiote intestinal-cerveau est un axe suscitant un intérêt croissant depuis une dizaine d'années. Des études commencent à mettre en évidence l'influence du microbiote intestinal sur le développement et le fonctionnement du cerveau et l'implication d'une dysbiose est évoquée dans certaines maladies neurodégénératives ou neuropsychiatriques.

Dans ce travail, nous nous sommes donc intéressés à l'effet potentiel du microbiote intestinal sur le stress et l'anxiété à travers des études précliniques sur les rongeurs et quelques études cliniques.

La première partie présente les notions de stress et d'anxiété. La deuxième partie décrit le microbiote intestinal, l'évolution de sa composition au cours de la vie, et les fonctions indispensables qu'il assure et qui permettent de comprendre comment il influence l'état de santé de l'hôte qui l'héberge.

Dans la troisième partie, l'axe microbiote- intestin- cerveau est introduit et il est fait le point sur les récentes découvertes montrant le rôle du microbiote intestinal dans la modulation de la réactivité au stress et de l'anxiété.

Pour finir, nous évoquerons la perspective, que ces résultats suscitent, de nouvelles stratégies visant à manipuler le microbiote intestinal pour atténuer le stress et l'anxiété via les apports de micro-organismes tels les probiotiques et/ou de substrats tels les prébiotiques.

I Stress et anxiété

I.1 Le stress

Le mot « stress » provient du verbe latin « *stringere* » qui signifie « mettre en tension ». Il est utilisé à la fois pour désigner l'agent responsable, la réaction à cet agent et l'état dans lequel se trouve celui qui réagit, ce qui en fait un concept complexe.

En biologie, la notion de stress se rapporte à l'ensemble des réactions physiologiques de l'organisme face à un agent intérieur ou extérieur menaçant le maintien de son homéostasie. Elle implique des réponses neuronales, neuroendocriniennes, métaboliques et comportementales.

Pour l'Agence européenne pour la sécurité et la santé au travail (EU-OSHA), « un état de stress survient lorsqu'il existe un déséquilibre entre la perception qu'une personne a des contraintes que lui impose son environnement et la perception qu'elle a de ses propres ressources pour y faire face. »

I.1.1 Evolution du concept de stress

Au milieu du XIX^{ème} siècle, le physiologiste Claude Bernard affirme la capacité des êtres vivants à se maintenir en équilibre et à stabiliser leur milieu intérieur face à un environnement qui change constamment. Il définit ainsi le concept d'homéostasie même si ce n'est que Walter Cannon qui inventera le mot au début du XX^{ème} siècle [1].

Le terme « stress » et certains aspects du concept qui lui est rattaché ont été introduits par Selye en 1936 [2]. Il décrit une série de réactions biologiques et physiologiques survenant sous l'effet de divers stimuli : mise en jeu de l'axe hypothalamo- hypophyso- surrénalien entraînant la sécrétion de cortisol, activation du système nerveux sympathique provoquant la stimulation de la médullosurrénale responsable de la sécrétion d'adrénaline et de multiples réactions viscérales. Selye conclut alors que toutes ces manifestations hormonales et neurologiques sont des indices objectifs de la réponse du corps et il définit le stress comme « la réponse non spécifique de l'organisme à toute demande qui lui est faite » et nomme « agent stressant » l'agent causant cette réaction. Le terme « non spécifique » signifie que la réponse est indépendante du type d'agent stressant.

Cette réponse réactive évolue en fonction de la durée de l'action de l'agent stressant selon le « Syndrome Général d'Adaptation » qui distingue trois phases successives : la phase d'alarme, brève, qui correspond à la mobilisation des réserves d'énergie pour assurer l'effort d'adaptation, la phase de résistance qui correspond à une intensification de la mobilisation

énergétique afin de soutenir l'effort et enfin, si les stimuli se prolongent, la phase d'épuisement des ressources, qui peut mener à de graves troubles et maladies, voir même à la mort .

Tous ces travaux sur le stress ont mis en évidence les modifications biologiques et organiques provoquées par des agents stressants au travers du système nerveux autonome et du système neuroendocrinien. Cette conception biologique du stress a ainsi dégagé une compréhension du stress comme une réponse de l'organisme visant à rétablir son homéostasie. Cette réponse non spécifique peut excéder les capacités d'adaptation de l'organisme et, dans ce cas, peuvent apparaître les maladies de l'adaptation.

Depuis la première définition de Selye en 1936, de nombreux travaux scientifiques ont été publiés sur le stress permettant de faire évoluer le concept : passant d'une réaction physiologique non spécifique à un processus psychobiologique complexe fortement dépendant de l'individu. Ainsi, le concept de la non spécificité de la réaction de stress a été contredit à partir des années 1960, par exemple par Mason qui a démontré l'importance de l'activation émotionnelle dans l'intensité des réponses au stress [3]. L'évaluation cognitive est cruciale dans l'activation émotionnelle et physiologique qui s'ensuit. Ainsi, en 1984, Lazarus et Folkman définissent le stress comme « une transaction entre la personne et son environnement, dans laquelle la situation est évaluée par la personne comme débordant ses ressources et pouvant mettre en danger son bien-être » [4]. L'évaluation cognitive d'une situation potentiellement stressante (ou transaction entre la personne et la situation) est en relation non pas tant avec les caractéristiques objectives de la situation mais avec la signification qui lui est attribuée. Suite à cette évaluation, la personne élabore des stratégies d'ajustement ou de « coping ». Celles-ci sont définies comme « les efforts cognitifs et comportementaux pour maîtriser, réduire ou tolérer les exigences internes et /ou externes créés par la transaction stressante ». Le processus de coping passe donc aussi bien par un processus de pensée (efforts cognitifs) que par l'action (efforts comportementaux). L'individu est alors considéré comme un acteur capable de moduler l'impact des agents stressants par des stratégies cognitives et comportementales [5].

Depuis, le rôle fondamental du cerveau et plus précisément du système cortico-limbique dans la réaction de stress est reconnu. Une nouveau modèle conceptuel émerge en 1988, celui d'allostasie (la stabilité dans le changement), notion introduite par Sterling et Eyer [6] et développée par McEwen [7]. Le stress est considéré comme un processus qui permet l'adaptation de l'organisme aux changements de l'environnement. Ainsi, la finalité des réactions de stress n'est plus de faire revenir à l'état initial ou de maintenir constantes les différentes variables biologiques mais de modifier leurs caractéristiques pour les ajuster aux demandes continuellement renouvelées de l'environnement. Si la réponse au stress se prolonge ou se répète, la recherche d'un nouvel état d'équilibre se fait au prix d'une consommation importante de ressources énergétiques. Le prix de cette adaptation s'appelle

« la charge allostatique ». Lorsque celle-ci est importante ou se prolonge, elle peut provoquer le développement d'un état pathologique.

Aujourd'hui, le stress est considéré comme un phénomène biologique, psychologique et social, qui met en jeu notre organisme dans sa globalité (corps et cerveau).

L'un des éléments fondamentaux et caractéristiques de la réponse au stress est l'activation de l'axe corticotrope HHS, qui constitue en quelque sorte la signature biologique du stress.

I.1.2 L'axe HHS

I.1.2.1 Fonctionnement de l'axe

L'axe HHS est composé de trois niveaux s'activant en cascade, permettant une réponse rapide de l'organisme à l'agent stressant [8].

Lors d'un stress, l'hypothalamus reçoit des stimulations directes du système limbique (dont l'amygdale et l'hippocampe) ainsi que des stimulations noradrénergiques provenant du tronc cérébral (medulla ventrolatérale VLM, et noyau du tractus solitaire NTS) et du locus coeruleus LC. En réponse à ces stimulations, le noyau paraventriculaire (PVN) de l'hypothalamus synthétise la corticolibérine (CRH ou CRF) et la vasopressine (AVP), qui vont stimuler synergiquement la synthèse et la libération de l'adrénocorticotropine (ACTH) par l'hypophyse antérieure. L'AVP potentialise la sécrétion de l'ACTH par l'adénohypophyse. L'ocytocine est également sécrétée à ce niveau avec une action inhibitrice. Ces deux substances permettent une action modulatrice de la sécrétion d'ACTH par l'hypophyse. Notons que le système sérotoninergique aurait également un rôle activateur avec une action directe à la fois sur la libération de CRH et d'ACTH. L'ACTH libérée dans la circulation sanguine gagne les glandes corticosurrénales où elle va stimuler à son tour la synthèse et la libération de corticostéroïdes.

Les corticostéroïdes (ou corticoïdes) comprennent les glucocorticoïdes (surtout le cortisol chez l'homme et la corticostérone chez les rongeurs et les volailles) et les minéralocorticoïdes (surtout l'aldostérone). Les corticostéroïdes agissent en périphérie sur de nombreux organes et sont responsables du rétrocontrôle négatif de l'axe HHS qui permet l'arrêt de la réaction de stress.

Les corticostéroïdes contribuent également, grâce à leurs récepteurs présents dans les structures cérébrales du système cortico- limbique, à la modulation finale de la réponse physiologique et comportementale à l'agent stressant (Figure 1).

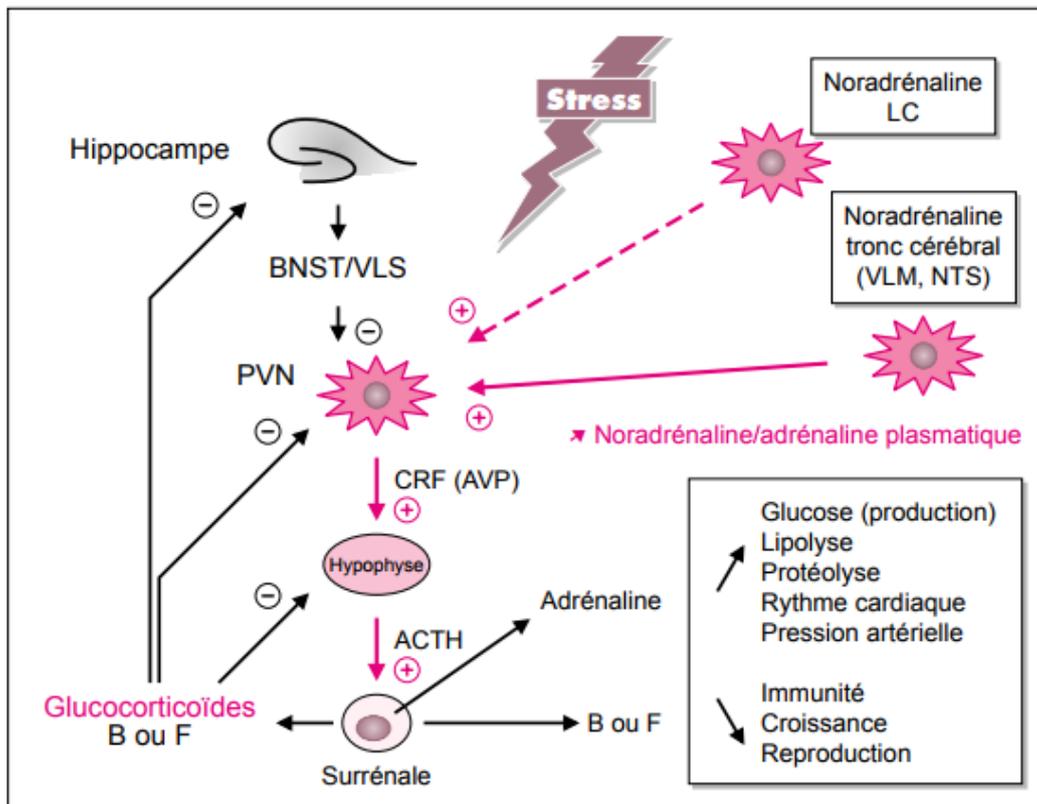


Figure 1 : Activation et rétrocontrôle négatif de l'axe HHS [9]

I.1.2.2 Effet périphérique des glucocorticoïdes (GC)

L'effet périphérique des glucocorticoïdes repose principalement sur la stimulation de la néoglucogénèse dans le foie, de la lipolyse dans les tissus adipeux et de la répression du système immunitaire. Une fois activé par la liaison d'une molécule de glucocorticoïde, le récepteur GR se dissocie du complexe multiprotéique et transloque dans le noyau où il peut réguler l'expression de gènes impliqués dans la réaction de stress selon deux principaux mécanismes.

Il peut réguler l'expression des gènes en se liant à l'ADN sur des séquences (GRE : Glucocorticoid Reponse Elements) présentes sur le promoteur de ces gènes et va activer ou inhiber l'expression de ces gènes selon si le GRE est positif ou négatif. Par exemple lors d'un stress, les glucocorticoïdes libérés vont activer l'expression de gènes dans le foie et ainsi être impliqués dans le processus de néoglucogénèse favorisant l'augmentation de l'apport énergétique pendant l'effort d'adaptation à l'agent stressant.

Les GC peuvent également agir en interagissant avec d'autres facteurs de transcription comme le NFκB ou l'AP1, les empêchant alors d'activer certains gènes. C'est le cas par exemple des gènes des cytokines pro-inflammatoires.

D'autre part, le stress active également le système autonome descendant, ce qui a pour résultat une augmentation de la sécrétion de catécholamines périphériques (adrénaline et noradrénaline).

I.1.2.3 Récepteurs GC

Il existe deux types de récepteurs aux glucocorticoïdes dans le cerveau : les récepteurs minéralo-corticoïdes MR et les récepteurs glucocorticoïdes GR. Les MR sont majoritairement présents sur l'hippocampe tandis que les GR ont une répartition ubiquitaire. Les glucocorticoïdes ont plus d'affinité pour les MR, ainsi les MR régulent l'action basale de l'axe, tandis que les GR ont une action plus ponctuelle et déterminante dans les mécanismes de rétrocontrôle [8].

I.1.2.4 Axe HHS à l'état basal : rythme circadien

L'activité de l'axe HHS varie au cours du nyctémère.

Chez l'homme la sécrétion des glucocorticoïdes est mesurée par le cortisol tandis que chez le rongeur elle est mesurée par la corticostérone. Chez l'homme, le pic de sécrétion apparaît juste avant le lever du jour tandis que chez les rongeurs, animaux nocturnes, le pic a lieu juste avant la nuit.

I.1.2.5 Modulation de la réponse physiologique et comportementale à l'agent stressant par le système cortico limbique

En temps normal c'est-à-dire lorsque l'organisme est soumis à un agent stressant ponctuel, la quantité de glucocorticoïdes est régulée : l'hypothalamus perçoit la quantité de glucocorticoïdes contenue dans le sang, si cette quantité dépasse un seuil, l'hypothalamus cesse de produire la CRH, donc l'hypophyse arrête la production d'ACTH, donc la cortico-surrénale stoppe la fabrication des glucocorticoïdes. Ce rétrocontrôle est lui-même modulé par l'hippocampe qui possède des récepteurs GC. Enfin les GC exercent une action directe frénatrice sur la sécrétion d'ACTH et donc de GC par une action directe sur l'hypophyse.

La présence d'un système de rétrocontrôle efficace empêche une activation prolongée et inutile de l'axe HHS et permet de retrouver une situation d'homéostasie.

Mais en situation de stress chronique c'est-à-dire d'exposition prolongée et/ou répétée à un agent stressant, les pensées provenant du système limbique bloquent le rétrocontrôle des

glucocorticoïdes sur l'hypothalamus. Il y a donc une production excessive de CRH, donc d'ACTH, donc de glucocorticoïdes.

Une suractivation chronique de l'axe HHS peut conduire au développement de nombreuses pathologies telles le diabète de type II, l'obésité abdominale, l'hypertension artérielle, des pathologies cardiovasculaires (athérosclérose, thrombose), des pathologies infectieuses ou tumorales favorisées par l'affaiblissement du système immunitaire, ainsi qu'à la survenue d'épisodes dépressifs. L'effet toxique d'une production excessive de cortisol se manifeste aussi sur l'hippocampe par une dégradation de la mémoire et des capacités d'apprentissage et de la gestion des émotions.

En conclusion, le stress peut être considéré comme bénéfique lorsqu'il est ponctuel car il nous permet de réagir à un danger immédiat, mais il devient dangereux pour notre santé lorsqu'il est répété et/ou prolongé.

I.2 L'anxiété

Freud définit l'anxiété comme un signal de la présence d'un danger dans l'inconscient. Ainsi, en psychiatrie, l'anxiété correspond à un état de non-quiétude dans lequel prédomine l'appréhension d'une situation qui, bien que généralement indéterminée, pourrait s'avérer désagréable, voire dangereuse. Elle entraîne souvent le déclenchement d'une réaction de stress, le sujet anxieux étant en constante alerte, à la recherche de la présence d'hypothétiques stressseurs. Inversement, une situation stressante prolongée (problèmes d'argent, stress au travail, relations difficiles...) peut engendrer de l'anxiété. Dans de nombreux cas, l'anxiété occasionnée par des facteurs de stress (par exemple la présence d'un danger imminent et réel, une situation d'examen, un deuil, la maladie d'un proche..) reste normale, et disparaît lorsque le facteur de stress a disparu. Cependant, lorsque l'anxiété se manifeste de façon déraisonnable et prend un caractère excessif et incontrôlable, elle peut devenir pathologique : on parle alors de troubles anxieux.

Selon Spielberger, il convient de distinguer l'anxiété-état qui correspond à un état passager et peut survenir temporairement chez tout individu, et l'anxiété-trait qui est un trait de la personnalité et correspond à une disposition et vulnérabilité particulières à percevoir des situations comme menaçantes et donc à ressentir l'anxiété (anxiété d'état). Un niveau élevé d'anxiété-trait est réputé avoir un caractère pathologique.

I.2.1 Classification des troubles anxieux

La classification des troubles anxieux est née de la nécessité d'uniformiser la classification des maladies sur le plan national et international.

La cinquième édition du Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders (DSM-5) publié en 2013 par l'American Psychiatric Association (APA) classe les troubles anxieux en :

- Trouble panique
- Agoraphobie
- Anxiété sociale (phobie sociale)
- Phobie spécifique
- Anxiété généralisée
- Anxiété de séparation
- Mutisme sélectif
- Trouble anxieux induit par une substance / un médicament
- Trouble anxieux dû à une autre affection médicale
- Autre trouble anxieux spécifié
- Trouble anxieux non spécifié.

Cette classification est la classification de référence pour toute publication internationale [10].

Une autre classification, la Classification Internationale des Maladies, dixième édition (CIM-10) publiée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) regroupe dans le chapitre V les « Troubles mentaux et du comportement ». Une nouvelle édition, la CIM-11 est prévue pour 2018.

Afin d'harmoniser les deux classifications, les codes permettant d'enregistrer les diagnostics sont les mêmes dans le DSM-5 et la CIM-10.

I.2.2 Tests comportementaux d'anxiété

Il existe plusieurs tests comportementaux destinés à évaluer les comportements de type anxieux chez les rongeurs, les facteurs anxiogènes et les paramètres mesurés variant selon les tests. Ces tests apportent une meilleure connaissance des circuits neurobiologiques impliqués dans l'anxiété et sont un outil précieux pour la recherche préclinique en permettant la prédiction des réponses pharmacologiques de molécules à visée anxiolytique.

I.2.2.1 Test du champ ouvert (“Open Field”, OF)

L'animal est placé dans un coin d'une enceinte rectangulaire vide entourée de parois, au sol quadrillé, fortement éclairée au centre. Il est partagé entre sa curiosité naturelle pour un environnement nouveau et sa peur des espaces ouverts et fortement éclairés. Dans son activité exploratrice de l'enceinte, moins l'animal passe par le centre et plus il reste près des murs, plus il est considéré comme anxieux. Le niveau de stress peut varier en modifiant l'intensité lumineuse de l'OF et sa couleur (le blanc est plus stressant que le noir). La durée du test est de 6 minutes (Figure 2) [11].

Sont mesurés le temps de latence (temps mis par l'animal pour sortir ses quatre pattes du coin initial), le temps passé dans les coins, le nombre de passages au centre et le nombre de carreaux parcourus, ainsi que des caractéristiques comportementales comme le nombre de redressements, toilettages, défécations et urinations.

Les nombres de défécations et d'urinations sont proportionnels au niveau d'anxiété alors que les nombres de toilettages et de redressements sont inversement proportionnels au niveau d'anxiété.

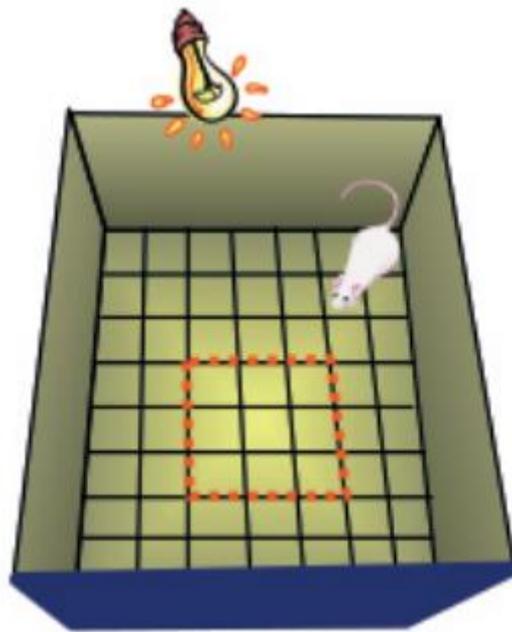


Figure 2 : Dispositif « Champ ouvert » [11]

I.2.2.2 Test Thatcher-Britton (Novelty-Suppressed Feeding)

Le test « Thatcher-Britton » est une variante de l'« Open Field ». L'animal est d'abord privé de nourriture pendant 24 heures, puis la nourriture est ensuite placée au centre de l'Open Field. L'animal est partagé entre le désir de satisfaire un besoin biologique (la faim) et sa

crainte de s'aventurer au centre de l'enceinte. Plus il met de temps avant de commencer à manger, plus il est considéré comme anxieux. La durée du test est de 6 minutes [12].

Sont mesurés le temps de latence pour commencer à se nourrir et la quantité totale de nourriture mangée, le temps de latence pour la première « visite » à la nourriture (correspondant au premier passage au centre de l'OF) et le nombre de « visites » à la nourriture, ainsi que d'autres paramètres comme le nombre de redressements, de toilettages et la fréquence d'urinations.

I.2.2.3 Test du labyrinthe en croix surélevé (« Elevated Plus Maze », EPM)

L'animal est placé au centre d'une croix grecque comprenant deux branches protégées par des parois (bras fermés), et deux branches sans parois (bras ouverts) ; le tout est placé à 70 cm du sol. L'animal est partagé entre sa curiosité naturelle pour un environnement nouveau et sa peur des espaces ouverts (non protégés) et du vide. Dans son activité exploratoire du labyrinthe, moins il se rend dans les bras ouverts, plus il est considéré comme anxieux. La durée du test est de 5 minutes (Figure 3) [11].

Sont mesurés le temps de latence de première entrée dans un bras ouvert, le nombre d'entrées et le temps passé dans les bras ouverts et fermés, le nombre de visites à l'extrémité d'un bras ouvert, le temps passé au centre de la croix (temps d'hésitation), ainsi que le nombre de défécations, toilettages, redressements et étirements.

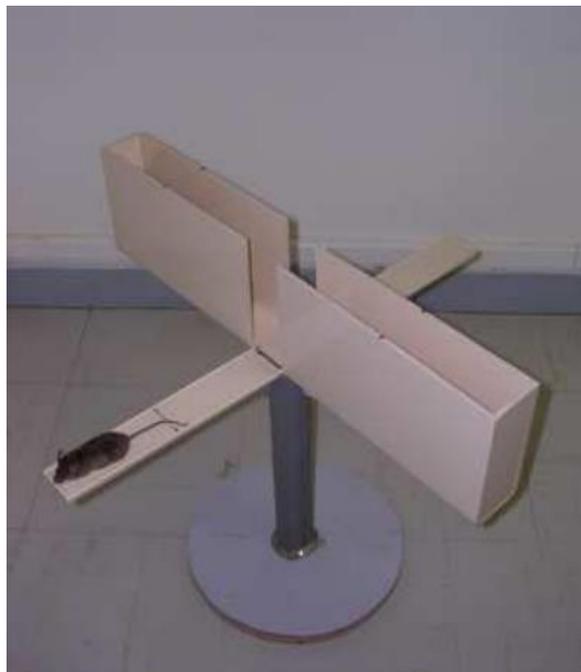


Figure 3 : Dispositif « Labyrinthe en croix surélevé » [13]

I.2.2.4 Test de step down

L'animal est placé au centre d'une plateforme située à 5 cm au-dessus du sol. Plus le temps de latence pour décider de descendre de la plateforme est long, plus l'animal est considéré comme anxieux. La durée du test est de 5 minutes (Figure 4) [11].



Figure 4 : Dispositif « Step Down » [14]

I.2.2.5 Test clair et obscur (« Light Dark Test », L/D)

L'animal est placé dans le compartiment de couleur noire d'une boîte. Ce compartiment petit et sombre communique avec un compartiment de couleur blanche grand et illuminé. Le rongeur a naturellement peur des espaces très éclairés. Moins il se rend dans le compartiment blanc, plus il est considéré comme anxieux. La durée de ce test est de 10 minutes (Figure 5) [11].

Sont mesurés le temps de latence pour passer dans le comportement illuminé, le nombre de changements entre les compartiments sombre et illuminé, le temps total passé et la distance parcourue dans chaque compartiment ainsi que d'autres paramètres comme le nombre de défécations et d'urinations.

Dans certaines études, l'animal est placé initialement au centre du comportement illuminé.

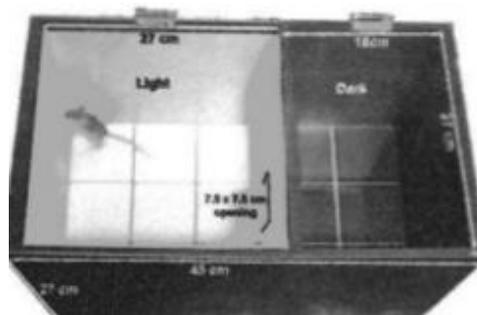


Figure 5 : Dispositif « Clair /obscur » [15]

I.2.2.6 Test de la planche à trous (« Holeboard »)

L'animal est placé dans un coin d'une enceinte dont le sol est une planche épaisse surélevée percée de plusieurs trous régulièrement espacés. La curiosité naturelle du rongeur le pousse à explorer les trous.

Moins il explore de trous (c'est-à-dire rentre la tête jusqu'aux oreilles dans le trou), plus il est considéré comme anxieux. La durée du test est de 5 minutes (Figure 6).

Sont évalués le nombre d'explorations de chaque trou, le nombre total de trous explorés, le nombre de trous explorés par zone (périphérique et centrale), ainsi que d'autres paramètres tels que le nombre d'entrées, la distance parcourue et le temps cumulé passé dans les différentes zones.



Figure 6 : Dispositif « Planche à trous » [16]

I.2.2.7 Test d'enfouissement de billes (« Marble Burying »)

L'animal est placé dans une cage standard, dans laquelle plusieurs rangées de billes sont disposées régulièrement à la surface de la litière. Par instinct, le rongeur enterre les objets qu'il perçoit comme potentiellement dangereux ; ici il va enterrer les billes avec de la litière. Ce comportement étant atténué par des anxiolytiques, on peut dire qu'il est motivé, en partie du moins, par l'anxiété. Plus le temps à enfouir la première bille est court, et plus le nombre de billes enfouies est élevé, plus l'animal est considéré comme anxieux (une bille est

considérée enfouie lorsqu'au moins les 2/3 de la bille se trouvent sous la litière). La durée du test est de 30 minutes [12].

I.2.2.8 Test d'enfouissement défensif (Defensive Burying)

L'animal est placé dans une cage standard avec litière, contenant une sonde. Lorsqu'il explore son territoire et touche la sonde, il reçoit un choc électrique. Par instinct, le rongeur enterre les stimuli menaçants rencontrés ; ici il va enterrer la sonde avec de la litière. Plus il prend de temps pour le faire et plus la litière est haute, plus l'animal est considéré comme anxieux (Figure 7) [12].

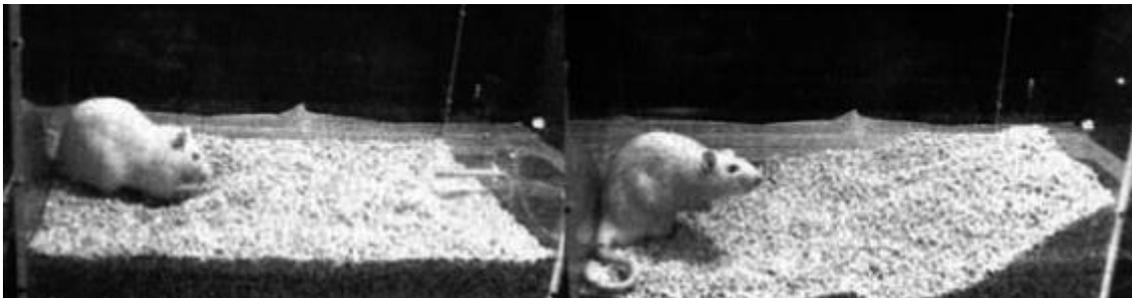


Figure 7 : Dispositif « enfouissement défensif » [17]

I.2.2.9 Test d'interactions sociales

Chez l'homme, la majorité des facteurs stressants sont d'origine sociale, aussi est-il important de disposer d'un modèle animal construit sur des stress sociaux.

Ici, deux rongeurs de sexe et de poids similaires, qui ne se sont jamais vus, sont introduits successivement dans une même cage vide dont ils ont pris connaissance 10 minutes par jour les deux jours précédant le test. Le facteur anxiogène utilisé est la confrontation avec un congénère inconnu. Moins l'animal réalise d'interactions sociales avec son partenaire, plus il est considéré comme anxieux. La durée du test est de 10 minutes.

Sont mesurés le temps passé à l'auto-toilettage en tant que donnée individuelle et aux interactions sociales par paire d'animaux comme les temps de flairement, poursuite, glissement sous (« crawling under ») et passage sur (« crawling over ») le partenaire.

I.2.3 Mécanismes neurobiologiques impliqués dans les troubles anxieux

L'étiologie des troubles anxieux est encore mal connue. Plusieurs systèmes de neurotransmetteurs semblent être impliqués dont les systèmes GABAergiques et monoaminergiques.

I.2.3.1 Le système GABAergique

L'un des éléments essentiels pour le contrôle de l'anxiété est l'acide gamma aminobutyrique (GABA). C'est le principal neurotransmetteur inhibiteur dans le cerveau humain. Il est impliqué dans la modulation de la neurotransmission, notamment via la réglementation de l'excitabilité neuronale. Il exerce ses effets d'inhibition synaptique dans le système nerveux central par l'activation des récepteurs GABA [18].

Dans l'étiologie des troubles anxieux se retrouve une diminution du tonus GABAergique, en effet, certaines études de neuro-imagerie cérébrale ont mis en évidence une diminution des taux de GABA et des récepteurs GABA dans différentes structures cérébrales de patients souffrant de troubles anxieux [19].

I.2.3.2 Les systèmes monoaminergiques

La sérotonine, la dopamine et la noradrénaline jouent un rôle important dans l'anxiété.

- **Sérotonine (5-HT)**

La découverte de l'efficacité sur les troubles anxieux des médicaments agissant sur le système sérotoninergique confirme l'implication de la 5-HT dans les troubles anxieux. Il n'existe aujourd'hui aucun moyen direct de mesurer le niveau de sérotonine ou les décharges de neurones sérotoninergiques chez l'homme, c'est pourquoi la relation précise du système sérotoninergique avec les troubles anxieux n'est pas connue. Actuellement, pour caractériser le fonctionnement de la 5-HT dans l'anxiété, les observations cliniques, les méthodes indirectes, les tests de provocation pharmacologique et la neuro imagerie fonctionnelle sont utilisés [20].

- **Dopamine et Noradrénaline**

La noradrénaline est produite par l'hydroxylation de la dopamine sous l'action de la dopamine bêta-hydroxylase. Les récepteurs à la noradrénaline sont les récepteurs de type alpha et bêta. Dans l'anxiété, le récepteur impliqué est le récepteur alpha2 ; il agit en tant qu'auto-récepteur par inhibition de la libération continue de la noradrénaline. Les récepteurs bêta périphériques interviennent dans les effets périphériques autonomes de l'anxiété (accélération du rythme cardiaque, tremblements et transpiration), mais ils ne seraient pas impliqués directement dans l'expérience consciente de l'anxiété [20].

I.2.3.3 Les autres systèmes cérébraux

Il existe d'autres systèmes cérébraux impliqués dans les troubles anxieux tels que les endocannabinoïdes, les neuropeptides (opioïdes endogènes, neuropeptide Y, substance P, cholécystokinine) et le glutamate, qui ne seront pas abordés dans ce travail [20].

Des études récentes semblent montrer l'implication du microbiote intestinal comme modulateur du comportement de type anxieux, ce sera l'objet du chapitre III.

II Microbiote

II.1 Présentation

Le microbiote humain est l'ensemble des micro-organismes hébergés par notre corps. Il est composé essentiellement de bactéries, mais aussi d'autres micro-organismes tels que les archées, champignons et virus.

Différents microbiotes sont présents dans l'organisme, au niveau de la bouche, du nez, de la peau, des poumons, du vagin... Le plus important d'entre eux est le microbiote intestinal qui est réparti tout au long du tractus digestif et dont la composition reste encore incomplètement définie. Il est estimé à ce jour à environ 10^{14} micro-organismes soit 10 fois plus que de cellules humaines, pour un poids d'environ 2 kg, soit plus que notre cerveau [21]. Une étude récente tendrait à prouver que le ratio bactéries/cellules humaines serait plutôt proche de 1/1 avec une moyenne de l'ordre de $3,9 \times 10^{13}$ bactéries [22]. Ces micro-organismes représentent un génome bactérien d'environ 10^7 gènes, chaque microbiote intestinal contenant en moyenne 600 000 gènes soit 25 fois plus que le génome humain [21].

Le microbiote intestinal contribue aux fonctions digestive, métabolique, immunitaire et neurologique. En conséquence, la dysbiose, c'est-à-dire l'altération qualitative et fonctionnelle du microbiote intestinal jouerait elle-même un rôle dans l'initiation ou tout du moins le maintien ou la sévérité de certaines maladies [23]. Hippocrate ne disait-il pas : « Toute maladie débute dans l'intestin » ?

II.2 Composition et répartition

La répartition des bactéries le long du tube digestif n'est pas homogène, la densité augmentant dans le sens oro-anal pour être maximale au niveau du côlon avec plus de 10^{11} bactéries par gramme de contenu. Ces variations sont liées au gradient de pH et d' O_2 existant le long du tube digestif. De par son pH acide, l'estomac est un milieu très pauvre en bactéries. A l'inverse, le côlon est un milieu très riche en bactéries son pH étant peu acide, d'autant plus que le transit est lent et les nutriments disponibles abondants. En outre, une diminution progressive des bactéries aérobies-anaérobies facultatives est observée au profit des bactéries anaérobies strictes au niveau du côlon, ainsi ces dernières sont environ 1000 fois plus nombreuses que les bactéries aérobies-anaérobies facultatives dans le côlon distal.

Par ailleurs, à un même niveau du tractus digestif, certaines bactéries sont plus facilement rencontrées au niveau de la lumière ou à l'inverse au niveau de la muqueuse, ainsi les espèces anaérobies sont plus nombreuses dans le mucus que dans le lumen [24].

II.2.1 Les Phyla

La majorité des espèces bactériennes dominantes du microbiote intestinal appartiennent à trois phylas bactériens majeurs : les *Firmicutes*, les *Bactéroidetes* et les *Actinobacteria* (Figure 8).

Les *Firmicutes* et les *Bactéroidetes* représentent 90% de la population totale, les *Firmicutes* étant plus abondants que les *Bactéroidetes*.

Le phylum des *Firmicutes* (Gram positifs) est constitué majoritairement de bactéries appartenant à la classe des *Clostridia*. Sont présents les genres *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus* et *Butyrivibrio*, ainsi que l'espèce *Faecalibacterium prausnitzii*. Fréquemment représentés mais dans des proportions plus faibles, on trouve aussi les genres *Lactobacillus* et *Streptococcus* de la classe des *Bacilli*.

Le phylum des *Bacteroidetes* (Gram négatifs) est quant à lui représenté notamment par plusieurs espèces de *Bacteroides* et de *Prevotella*.

Le phylum des *Actinobacteria* (Gram positifs) représente quelques pourcents de la dominance, on y trouve les genres *Bifidobacterium* ainsi que *Collinsella* et *Atopobium*.

Le phylum des *Proteobacteria* (Gram négatifs) est plus faiblement représenté avec notamment les entérobactéries comme l'espèce *Escherichia coli*.

Par ailleurs, même s'ils sont faiblement représentés, une cinquantaine d'autres Phyla ont été dénombrés [24, 25].

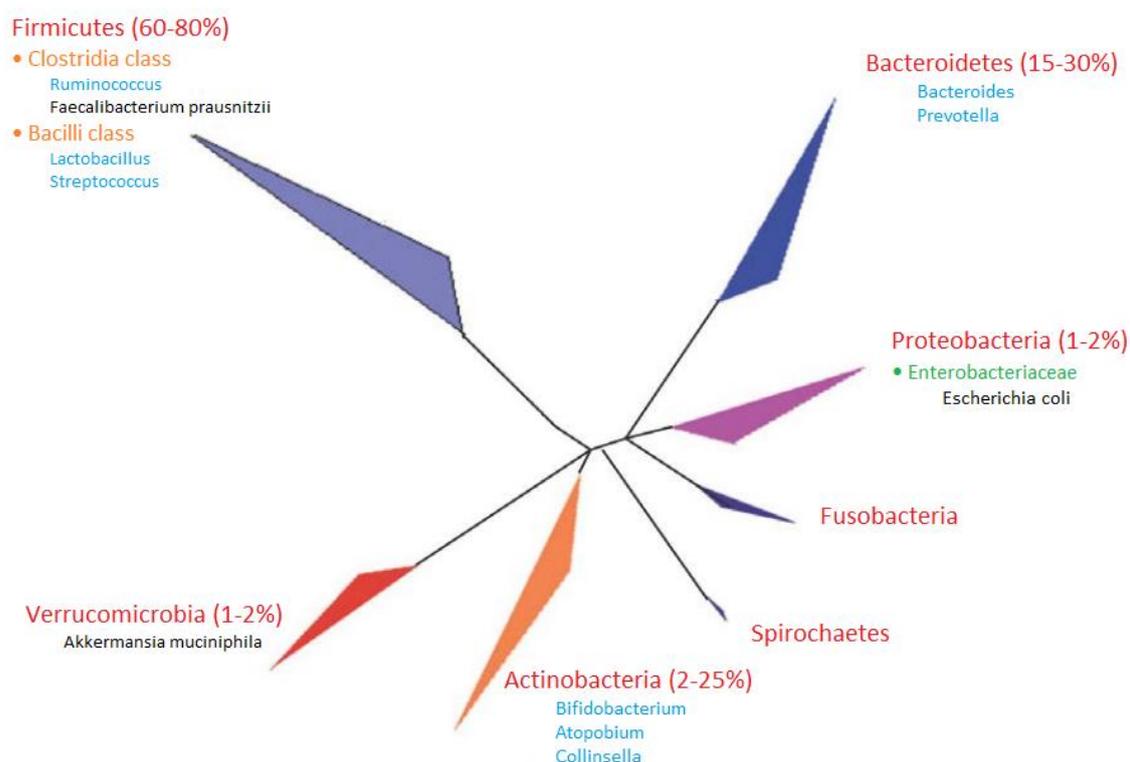


Figure 8 : Abondance relative des phyla majoritaires du microbiote intestinal humain

Figure adaptée de Cheng et al, 2013 [25]

II.2.2 Les entérotypes

La composition du microbiote est pour une large part spécifique de l'hôte, ainsi seulement 1/3 des espèces bactériennes seraient communes d'un individu à l'autre.

Néanmoins, les microbiotes intestinaux peuvent être classés en trois groupes distincts en fonction du genre bactérien qui prédomine : les entérotypes *Bacteroides*, *Prevotella* et *Ruminococcus*.

Il a été montré que les entérotypes n'étaient pas liés à l'origine géographique, ni à l'âge, ni au sexe, ni à l'état de santé de l'individu [26], en revanche les habitudes alimentaires au long court pourraient avoir une influence majeure, l'entérotype *Bacteroides* étant dominant chez les individus ayant un régime occidental riche en sucres simples, protéines et graisses animales tandis que l'entérotype *Prevotella* est dominant chez les forts consommateurs de fruits et de légumes (fibres) [27].

Si un individu héberge dans son microbiote 600 000 gènes en moyenne, le nombre de gènes peut varier de 200 000 à plus de 800 000. Il apparaît que la population se sépare en deux groupes, l'un avec un microbiote riche et l'autre avec un microbiote appauvri, l'entérotype

Bacteroides étant prévalent chez les individus à microbiote appauvri tandis que les entérotypes *Prevotella* et *Ruminococcus* sont plus fréquents chez les individus à microbiote enrichi (Figure 9). Or il apparaît que la richesse en gènes est un marqueur de la symbiose entre le microbiote et son hôte. En effet, par exemple dans le cas de l'obésité, les personnes non obèses ont tendance à avoir un microbiote riche alors que près de 75% des personnes ayant une obésité avancée ont un microbiote appauvri [28].

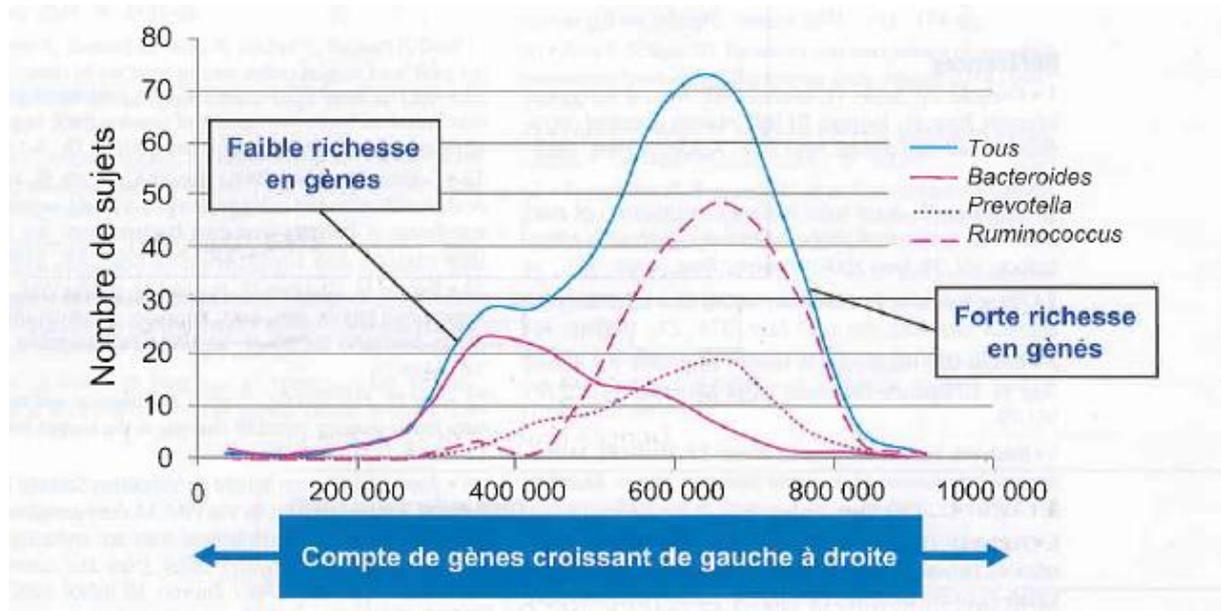


Figure 9 : Distribution des microbiotes en fonction de leur richesse en gènes et par entérotypes [28]

II.3 Etablissement du microbiote intestinal

L'établissement du microbiote intestinal débute dès la naissance. Le nouveau-né naît avec une absence de bactéries dans son tractus digestif ou du moins un nombre limité de ceux-ci, des études suggérant l'existence d'une colonisation in utero par le biais du placenta [29].

Il va être rapidement colonisé par des micro-organismes, tout d'abord par ceux de la mère (vaginaux, fécaux, cutanés..), puis ceux de l'environnement où a lieu la naissance (l'air, le personnel soignant etc.).

Chez le nouveau-né à terme, les premières bactéries à s'implanter sont les bactéries aérobies-anaérobies facultatives (staphylocoques, entérocoques, entérobactéries). Atteignant en quelques jours des taux élevés, ces bactéries consomment de l'oxygène, ce qui permet l'implantation des genres anaérobies stricts tels que les genres *Bifidobacterium*, *Bacteroides* et *Clostridium*.

Par la suite, l'exposition continue de l'enfant à de nouvelles bactéries provenant de l'environnement, des bactéries cutanées de l'adulte et de l'alimentation permet au microbiote de se diversifier.

Vers 3 ans, le microbiote devient stable et est similaire à celui des adultes, néanmoins il continue à évoluer pendant toute la vie [30].

Plusieurs facteurs influencent l'établissement du microbiote parmi lesquels le mode d'accouchement, le terme de naissance, l'environnement, le mode d'alimentation, l'antibiothérapie et plus récemment mis en cause le stress maternel prénatal.

II.3.1 Influence du mode d'accouchement

L'implantation du microbiote chez les enfants nés par césarienne est différente de celle des enfants nés par voie basse. En effet, les enfants nés par césarienne rencontrent d'abord les bactéries de leur environnement contrairement à ceux nés par voie basse qui rencontrent en premier lieu les bactéries d'origine fécale (entérobactéries et bifidobactéries) et vaginale (lactobacilles) de leur mère. Ils ont leur microbiote anaérobie strict qui s'implante beaucoup plus tardivement, ce retard portant principalement sur les genres *Bifidobacterium* et *Bacteroides*, bactéries d'origine entérique [30].

II.3.2 Influence du terme de naissance

Il a été constaté un retard d'implantation du microbiote chez les enfants nés prématurément par rapport aux enfants nés à terme avec une colonisation par un nombre plus réduit d'espèces bactériennes. Les genres anaérobies stricts *Bacteroides* et *Bifidobacterium* sont particulièrement touchés. Ce retard d'implantation peut s'expliquer par le fait que les enfants nés prématurément sont plus fréquemment nés par césarienne, sont rapidement séparés de leur mère et placés dans un environnement aseptisé et fréquemment soumis à une antibiothérapie à large spectre [30].

II.3.3 Influence du mode d'alimentation

La composition du microbiote intestinal varie également en fonction du type d'alimentation, en effet les nouveau-nés nourris au sein ont un microbiote riche en *Bifidobacterium*. Les nouveau-nés nourris au lait artificiel ont un microbiote plus varié, néanmoins si des bifidobactéries peuvent être présentes, il ne s'agit pas de l'espèce *bifidum* fortement

impliquée dans la mise en place de l'effet barrière du microbiote intestinal, pouvant expliquer l'implantation d'un microbiote plus varié.

D'autre part, l'implantation des entérobactéries et surtout des *Clostridium* et des *Bacteroides* est retardée ou se fait à un niveau moins élevé chez les nouveau-nés allaités.

Néanmoins avec la mise en place de l'alimentation mixte, ces variations se normalisent [30].

II.3.4 Influence d'une antibiothérapie

Une antibiothérapie chez le nouveau-né est un facteur de risque de colonisation par des bactéries potentiellement pathogènes et résistantes aux antibiotiques telles les entérobactéries, parallèlement à une diminution de bactéries potentiellement bénéfiques tels les bifidobactéries et les lactobacilles. De tels effets semblent souligner l'importance d'une utilisation raisonnée des antibiotiques pendant la petite enfance, en favorisant les antibiotiques à spectre étroit.

De même, l'antibiothérapie administrée à la mère per partum peut aussi influencer l'implantation du microbiote du nouveau-né, et pourrait être responsable d'une altération de l'effet barrière favorisant la colonisation par des micro-organismes résistants [30].

II.3.5 Influence de l'environnement

Depuis une dizaine d'années, on observe un retard d'implantation du microbiote intestinal d'origine maternelle chez les nouveau-nés dans les pays industrialisés, vraisemblablement dû aux conditions d'hygiène périnatales beaucoup plus strictes dans ces pays que dans les pays en voie de développement. Ce retard porte principalement sur certains genres bactériens anaérobies stricts tels *Bacteroides* et *Bifidobacterium* [30].

De plus, il a été prouvé que les enfants vivant dans un environnement type ferme, en contact avec les animaux, la terre, les plantes, développaient un microbiote plus riche et diversifié que ceux vivant dans un environnement type ville [21].

II.3.6 Influence du stress maternel prénatal

D'après une étude récente, il existerait une corrélation entre les mères enceintes soumises à un niveau élevé de stress et la composition du microbiote intestinal des nouveau-nés. En effet, ces bébés avaient des concentrations relativement plus élevées d'entérobactéries

potentiellement pathogènes tels les genres *Escherichia*, *Serratia* et *Enterobacter*, et moins de bactéries lactiques tels les genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Aerococcus*, et aussi le genre *Bifidobacterium* [31].

Si le microbiote intestinal est considéré comme stable aux alentours de 3 ans, il varie néanmoins au cours du temps en fonction de la fluctuation des hormones sexuelles, de l'alimentation, de l'environnement, de traitements médicaux (antibiotiques), d'infections intestinales ou encore d'un stress psychologique. Cependant, cette modification est temporaire et se caractérise par sa résilience c'est à dire sa capacité à revenir à sa composition initiale [32].

Après une grande période de stabilité à l'âge adulte, le microbiote de la personne âgée se modifie, sa diversité diminue et il existe une plus grande variabilité interindividuelle [25].

II.4 Fonctions du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal exerce de nombreuses fonctions physiologiques bénéfiques à l'hôte : fonctions nutritives et métaboliques, protectrices et immunitaires.

II.4.1 Fonctions nutritives et métaboliques

La fonction principale du microbiote intestinal est la fermentation des résidus alimentaires non digestibles par le corps humain. Ainsi, sans l'action du microbiote intestinal, l'hôte ne bénéficie pas de l'apport énergétique de certains nutriments, et requiert alors un apport calorique plus important pour couvrir ses besoins [23].

Les bactéries du microbiote intestinal possèdent des enzymes et des voies biochimiques complémentaires qui aident à la fermentation de certains composés lors de la digestion permettant de les rendre absorbables par l'hôte. C'est le cas des fibres présentes dans les aliments d'origine végétale ou encore des polysides qui composent la paroi des végétaux (cellulose, pectines, hémicellulose).

Cette fermentation des aliments par le microbiote entraîne la libération d'ammoniaque, d'acides gras à chaînes courtes et de gaz (hydrogène, gaz carbonique et méthane) qui eux seront éliminés sous forme de flatulences ou par voie pulmonaire.

Certains acides gras libérés (propionate, acétate, butyrate) sont des nutriments pour les cellules intestinales. Ils sont utilisés comme source d'énergie, préservant l'intégrité de la

muqueuse colique et stimulent les échanges d'eau et de minéraux. L'ammoniaque générée est utilisée pour la synthèse protéique des bactéries et leur croissance [33].

De plus, le microbiote intestinal intervient dans le métabolisme nutritionnel de l'hôte en produisant des vitamines (du groupe B et vitamine K), en participant à l'absorption du calcium, du magnésium et du fer, ou encore en modifiant la distribution et le stockage des lipides [23].

II.4.2 Fonctions protectrices

L'effet de barrière est un effet protecteur du microbiote intestinal non seulement vis à vis des bactéries pathogènes exogènes, mais également vis à vis de bactéries présentes dans l'intestin en faible quantité et potentiellement délétères si leur concentration augmente.

Cet effet se traduit par une compétition pour les nutriments et les sites d'adhérence épithéliaux entre les bactéries pathogènes et les bactéries commensales.

Par ailleurs, le microbiote induit la production par les cellules épithéliales d'une grande partie des peptides anti-microbiens, ce qui joue un rôle majeur dans la défense contre les agents pathogènes.

Les bactéries du microbiote produisent également des bactériocines, toxines protéiques qui tuent ou inhibent la croissance de souches bactériennes. Elles participent donc à l'effet barrière en s'attaquant aux bactéries pathogènes.

Enfin, le microbiote stimule la production des Immunoglobulines A (IgA) sécrétoires et renforce les jonctions serrées entre les cellules épithéliales. Les IgA sécrétoires limitent le contact des bactéries avec la surface épithéliale et leur pénétration dans la muqueuse. Les jonctions serrées, quant à elles, sont des complexes protéiques qui empêchent la diffusion para-cellulaire de micro-organismes et d'antigène à travers l'épithélium [33].

II.4.3 Fonctions immunitaires

Le microbiote intestinal joue un rôle fondamental dans le développement et la maturation du système immunitaire. Actuellement, les informations dont nous disposons proviennent d'études comparatives entre des souris axéniques (nées et élevées en conditions stériles, donc sans microbiote) et les souris conventionnelles (nées et élevées en conditions non contrôlées donc avec un microbiote complexe).

Les animaux axéniques ont en effet de nombreuses anomalies au niveau du système immunitaire intestinal : hypoplasie des plaques de Peyer, nombre de lymphocytes intra-épithéliaux réduits, déficit en certaines populations lymphocytaires T, sécrétion intestinale d'immunoglobulines A réduite, concentration d'immunoglobulines sériques et production de cytokines limitées.

Certaines espèces bactériennes sembleraient avoir des propriétés spécifiques. En effet, certaines stimulent plutôt les lymphocytes effecteurs Th17 (pro-inflammatoires) alors que d'autres stimulent plutôt les lymphocytes T régulateurs Treg (anti-inflammatoires). L'équilibre entre les deux est indispensable au maintien de l'homéostasie intestinale [33].

Nous venons de voir que le microbiote intestinal assure de nombreuses fonctions indispensables à la santé de l'hôte. De plus en plus d'études montrent une relation entre une modification de la composition du microbiote intestinal et de nombreuses pathologies (Tableau 1) [25].

Tableau 1 : Pathologies ou troubles fonctionnels associés à des dysbioses du microbiote intestinal [25]

Pathologies	Observations les plus pertinentes et corrélations potentielles
Maladie de Crohn	Diminution de la diversité du microbiote Réduction de <i>F. prausnitzii</i>
Rectocolite hémorragique	Diminution de la diversité du microbiote Réduction de <i>A. muciniphila</i>
Syndrome de l'intestin irritable	Augmentation de <i>Dorea</i> et de <i>Ruminococcus</i>
Infection à <i>Clostridium difficile</i>	Forte diminution de la diversité du microbiote Présence de <i>C. difficile</i>
Cancer colorectal	Variation des <i>Bacteroides</i> Augmentation des <i>Fusobacteria</i>
Allergie/atopie	Diversité altérée Signatures microbiennes spécifiques
Maladie cœliaque	Composition altérée particulièrement dans l'intestin grêle
Diabète de type 1	Signature microbienne particulière
Diabète de type 2	Signature microbienne particulière
Obésité	Rapport <i>Bacteroidetes/Firmicutes</i> spécifique

La relation microbiote intestinal-cerveau est un axe actuellement exploré. Ainsi, le rôle possible du microbiote intestinal est évoqué dans certaines maladies neurodégénératives telles la maladie d'Alzheimer, la sclérose en plaques, la maladie de Parkinson et dans des maladies neuropsychiatriques telles l'autisme, la schizophrénie, les troubles bipolaires, les troubles anxieux et dépressifs. Dans le chapitre suivant, nous nous intéresserons à l'impact du microbiote intestinal sur le stress et l'anxiété.

III Implication du microbiote intestinal sur le stress et l'anxiété

L'implication du microbiote intestinal dans la physiologie du SNC est un domaine d'étude récent, datant seulement d'une dizaine d'années.

Des études menées chez des animaux axéniques (AX), des animaux avec des entéropathogènes, chez l'homme et l'animal exposés à des antibiotiques ou à des bactéries probiotiques (Figure 10), tendent à prouver que le microbiote intestinal joue un rôle dans la modulation de la réactivité au stress et de l'anxiété. L'expression : « Penser avec ses tripes » prend tout son sens ! Cependant les mécanismes d'action restent encore à élucider.

Après avoir introduit l'axe microbiote-intestin-cerveau, nous nous intéresserons aux données expérimentales soulignant le rôle du microbiote intestinal sur le stress et l'anxiété parues depuis 2004, date de l'étude pionnière de Sudo et coll. sur l'implication du microbiote intestinal dans la programmation de « l'axe du stress » HHS chez la souris [34].

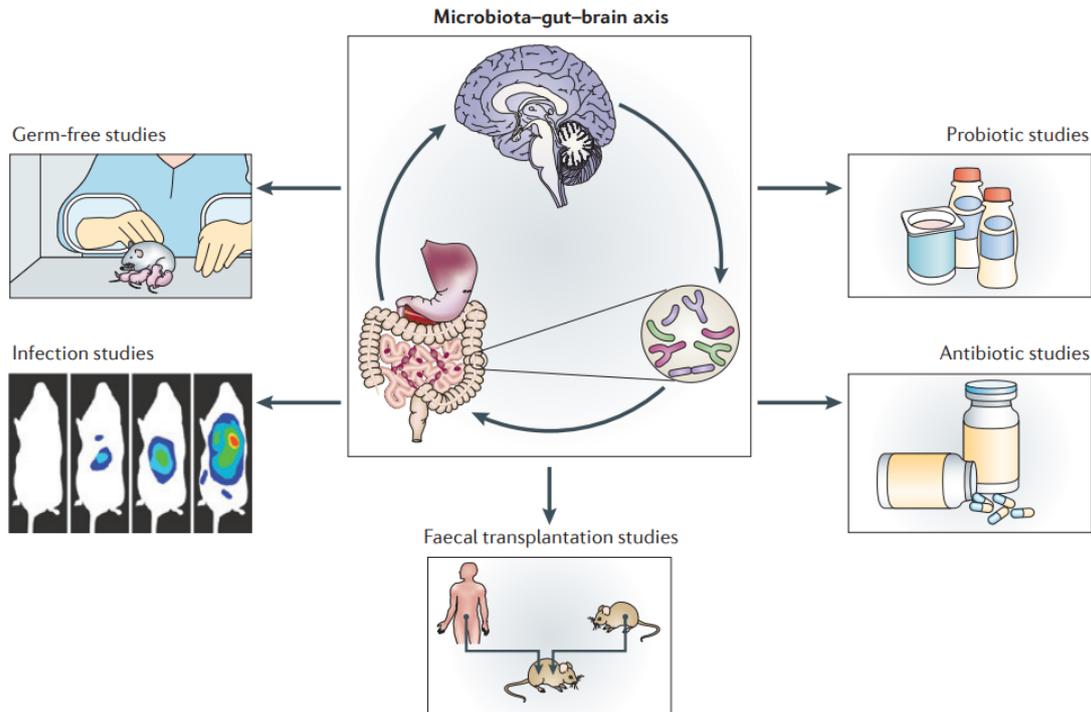


Figure 10: Stratégies utilisées pour étudier le rôle du microbiote intestinal sur le cerveau [35]

III.1 L'axe microbiote-intestin-cerveau

Les voies d'action du microbiote intestinal sur le cerveau sont encore loin d'être complètement élucidées.

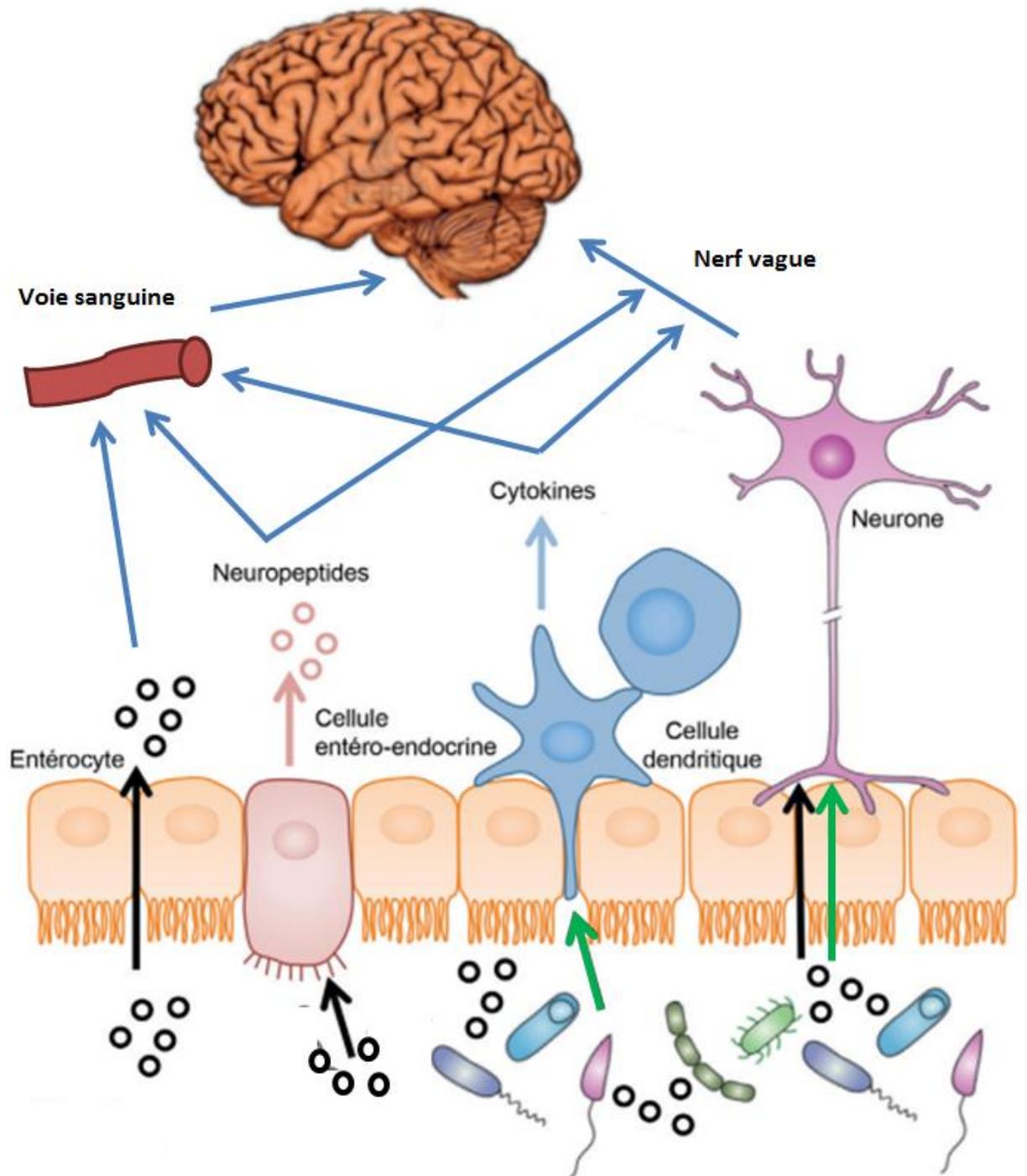
Les bactéries du microbiote sont capables de produire différentes molécules qui pourraient agir sur notre cerveau influençant ainsi son fonctionnement [35].

Deux catégories de molécules seraient en cause : d'une part des molécules libérées par les bactéries telles que des produits de fermentation (acides gras à chaîne courte) et des neurotransmetteurs (GABA, NA, 5-HT, DA), et d'autre part des molécules constituant des cellules bactériennes telles que les lipopolysaccharides de l'enveloppe cellulaire, ou les protéines constituant les flagelles (flagellines).

L'action de ces molécules sur le cerveau peut être directe ou indirecte suivant 4 voies (Figure 11):

- la voie sanguine : les molécules libérées peuvent traverser la muqueuse intestinale, passer dans la circulation générale et franchir la barrière hémato-encéphalique.

- la voie nerveuse : les molécules libérées et celles constituant des bactéries peuvent activer des neurones du système nerveux entérique et transmettre un influx nerveux au cerveau par l'intermédiaire du nerf vague.
- la voie immunitaire : les molécules constituant des bactéries stimulent les cellules immunitaires de la muqueuse intestinale qui libèrent à leur tour des cytokines. Les cytokines peuvent atteindre le cerveau par diffusion dans la circulation sanguine ou par activation des afférences du nerf vague. Une modification de l'équilibre des cytokines pro- et anti- inflammatoires conduit à une altération du fonctionnement du cerveau.
- la voie endocrine : les molécules libérées par le microbiote activent les récepteurs situés sur les prolongements des cellules entéro-endocrines, déclenchant la libération de neuropeptides qui peuvent alors atteindre le cerveau par voie sanguine ou nerveuse.



Légende :

- ➔ Molécules constituant des cellules bactériennes
- ➔ Molécules libérées par les bactéries

Figure 11: Les voies d'action du microbiote intestinal sur le cerveau

Figure adaptée de Robot, 2015 [11]

III.2 Impact du microbiote intestinal sur la maturation et la régulation de l'axe corticotrope HHS

III.2.1 Animaux AX (axéniques) versus animaux SPF (Specific Pathogen Free)

L'étude pionnière de Sudo a mis en évidence que chez des souris BALB/c soumises à un stress d'immobilisation pendant 1 heure, l'absence de microbiote intestinal exacerbait la réactivité de l'axe HHS par rapport à leurs congénères SPF avec microbiote sans pathogène spécifique [34].

Cette hyper réactivité se traduisait par des taux anormalement élevés de l'hormone CRF régulant positivement la libération d'ACTH et donc de corticostérone (CORT) et de ses messagers dans l'hypothalamus, d'ACTH et de CORT dans le plasma (le taux plasmatique de CORT étant deux fois supérieur à celui des souris SPF) ainsi que des taux anormalement faibles dans le cortex des messagers des GR, récepteurs glucocorticoïdes régulant négativement la libération de CRF et donc à terme de CORT.

Par la suite, un groupe de chercheurs a observé une hypercorticostéronémie en utilisant un stress de nouveauté dans lequel les souris ont été placées isolément pendant 30 minutes dans une cage qu'elles ne connaissaient pas [36].

Enfin, ce résultat a été confirmé chez des rats F 344 soumis au stress de l'open field, les chercheurs ayant mesuré un taux plasmatique de CORT près de trois fois supérieur chez les rats AX comparativement aux rats SPF de la même lignée, s'accompagnant d'une part d'une surexpression du gène codant le CRF dans l'hypothalamus et d'autre part d'une sous expression du gène codant le récepteur des glucocorticoïdes dans l'hippocampe [37]. Cette étude montre une fois de plus que l'absence de microbiote intestinal semble intensifier la réactivité de l'axe HHS à un stress aigu en perturbant plusieurs niveaux de régulation.

L'ensemble de ces données suggèrent que le microbiote intestinal pourrait avoir un effet modérateur sur la réactivité de l'axe HHS.

Notons que si ces études ont montré des taux plasmatiques de CORT similaires chez les rongeurs AX et SPF à l'état basal [34, 36, 37], d'autres études ont observé aussi une augmentation à l'état basal de la concentration de CORT dans le plasma chez les souris AX comparées à leurs congénères SPF [38, 39], suggérant que l'absence de microbiote intestinal intensifie l'activité de l'axe HHS. Ainsi, par exemple, le groupe de Neufeld a montré que chez des souris AX de la lignée Swiss Webster, le taux plasmatique de CORT était anormalement élevé 48 h après un stress de transport. (Tableau 2)

Tableau 2 : Impact de l'absence de microbiote intestinal sur la réactivité de l'axe HHS chez les rongeurs

COMPARAISON AX VERSUS SPF						
Etude	Souche	Sexe	Age	Stress	Axe HHS	
					Etat basal	Après un stress aigu
Sudo et al, 2004 [34]	BALB/c	M	9 semaines	Immobilisation	→ CORT (plasma)	↑ CORT et ACTH (plasma) ↑ CRF (hypothalamus) ↓ ARN _m GR (cortex)
Clarke et al, 2013 [36]	Swiss Webster	M et F	6-9 semaines	Nouveauté	→ CORT (plasma)	↑ CORT (plasma)
Crumeyrolle-Arias et al, 2014 [37]	F344	M	81-85 jours (soit 12 semaines)	OF	→ CORT (plasma)	↑ CORT ↑ CRF (hypothalamus) ↓ ARN _m GR (hippocampe)
Neufeld et al 2011 [38]	Swiss Webster	F	8 semaines		↑ CORT (plasma)	
Garreau et al, 2011 [39]	Swiss Webster	F	5-6 semaines		↑ CORT (plasma)	

Légende : M mâle ; F femelle
 ↑ Augmentation
 ↓ Diminution
 → Absence de différence

III.2.2 Importance de la période post natale

L'équipe de Sudo a été la première à montrer qu'il existait une période post-natale critique durant laquelle la colonisation du tube digestif influençait le développement normal de l'axe HHS. Ainsi, les chercheurs ont montré que la colonisation des souris AX par un microbiote fécal complexe de congénères SPF normalisait (partiellement) la réponse de l'axe HHS à un stress aigu si elle avait lieu à l'âge de 6 semaines, mais était sans effet si la colonisation microbienne avait lieu à l'âge de 14 semaines. De plus, une mono colonisation au stade néonatal avec *Bifidobacterium infantis*, une des premières bactéries à s'installer chez l'enfant, normalisait la réactivité de l'axe HHS, alors qu'une mono colonisation avec une souche entéropathogène d'*Escherichia coli* accentuait l'hyper-réactivité de l'axe HHS.

Il semble donc qu'il existe une fenêtre de temps critique dans le jeune âge pendant laquelle la qualité du microbiote intestinal influence la maturation des structures cérébrales impliquées dans la régulation de l'axe HHS.

III.2.3 Effet des probiotiques

Plusieurs études ont montré que la manipulation du microbiote intestinal modifiait la réactivité de l'axe HHS.

Ainsi, des chercheurs ont montré que l'administration pendant 1 mois du probiotique *Lactobacillus rhamnosus* JB-1 à des souris adultes BALB/c SPF permettait de réduire de façon significative l'élévation de CORT plasmatique induite par le stress du test du labyrinthe en croix surélevé et du test de nage forcée [40].

Une autre étude a montré qu'un traitement de 2 semaines avec *Lactobacillus farciminus* atténuait la réponse de l'axe HHS à un stress aigu de contention partielle chez des rats Wistar SPF, comme en témoignait une diminution de la concentration plasmatique d'ACTH et de CORT ainsi que de l'expression du gène codant le CRF dans l'hypothalamus par rapport aux rats non traités, suggérant clairement une action bénéfique de ce probiotique sur le cerveau [41].

III.3 Impact du microbiote intestinal sur la régulation du comportement anxieux

III.3.1 Animaux AX versus animaux SPF

Pour étudier l'effet du microbiote intestinal sur le comportement de type anxieux, plusieurs études ont comparé le niveau d'anxiété de rongeurs AX et de leurs homologues SPF placés en situation de stress. Cependant, les résultats montrent des divergences, le microbiote intestinal exerçant un effet anxiogène ou anxiolytique suivant les études.

Ainsi, l'absence de microbiote intestinal était associée à une diminution du comportement de type anxieux chez les souris NMRI [42] et chez les souris Swiss Webster [38, 36] soumises au test du labyrinthe en croix surélevé (EPM), du clair-obscur (L/D) et de l'OF pour la première étude, au test de l'EPM pour la seconde et au test L/D pour la troisième.

A l'opposé, l'absence de microbiote intestinal était associée à une augmentation du comportement de type anxieux chez les souris BALB/c soumises aux tests de l'open field et de l'enfouissement des billes [43]. Un résultat analogue a été observé chez des rats F344 soumis au test de l'open field et au test d'interactions sociales [37]. (Tableau 3)

Ces différences peuvent résulter des antécédents génétiques des animaux. En effet, les souris Swiss Webster et NMRI sont des lignées peu sensibles au stress alors que les souris BALB/c et les rats F344 le sont particulièrement. Le microbiote intestinal semble donc avoir un effet régulateur sur le comportement de type anxieux, en diminuant l'anxiété chez les lignées sensibles au stress et en l'augmentant chez les lignées peu sensibles.

Tableau 3 : Impact de l'absence de microbiote intestinal sur le comportement de type anxieux chez les rongeurs

COMPARAISON AX VERSUS SPF			
Etude	Souche	Sexe	Comportement de type anxieux
Diaz-Heijtze et al, 2011 [42]	NMRI	M	↓
Neufeld et al, 2011 [38]	Swiss Webster	F	↓
Clarke et al, 2013 [36]	Swiss Webster	M et F	↓
Nishimo et al, 2013 [43]	BALB/c	M	↑
Crumevolle-Arias et al, 2014 [37]	F344	M	↑

Légende : M mâle ; F femelle

↑ Augmentation

↓ Diminution

Ces études montrent que l'absence de microbiote intestinal augmente le comportement de type anxieux face à un stress chez les lignées sensibles au stress et le diminue chez les lignées peu sensibles.

De plus, la colonisation de souris AX de lignée BALB /c sensible au stress (âge 7 à 9 semaines) avec le microbiote intestinal de souris SPF de lignée NIH Swiss peu sensible au stress a atténué le comportement de type anxieux des souris, tandis qu'à l'inverse la colonisation de souris AX NIH Swiss avec le microbiote intestinal de souris SPF BALB/c l'a augmenté dans le test de step-down (Figure 12) [44]. Les différences de comportement sont donc associées à

des profils de microbiote différents, cette étude suggérant qu'il peut y avoir un transfert de phénotypes comportementaux avec la transplantation du microbiote intestinal.

Par ailleurs, Bercik et coll. ont aussi montré que la colonisation de souris AX à l'âge adulte (7 à 9 semaines) par le microbiote de souris SPF de la même lignée, respectivement NIH Swiss et BALB/c permettait de retrouver un comportement de type anxieux se rapprochant de celui de leurs congénères SPF dans le test de step-down (Figure 12) [44].

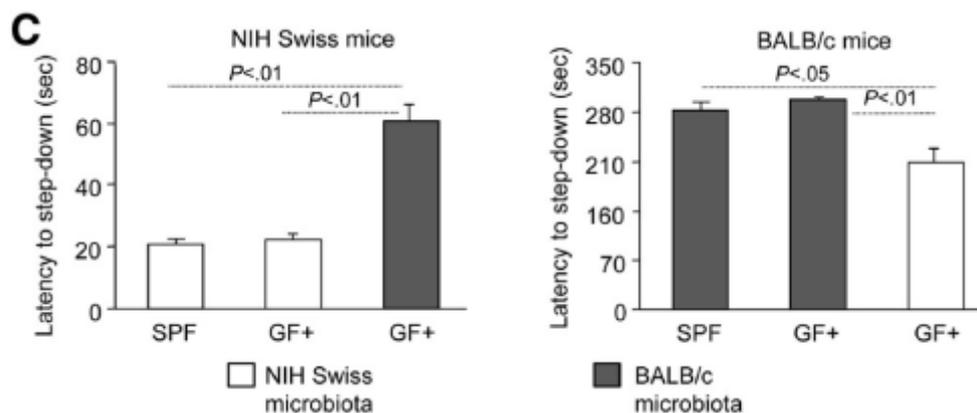


Figure 12 : Transfert de microbiote intestinal [44]

A l'inverse, deux autres études contredisent ce résultat en montrant que des souris AX conventionnalisées à l'âge adulte conservaient le comportement anormalement peu anxieux qu'elles avaient à l'état AX [38, 42], respectivement souris Swiss Webster à 10 semaines dans le test de l'EPM et souris NMRI, âge adulte non précisé, dans les tests de l'EPM et de L/D.

Cependant, si la conventionnalisation était effectuée chez les parents 30 jours avant l'accouplement, alors le comportement de type anxieux était normalisé à l'âge adulte (non précisé) dans le test de l'EPM (mais pas dans le test de L/D) [42].

Enfin, une autre étude a montré qu'une conventionnalisation de souris AX Swiss Webster après sevrage, à l'âge de 3 semaines, normalisait le comportement de type anxieux à l'âge adulte (non précisé) dans le test de L/D [36].

Globalement, ces résultats (Tableau 4) suggèrent qu'il existe une fenêtre de temps critique pendant laquelle le microbiote laisse une empreinte sur le cerveau et conditionne la régulation des comportements de type anxieux. Néanmoins, les limites de cette fenêtre semblent dépendre de paramètres qui restent à élucider.

Tableau 4 : Impact de la restauration du microbiote intestinal sur le comportement de type anxieux chez les rongeurs

COMPARAISON AX CONVENTIONNALISE VERSUS CONGENERE SPF					
Etude	Souche	Sexe	Age de la conventionnalisation	Test	Normalisation du comportement de type anxieux à l'âge adulte
Bercik et al, 2011a [44]	NIH Swiss BALB/c	M	Age adulte (7 à 9 semaines)	Step down	oui
Neufeld et al, 2011 [38]	Swiss Webster	F	Age adulte (10 semaines)	EPM	non
Diaz-Heijtz et al, 2011 [42]	NMRI	M	Age adulte (non précisé)	EPM et L/D	non
Diaz-Heijtz et al, 2011 [42]	NMRI	M	Naissance (conventionnalisation des parents 30 jours avant l'accouchement)	EPM	oui
				L/D	non
Clarke et al, 2013 [36]	Swiss Webster	M	3 semaines (après sevrage)	L/D	oui

Ces études suggèrent l'existence d'une période critique au cours de laquelle le microbiote intestinal influence le comportement de type anxieux à l'âge adulte.

III.3.2 Manipulation du microbiote intestinal

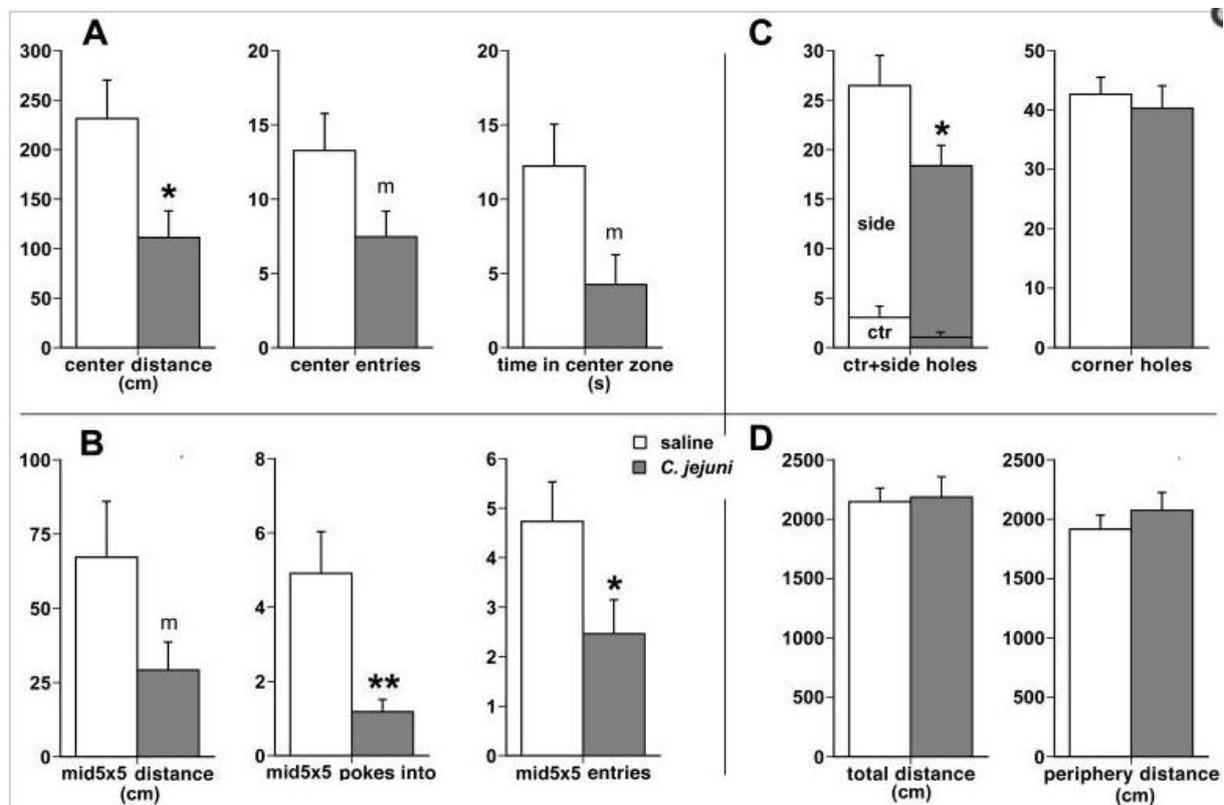
Plusieurs études ont cherché à voir si la manipulation du microbiote intestinal de rongeurs conventionnels par des entéropathogènes, des antibiotiques, des probiotiques ou des prébiotiques modifiait le comportement de type anxieux chez ces rongeurs.

III.3.2.1 Entéropathogènes modérés

Chez des souris CF-1 mâles, une infection bactérienne par l'administration orale de *Citrobacter rodentium* [45] ou *Campylobacter jejuni* (Figure 13) [46]) associée à une colite transitoire a entraîné une augmentation du comportement de type anxieux dans le test de la

planche à trous peu de temps suivant l'infection, respectivement 7-8 heures et 6-7 heures après l'inoculation.

Figure 13 : L'infection par *C. jejuni* augmente le comportement de type anxieux dans le test de la planche à trous 6-7 heures suivant l'infection [46]



A et B : L'évitement de la zone centrale est plus prononcé chez les souris infectées par rapport aux souris contrôles non infectées.

C : Le nombre d'explorations du trou central le plus exposé et des trous latéraux modérément exposés est inférieur chez les souris infectées. Par contre, le nombre d'explorations des trous dans les coins (les plus protégés) est analogue chez les souris infectées ou non.

D : L'absence de différence dans l'activité locomotrice générale indique que l'accroissement de l'évitement de la région centrale chez les souris infectées n'est pas un symptôme de maladie.

En revanche, une infection par *C. rodentium* chez des souris C57BL/6 femelles n'a pas montré de changement dans le comportement de type anxieux lors du test clair-obscur (L/D) 10 jours après l'infection (pic de l'infection) ou 30 jours après (résolution de l'infection) [39].

Encore chez des souris C57BL/6 mâles et femelles, une autre étude a montré qu'une colite aigüe légère induite chimiquement par du Dextran Sulfate de Sodium (DSS) ajouté pendant 5 jours à l'eau de boisson provoquait une augmentation du comportement de type anxieux

dans le test L/D au pic de l'inflammation (8 jours après le début du traitement par DSS), le comportement étant normalisé lorsque l'inflammation du colon a diminué (14 jours après) [47].

Par ailleurs deux autres études ont rapporté qu'une colite chronique modérée était associée à un comportement de type anxieux accru chez des souris AKR mâles [48, 49].

Ainsi, l'infection par le parasite non invasif *Trichuris muris* a entraîné une augmentation du comportement de type anxieux dans les tests L/D et de step down [48].

Un résultat analogue a été observé avec une inflammation chronique induite chimiquement par du DSS dans le test de step down [49].

Globalement, ces études suggèrent que la dysbiose intestinale associée à une colite infectieuse ou chimique peut avoir un impact négatif sur le comportement de type anxieux.

III.3.2.2 Antibiotiques

L'effet d'une perturbation du microbiote intestinal par un traitement antibiotique sur le comportement de type anxieux a été décrit dans plusieurs études. Néanmoins, les résultats montrent des divergences, l'effet étant de nature anxiolytique ou anxiogène suivant les études.

Ainsi, l'administration orale pendant une semaine d'un cocktail non absorbable d'antibiotiques (néomycine, bacitracine) et d'antifongique (pimaricine) à des souris mâles adultes BALB/c a atténué le comportement de type anxieux chez les souris SPF soumises au test de step down et au test clair-obscur, mais a été sans effet sur leurs congénères AX, ce qui tend à prouver que le changement de comportement observé chez les souris SPF est dû à la perturbation du microbiote intestinal provoquée par le traitement antibiotique [44]. Cette modification du comportement est transitoire puisqu'elle a cessé après deux semaines d'arrêt du traitement.

Une étude ultérieure chez des souris NIH Swiss (sexe non précisé) a montré qu'un traitement de 41 jours d'une autre combinaison d'antibiotiques non absorbables (ampicilline, vancomycine, néomycine et métronidazole) administré à partir du sevrage (âge 21 jours) avait un effet anxiolytique chez les souris devenues adultes dans le test clair et obscur [50].

A l'opposé, chez des rats mâles sevrés Sprague-Dawley (âge non précisé), un traitement d'un mois d'ampicilline a entraîné une augmentation du comportement de type anxieux dans le test de l'EPM [51].

Pris ensemble, les deux résultats précédents suggèrent que la perturbation du microbiote intestinal par un traitement chronique d'antibiotiques à partir du sevrage peut modifier le comportement de type anxieux à l'âge adulte.

Par ailleurs, deux études récentes se sont intéressées aux conséquences d'une administration d'antibiotiques pendant la grossesse sur le comportement de type anxieux de la progéniture [52, 53].

Ainsi, une étude sur des souris BALB/c a montré que l'administration orale de faibles doses de pénicilline V à de futures mères, commencée une semaine avant la mise bas et poursuivie jusqu'au sevrage (âge 21 jours), entraînait une diminution du comportement de type anxieux chez la progéniture mâle, mais pas femelle, à l'âge de 6 semaines (jeune adulte), soit 3 semaines après l'arrêt du traitement antibiotique, dans le test de l'EPM [52]. Les hormones du cycle œstral pourraient jouer un rôle dans la différence de comportement entre mâles et femelles, la composition du microbiote intestinal étant semblable mis à part pour la famille *Anaeroplasmataceae* (Phylum *Tenericutes*) dont le rôle est encore inconnu.

A l'opposé, une autre étude sur des souris C57BL/6J a montré que l'administration orale d'un cocktail de néomycine, bacitracine et pimarcine à de futures mères, commencée 9 jours après détection du bouchon muqueux et poursuivie pendant une semaine, entraînait une augmentation du comportement de type anxieux chez la progéniture mâle (sevrée à 23 jours) à l'âge de 4 semaines, moindre mais encore perceptible à l'âge adulte (8 semaines) dans le test de l'OF [53].

De plus, en échangeant à la naissance les petits entre les mères traitées et celles non traitées, les souriceaux nés de mères traitées et allaités par des mères non traitées jusqu'au sevrage (âge 23 jours) ont retrouvé un comportement de type anxieux normal à l'âge de 4 semaines, alors que les souriceaux nés de mères non traitées mais allaités par des mères traitées ont développé un comportement de type anxieux exacerbé [53].

Les études de Leclercq et de Tochitani [52, 53] montrent qu'une perturbation du microbiote intestinal maternel par un traitement antibiotique pendant la période prénatale et/ou pendant l'allaitement peut induire une modification du comportement de type anxieux chez la progéniture.

Globalement, tous ces résultats suggèrent que si un traitement antibiotique à l'âge adulte provoque une modification du comportement de type anxieux qui disparaît rapidement à

l'arrêt du traitement, une perturbation précoce du microbiote intestinal par des antibiotiques peut entraîner une modification du comportement qui perdure à l'âge adulte.

III.3.2.3 Probiotiques

Différentes études ont montré que plusieurs souches probiotiques pouvaient avoir un effet anxiolytique.

Ainsi, un traitement d'un mois avec le probiotique *Lactobacillus rhamnosus* JB-1 chez des souris BALB/c SPF a atténué le niveau d'anxiété dans le test du labyrinthe en croix surélevé EPM [40].

Une autre étude utilisant d'autres probiotiques (*Bifidobacterium longum* 1714 ou *B. breve* 1205) et divers tests d'anxiété (test d'enfouissement de billes, EPM et OF) a confirmé chez cette lignée de souris prédisposées à l'anxiété le potentiel anxiolytique de probiotiques et a en outre démontré que ce potentiel dépendait de la souche probiotique [54].

Ainsi, après un traitement de 3 semaines et demie pour le test de l'enfouissement de billes, de 4 semaines pour le test de l'EPM et de 4 semaines et demi pour le test de l'OF, les deux souches de bifidobactéries ont réduit le comportement de type anxieux dans le test de l'enfouissement de billes en diminuant le nombre de billes enterrées. Seul *B. breve* 1205 a induit un effet anxiolytique dans le test de l'EPM en augmentant le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe tandis que seul *B. longum* 1714 agissait dans le test de l'OF en diminuant le temps de la latence pour entrer dans la zone centrale.

Ces résultats montrent que chaque souche probiotique a un potentiel anxiolytique sur le comportement de type anxieux qui lui est propre et qui dépend de la tâche comportementale évaluée.

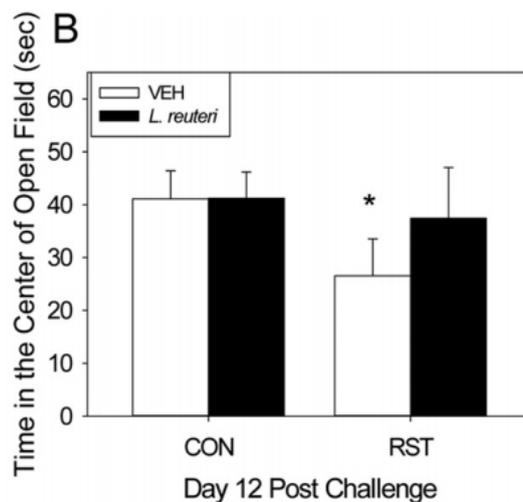
Par ailleurs une étude menée chez des rats Wistar SPF a montré que l'administration d'une combinaison de *Lactobacillus helveticus* R0052 et *Bifidobacterium longum* R0175 pendant 2 semaines diminuait le comportement de type anxieux dans le test d'enfouissement défensif [55].

Une autre étude chez des rats Sprague-Dawley SPF a montré qu'au cours d'un traitement d'un mois d'ampicilline, l'administration tout au long du traitement du probiotique *Lactobacillus fermentum* NS9 normalisait le comportement de type anxieux accentué par l'antibiotique dans le test de l'EPM [51].

Par ailleurs, Mackos et coll. ont montré que si des souris CD-1 infectées par la bactérie *Citrobacter rodentium* et traitées par le probiotique *Lactobacillus reuteri* 23272 commencé

un jour avant l'infection et poursuivi 12 jours après (pic de l'infection) ne montraient pas une amélioration du comportement de type anxieux dans le test de l'OF, le probiotique permettait de réduire le comportement de type anxieux exacerbé par une exposition de 7 nuits à un stress de contention (initié juste avant l'infection) (Figure 14) [56].

Figure 14 : Le traitement par la souche 23272 de *L. reuteri* réduit le comportement de type anxieux exacerbé par une exposition prolongée au stress de contention chez des souris CD-1 infectées par *C. rodentium* [56].



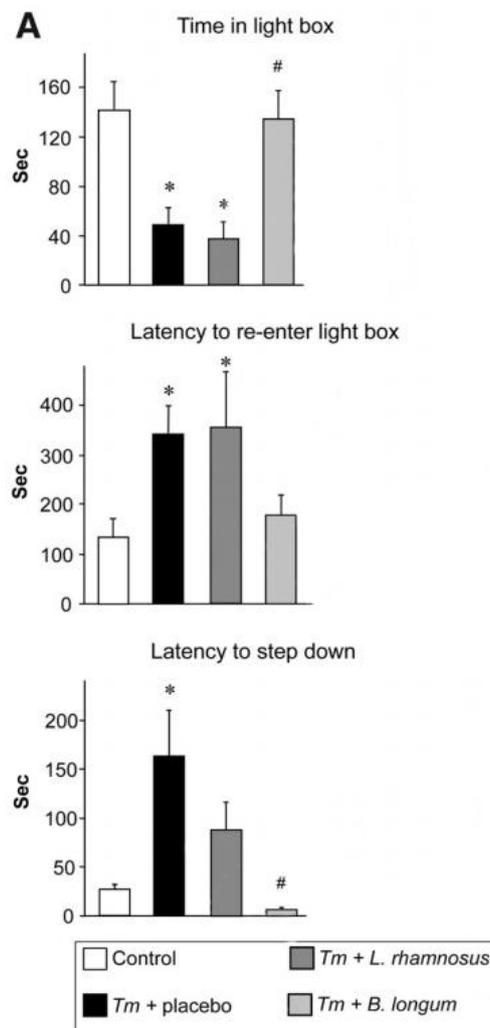
En ce qui concerne les souris non traitées par *L. reuteri*, comme prévu, les souris exposées au stress ont passé moins de temps au centre de l'OF que les souris contrôles non stressées, effet qui n'a pas été observé chez les souris traitées par *L. reuteri* [56].

Dans une autre modèle de colite aiguë légère induite chimiquement par du Dextran Sulfate de Sodium (DSS) chez des souris C57BL/6, un prétraitement avec une combinaison des probiotiques *L. rhamnosus* R0011 et *L. helveticus* R0052 commencé une semaine avant l'initiation du DSS et poursuivi 8 jours après a empêché l'exacerbation du comportement de type anxieux provoquée par le DSS dans le test L/D [47].

Il a aussi été montré que le probiotique *Bifidobacterium longum* NCC3001 normalisait le comportement de type anxieux chez des souris AKR avec une colite chronique infectieuse [48]) ou chimique [49].

Ainsi dans l'infection par le parasite *Trichuris muris*, les souris traitées par *B. longum* NCC 3001, commencé 30 jours après l'infection et poursuivi pendant 10 jours, ont retrouvé un comportement de type anxieux identique à celui de souris non infectées dans les tests L/D et de step down. Notons que le probiotique *Lactobacillus rhamnosus* NCC4007 a été sans effet sur le niveau d'anxiété dans le test L/D et sans effet significatif dans le test de step down (Figure 15) [48].

Figure 15 : Le traitement avec *B. longum* NCC3001, mais pas avec *L. rhamnosus* NCC4007, annule l'augmentation du comportement de type anxieux induite par le parasite *T. muris* [48]



Légende : * Différence significative versus contrôle
 # Différence significative versus *T. muris* + placebo

Comparées aux souris contrôles en bonne santé, les souris infectées par *T. muris* ont passé au total moins de temps dans le compartiment illuminé et ont mis plus de temps à entrer de nouveau dans ce compartiment après leur première sortie (les souris avaient été initialement placées au centre du compartiment illuminé). Elles ont aussi mis plus de temps pour descendre de la plateforme.

Le traitement avec *B. longum*, mais pas avec *L. rhamnosus*, a normalisé le temps total passé dans le compartiment illuminé et le temps mis pour descendre de la plateforme, et a diminué le temps mis pour entrer de nouveau dans le compartiment illuminé.

Dans le modèle de colite chronique induite chimiquement par du DSS introduit dans l'eau potable au cours de trois cycles d'une semaine (avec entre chaque cycle une pause de 5 jours), les souris traitées par *B. longum* NCC3001, administré à partir du 3^{ème} cycle de DSS et poursuivi 7 jours après, sont descendues deux fois plus vite de la plateforme que des souris en bonne santé dans le test de step down [49].

Pris ensemble, tous ces résultats (Tableau 5) suggèrent que certaines souches probiotiques pourraient avoir un effet bénéfique sur le comportement de type anxieux à la fois sur des sujets sains à tendance anxieuse et sur des sujets ayant une dysbiose intestinale.

Tableau 5 : Effet anxiolytique de probiotiques chez les rongeurs

ETUDE	SOUCHE	SEXE	TRAITEMENT	TEST	COMPORTEMENT DE TYPE ANXIEUX
Bravo et al, 2011 [40]	BALB/c	M	<i>L. rhamnosus</i> JB-1	EPM	↓
Savignac et al, 2014 [54]	BALB/c	M	<i>B. longum</i> 1714	MB EPM OF	↓ → ↓
			<i>B. breve</i> 1205	MB EPM OF	↓ ↓ →
Messaoudi et al, 2011a [55]	Wistar	M	<i>B. longum</i> R0175 et <i>L. helveticus</i> R0052	DB	↓
Wang et al, 2015 [51]	Sprague-Dawley traité par ampicilline	M	<i>L. fermentum</i> NS9	EPM	↓
Mackos et al, 2013 [56]	CD-1 infecté par <i>C. rodentium</i>	M	<i>L. reuteri</i> 23272	OF	→
				OF après stress prolongé	↓
Emge et al, 2016 [47]	C57BL/6 traité par DS5	M et F	<i>L. rhamnosus</i> R0011 et <i>L. helveticus</i> R0052	L/D	↓

Bercik et al, 2010 [48]	AKR infecté par <i>T. muris</i>	M	<i>B. longum</i> NCC3001	L/D	↓
				Step down	↓
			<i>L. rhamnosus</i> NCC4007	L/D	→
				Step down	→
Bercik et al, 2011b [49]	AKR traité par DS5	M	<i>B. longum</i> NCC3001	Step down	↓

Légende : M mâle ; F femelle
 OF Open field
 EPM Labyrinthe en croix surélevé
 MB Enfouissement de billes
 DB Enfouissement défensif
 L/D Clair et obscur

↓ diminution
 → absence de différence

Le potentiel anxiolytique d'un probiotique dépend de la souche probiotique et de la tâche comportementale évaluée.

III.3.2.4 Prébiotiques

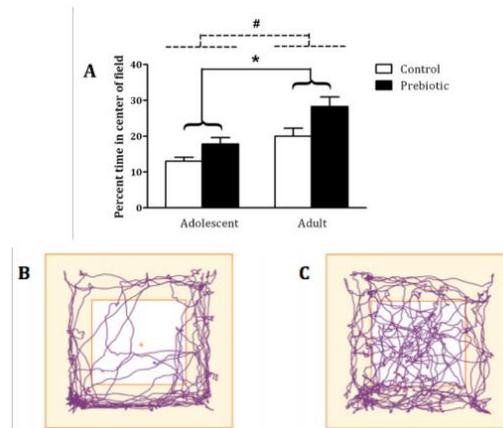
Deux études récentes ont étudié le potentiel anxiolytique d'un régime prébiotique sur le comportement de type anxieux [57, 58].

Ainsi, chez des souris mâles C57BL/6 (âge 7 à 9 semaines), une alimentation complétée par du 3'Siallylactose (SL) ou 6'SL deux semaines avant et pendant l'exposition à un stress de perturbation sociale de 6 jours consécutifs (consistant à introduire dans la cage des souris C57BL/6 une souris mâle de ligne agressive CD-1 2 heures par jour) a atténué le comportement de type anxieux induit par le stress dans les tests L/D et de l'OF [57].

Outre que la supplémentation en 3'SL ou 6'SL pourrait modérer le comportement anxieux chez l'adulte soumis à un stress, ce résultat permet de supposer que le lait maternel contenant naturellement les oligosaccharides 3'SL et 6'SL aurait le potentiel d'influencer le comportement de la progéniture.

Dans la deuxième étude, des rats mâles Fisher 344 ont consommé un régime prébiotique (contenant des galacto-oligosaccharides, du polydextrose, de la lactoferrine et de la membrane des globules gras du lait) immédiatement après le sevrage (âge 24 jours) et l'ont poursuivi soit pendant environ 4 semaines jusqu'à l'âge de 48 jours (rat adolescent) soit pendant 6 semaines jusqu'à l'âge de 66 jours (rat adulte) [58]. Indépendamment de l'âge

(adolescent ou adulte), le régime prébiotique a eu un effet anxiolytique dans le test de l'OF. Par ailleurs les rats adultes, traités ou non, se sont montrés moins anxieux que les rats adolescents (Figure 16). Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que les rats adolescents ont reçu les prébiotiques deux semaines de moins que les rats adultes.



Légende : * Effet significatif du régime prébiotique
Effet significatif de l'âge

A : Indépendamment de l'âge, les rats ayant reçu le régime prébiotique ont passé plus de temps dans le centre de l'OF que les rats contrôles. Indépendamment du régime prébiotique, les rats adultes ont passé plus de temps dans le centre de l'OF que les rats adolescents.

B et C : Le tracé montre qu'au même âge, un rat ayant reçu le régime prébiotique (C) traverse le centre de l'OF plus souvent qu'un rat non traité.

Figure 16 : Impact d'un régime de prébiotiques sur le comportement de type anxieux chez des rats Fisher 344 dans le test de l'OF [58]

Les deux études citées suggèrent que certains prébiotiques pourraient aider à atténuer le comportement de type anxieux.

III.4 Effet des probiotiques sur le stress et l'anxiété chez les humains

Peu d'études cliniques ont recherché l'effet de probiotiques sur le stress et l'anxiété. Les instruments psychométriques utilisés dans les études citées sont résumés dans le tableau 6 :

Tableau 6 : Tests d'évaluation du stress et de l'anxiété chez les humains

Ref	Dénomination du test	Nombre d'items	But
59	<i>Questionnaire général sur la santé</i> GHQ-28 : General Health Questionnaire-28	28	Evaluer la santé psychique par le biais de 4 sous-échelles de 7 items chacune : symptômes somatiques, anxiété et insomnie, dysfonctionnement social et dépression sévère (Annexe 1)
60	<i>Liste de contrôle de symptômes</i> HSCL-90 : Hopkins Symptom Check List-90	90	Evaluer un large éventail de troubles psychiques. Principales dimensions : somatisation, sensibilité interpersonnelle, anxiété, anxiété phobique, obsession-compulsion, dépression, colère-hostilité, idéation paranoïde et psychoticisme.
61	<i>Echelle HAD</i> HADS : Hospital Anxiety and Depressive Scale	14	Dépister les troubles anxieux et dépressifs au moyen de 2 sous-échelles de 7 items chacune, respectivement HADS-A et HADS-D (Annexe 2).
62	<i>Echelle de stress perçu</i> PSS : Perceived Stress Scale	14	Evaluer l'importance avec laquelle des situations de la vie sont généralement perçues comme stressantes (Annexe 3).
63	<i>Liste de contrôle du coping</i> CCL : Coping Checklist	29	Analyser la façon de faire face à des situations stressantes au moyen de 5 sous-échelles : résolution du problème, recherche de soutien social, auto-accusation, réévaluation positive, évitement
64	<i>Echelles de dépression, anxiété et stress</i> DASS : Depression Anxiety Stress Scales	42	Mesurer les états émotionnels négatifs liés au stress, à l'anxiété et à la dépression au moyen de 3 échelles de 14 items chacune, respectivement DASS-S, DASS-A et DASS-D (Annexe 4).
65	<i>Inventaire d'anxiété de Beck</i> BAI : Beck Anxiety Inventory	21	Mesurer le niveau d'anxiété en évaluant des symptômes courants dus à l'anxiété (Annexe 5)

66	<i>Inventaire d'anxiété état-trait</i> <i>Forme Y</i> STAI-Y : State-Trait Anxiety Inventory Form Y	40	Evaluer l'anxiété-état (à l'instant présent) et l'anxiété-trait (habituelle) au moyen de 2 échelles distinctes de 20 items chacune, respectivement le STAI Forme Y-A et le STAI Forme Y-B (Annexe 6).
67	<i>Echelle d'appréciation de l'anxiété de Hamilton HAMA</i> HARS : Hamilton Anxiety Rating Scale	14	Evaluer la sévérité de l'anxiété du patient, en mesurant à la fois l'anxiété psychique et l'anxiété somatique, chaque item étant défini par une liste de symptômes donnés à titre d'exemples (Annexe 7).
68	<i>Questionnaire de Karasek</i> JCQ : Job Content Questionnaire.	49 26 version française	Mesurer l'exposition à des facteurs de risque de stress professionnel en explorant 5 dimensions : latitude décisionnelle, demande psychologique et charge de travail mentale, soutien social, exigences physiques, insécurité du travail.

Les tests cités sont des instruments d'auto-évaluation mis à part le HAMA qui est un instrument d'hétéro-évaluation à remplir par le clinicien.

Certaines études ont trouvé un effet bénéfique de leur intervention probiotique sur le stress et/ou l'anxiété.

Ainsi, une étude a été menée sur 70 travailleurs de la pétrochimie, population sujette au stress professionnel et susceptible de développer des problèmes mentaux dont l'anxiété. La consommation quotidienne pendant 6 semaines d'un yaourt avec adjonction de *Lactobacillus acidophilus* LA5 et *Bifidobacterium lactis* BB12 (et d'une capsule placebo) ou d'un yaourt conventionnel associé à une capsule de probiotiques multi-espèces (contenant *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, *B. breve*, *B. longum* et *Streptococcus thermophilus*) a nettement amélioré les scores globaux du GHQ-28 et du DASS. A l'opposé, il n'y a pas eu d'amélioration significative dans le groupe consommant un yaourt conventionnel et une capsule placebo. Toutefois, aucun changement significatif n'a été observé dans les taux d'ACTH et de cortisol sériques dans les trois groupes. Ces résultats montrent que le « yaourt probiotique » et la capsule probiotique ont eu un effet bénéfique sur la santé mentale de ces travailleurs en diminuant la détresse psychique et les états émotionnels négatifs liés notamment au stress et à l'anxiété, sans toutefois affecter l'axe corticotrope [69].

Dans une étude sur 55 volontaires en bonne santé, la consommation quotidienne pendant 30 jours de l'association probiotique *L. helveticus* R0052 et *B. longum* R0175 a induit une diminution significative de l'index de sévérité globale de la HSCL-90 par rapport au groupe

placebo avec en particulier des sous- scores de somatisation et de colère-hostilité plus bas. La combinaison probiotique a également abaissé le score global de l'échelle HAD, en améliorant légèrement le score de l'échelle HAD-A (relative à l'anxiété) par rapport au groupe placebo. De plus si elle n'a pas apporté de changement significatif du score du PSS, elle a réduit le score d'auto-accusation et a renforcé la résolution de problèmes de la CCL. Enfin, chez le groupe probiotique, le taux de cortisol libre urinaire médian (UFC) a diminué, ce qui est un indice physiologique d'une diminution du niveau de stress. Globalement, ces résultats suggèrent que la formulation probiotique utilisée peut être bénéfique pour la santé psychologique et réduire la réponse au stress ainsi que le niveau d'anxiété chez des individus en bonne santé modérément stressés [55].

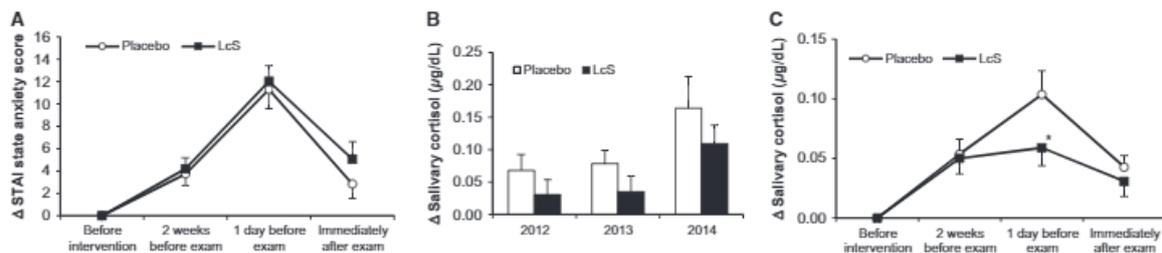
Dans un complément d'étude portant sur les 25 sujets de l'étude précédente avec les plus bas niveaux de stress (mesurés par les plus bas niveaux d'UFC), la formulation probiotique a amélioré, outre les mêmes scores que dans la population générale, le score du PSS, et trois autres sous-scores de la HSCL-90 à savoir l'obsession compulsive, l'anxiété et l'idéation paranoïde [70].

Tous ces résultats renforcent l'idée que la consommation de probiotiques sélectionnés peut être bénéfique pour le bien-être général chez les personnes avec un niveau de stress faible à modéré [55, 70]. La comparaison des deux études montre que la formulation probiotique a été plus efficace chez les sujets faiblement stressés. Peut-être faudrait-il prolonger le traitement ou modifier le dosage pour les autres.

Une autre étude menée chez 35 patients atteints du syndrome de fatigue chronique (SFC) a montré que la consommation de la souche Shirota de *Lactobacillus casei* trois fois par jour pendant 8 semaines entraînait une diminution significative de symptômes d'anxiété comme le reflétaient des scores du BAI plus bas [71].

Une étude récente utilisant également *L. casei* Shirota a été menée chez 140 étudiants en médecine japonais pendant trois ans : chaque année, des étudiants de 4^{ème} année ont reçu une boisson lactée fermentée par *L. casei* Shirota une fois par jour pendant 8 semaines avant le jour de l'examen déterminant leur passage dans l'année supérieure. Les trois années, les scores d'anxiété du STAI n'ont pas été améliorés par l'intervention probiotique et ont augmenté en raison du stress durant les 8 semaines indépendamment des groupes probiotique ou placebo, pour atteindre un sommet la veille de l'examen. Cependant si dans tous les groupes le taux de cortisol salivaire s'est élevé à l'approche de l'examen, l'augmentation par rapport aux valeurs initiales a été significativement moindre dans le groupe probiotique, où il était également observé une réduction au cours de l'intervention de symptômes de type rhume/grippe (fièvre, maux de tête, de gorge, nez qui coule ou bouché) et de symptômes abdominaux (douleurs et inconfort abdominaux, diarrhée ou

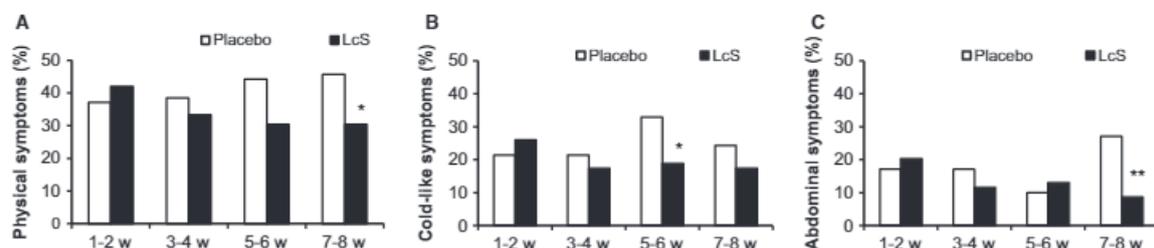
constipation) souvent associés à des événements stressants [72]. Ces résultats montrent que bien qu'aucune amélioration n'ait été observée dans les niveaux d'anxiété (mesuré par le STAI) contrairement à Rao et coll. [71], l'administration de *L. casei* Shirota a néanmoins atténué l'augmentation du niveau de stress induite par l'approche de l'examen comme l'ont montré une réduction de deux marqueurs du stress (cortisol salivaire et symptômes physiques) (Figures 17 et 18). Ainsi, cette étude suggère que la souche probiotique *L. casei* Shirota pourrait prévenir l'hypersécrétion de cortisol et réduire les symptômes physiques associés à des situations stressantes. La différence d'effet de *L. casei* Shirota sur l'anxiété subjective entre cette étude et celle de Rao et coll. [71] pourrait résulter du fait que 40% des patients SFC souffrent de symptômes anxieux alors que les étudiants sont en bonne santé.



Légende : LcS : *L. casei* Shirota

A : L'intervention probiotique n'a pas amélioré les scores au STAI qui ont augmenté dans les deux groupes (probiotique et placebo) par rapport aux valeurs initiales tout au long de la période pré-examen. B : Dans les trois études, l'intervention probiotique a atténué l'augmentation du taux de cortisol salivaire induite par le stress de l'examen mais sans signification statistique. C : En cumulant les résultats des 3 études, l'intervention probiotique a permis de réduire de façon significative l'élévation de cortisol salivaire la veille de l'examen.

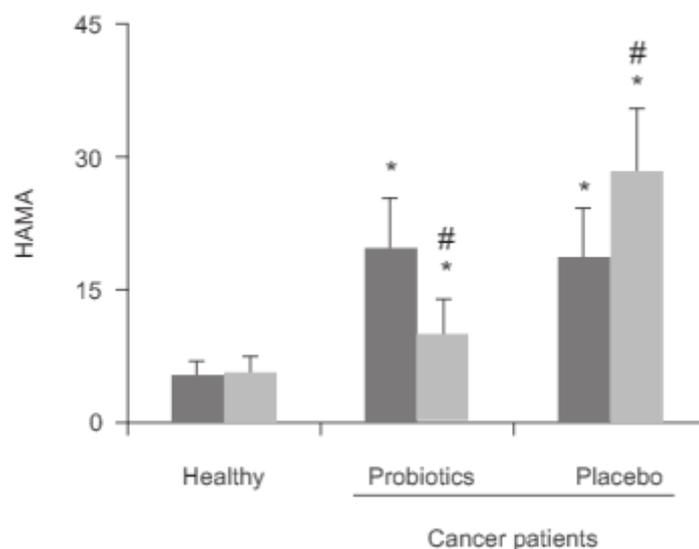
Figure 17 : Effet de *L. casei* Shirota sur le niveau d'anxiété mesuré par le STAI et sur le taux de cortisol salivaire [72]



A : Le taux de sujets ayant présenté au moins un symptôme physique a augmenté à mesure que le jour de l'examen approchait dans le groupe placebo mais a diminué dans le groupe probiotique, avec une différence significative entre les deux groupes au cours des semaines 7-8 d'intervention. B et C : Dans le groupe probiotique, l'amélioration des symptômes rhume/grippe était significative les semaines 5-6 (B) alors que l'amélioration des symptômes abdominaux était particulièrement significative les semaines 7-8 (C).

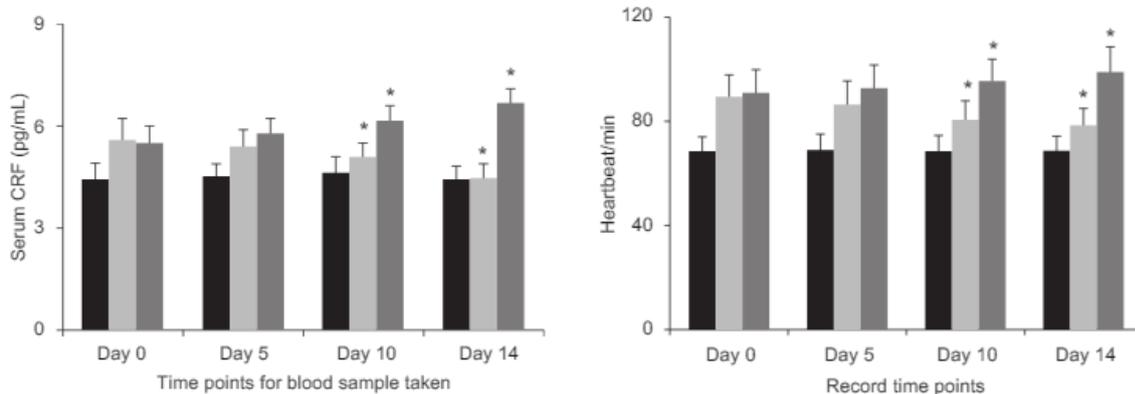
Figure 18 : Effet de *L. casei* Shirota sur les symptômes physiques [72]

Dans une autre étude, Yang et coll. ont étudié le potentiel probiotique pour atténuer l'excès d'anxiété pré-chirurgicale sur 20 patients atteints d'un cancer du larynx et devant subir une laryngectomie. Un traitement deux fois par jour avec l'espèce *Clostridium butyricum* (souche(s) non précisée(s)) pendant les deux semaines précédant le jour de l'intervention a induit chez ces patients une amélioration significative du niveau d'anxiété évalué par l'échelle d'anxiété de Hamilton HAMA, alors que chez les patients non traités le niveau d'anxiété a augmenté à l'approche de la chirurgie. Notons que le traitement probiotique n'a pas eu d'effet sur le niveau d'anxiété des sujets en bonne santé (Figure 19). Par ailleurs, le taux sérique de CRF et la fréquence cardiaque étaient initialement plus élevés chez les patients que chez les sujets sains, et n'ont cessé d'augmenter chez les patients non traités à l'approche de la chirurgie. Par contre, alors que le traitement probiotique n'a pas eu d'effet sur les sujets sains, il a induit une diminution significative de ces deux paramètres chez les patients prenant le probiotique et il a été observé chez eux à la veille de la chirurgie un taux sanguin de CRF similaire à celui de sujets sains (Figure 20). Ainsi, le probiotique *Clostridium butyricum* (souche(s) à préciser) semble pouvoir améliorer l'anxiété et les caractéristiques biochimiques du stress chez des patients devant subir une laryngectomie [73].



Légende : Healthy : Sujets sains traités avec *C. butyricum*
 Probiotics : Patients traités avec *C. butyricum*
 Placebo : Patients traités avec placebo
 ■ Avant traitement ■ Après traitement
 * Différence significative par rapport aux sujets sains
 # Différence significative par rapport au début du traitement

Figure 19 : Effet de *Clostridium butyricum* sur le niveau d'anxiété (échelle HAMA) [73]



Légende :
 Sujets sains traités avec *C. butyricum*
 Patients traités avec *C. butyricum*
 Patients traités avec placebo
 * Différence significative par rapport aux valeurs initiales (Day 0)

Figure 20 : Effet de *Clostridium butyricum* sur le taux de CRF sérique et la fréquence cardiaque [73]

Enfin, dans une étude menée sur 60 patients souffrant de sclérose en plaques, la consommation quotidienne d'une capsule de probiotiques multi-espèces contenant *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum* et *B. bifidum* (souches non précisées) a amélioré la santé mentale de ces patients comme le reflète une baisse des scores globaux du GHQ-28 et du DASS, de façon significative par rapport aux patients traités par placebo [74].

Cependant, d'autres études n'ont trouvé aucun effet positif significatif de leurs interventions probiotiques sur le stress et l'anxiété. Ainsi, dans l'étude de Marcos et coll. [75], 136 étudiants ont reçu quotidiennement pendant 6 semaines (3 semaines avant l'examen et les trois semaines de la période d'examen) ou bien 200mL de lait demi écrémé ou bien 200mL de lait fermenté avec des cultures de yaourt (*L. bulgaricus* et *S. thermophilus*) et contenant *L. casei* DN-114001. A la fin du traitement, le niveau d'anxiété mesuré par le STAI-état avait augmenté chez tous les étudiants, de façon similaire chez le groupe traité et le groupe contrôle. Le cortisol sérique avait également augmenté dans les deux groupes sans différence significative, ne montrant aucune amélioration de la réponse au stress.

Dans l'étude de Reale et coll. [76] sur 72 ouvriers fumeurs en bonne santé, la prise quotidienne de *L. casei* Shirota pendant 3 semaines n'a pas amélioré la perception de l'anxiété mesurée par les deux échelles STAI-trait et STAI-état, ni le risque de stress professionnel mesuré par le test de Karasek.

Chez des jeunes adultes en bonne santé non-fumeurs, une formulation probiotique complexe contenant différentes souches et espèces des genres *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Bifidobacterium*, consommée chaque jour pendant 4 semaines, n'a pas eu d'effet sur le score d'anxiété du BAI [77].

Trois études menées chez des patients atteints du syndrome de l'intestin irritable ont examiné les scores de l'échelle HAD avant et après les interventions probiotiques et n'ont trouvé aucun effet de la prise quotidienne pendant 4 semaines de *B. infantis* 35624 [78]) ou de *L. casei rhamnosus* LCR35 [79], ni pendant 8 semaines d'un lait fermenté avec les bactéries du yaourt et contenant *L. paracasei* F19, *L. acidophilus* La5 et *B. lactis* Bb-12 [80].

Dans une autre étude, des patientes atteintes de polyarthrite rhumatoïde n'ont montré aucun changement dans les niveaux d'anxiété évalués avec le STAI après 8 semaines de la consommation quotidienne d'une capsule contenant *L. casei* 01 [81].

Les résultats des 14 études citées sont résumés dans le tableau 7.

Probiotique versus placebo							
Etude	Participants	Sexe, âge	Probiotiques	Durée	Outils de mesure	Résultats	Résultats secondaires
Messaoudi et al, 2011a [55]	55 adultes en bonne santé	F et H 30-60	<i>L. helveticus</i> R0052 + <i>B. longum</i> R0175 (sachet)	30 jours	HSCL-90, HADS, PSS, CCL	↓ index de sévérité globale de la HSCL-90 (↓ somatisation, ↓ colère-hostilité) ↓ score global HADS ↓ score auto-accusation et ↑ résolution de problèmes de la CCL → score PSS	↓ cortisol libre urinaire médian
Messaoudi et al, 2011b [70]	25 adultes sains de l'étude précédente avec les plus bas niveaux d'UFC		<i>L. helveticus</i> R0052 + <i>B. longum</i> R0175 (sachet)	30 jours	HSCL-90, HADS, PSS	↓ index de sévérité globale de la HSCL-90 (↓ somatisation, ↓ colère-hostilité, ↓ obsession-compulsion, ↓ anxiété, ↓ idéation paranoïde) ↓ score global HADS ↓ score PSS	
Mohammadi et al, 2015 [69]	70 travailleurs pétrochimie	F et H 20-60	« yaourt » probiotique : <i>L. acidophilus</i> LA5 + <i>B. lactis</i> BB12 Capsule probiotique : <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> , <i>S. thermophilus</i> (souches non précisées)	6 sem.	GHQ-28, DASS	↓ score global GHQ-28 ↓ score global DASS	→ ACTH sérique → cortisol sérique

Takada et al, 2016 [72]	140 (47-46-47) étudiants en bonne santé sous stress d'examen	F et H Probiotique: 23 Placebo : 22.8	<i>L. casei</i> Shirota YIT 9029 (boisson lactée)	8 sem. avant le jour de l'examen	STAI	→ scores STAI (↑ dans les deux groupes)	Avant examen : ↑ cortisol salivaire atténuée ↓ symptômes physiques
Rao et al, 2009 [71]	35 patients SFC	F et H 18-65	<i>L. casei</i> Shirota (sachet)	8 sem.	BAI	↓ score BAI	
Yang et al, 2015 [73]	20 patients cancer larynx avant chirurgie + 10 adultes en bonne santé	F et H Patients probiotique: 59.4 Patients placebo : 56.7 Sujets sains probiotique: 52.6	<i>Clostridium butyricum</i> souche(s) non précisée(s) (capsule)	2 sem. Avant la veille de la chirurgie	HAMA	↓ score HAMA	Patients 1 jour avant chirurgie : ↓ CRF sérique ↓ fréquence cardiaque Aucun effet sur les sujets sains
Kouchaki et al, 2016 [74]	60 patients SEP	F et H Probiotique: 34.4 Placebo: 33.8	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>B. bifidum</i> Souches non précisées (capsule)	12 sem.	GHQ-28 DASS	↓ score global GHQ-28 ↓ score global DASS	
Marcos et al, 2004 [75]	136 étudiants en bonne santé sous stress d'examen	F et H 18-23	<i>L. bulgaricus</i> et <i>S. thermophilus</i> , + <i>L. casei</i> DN-114001 (lait)	6 sem. (3 avant et 3 pendant examen)	STAI	→ score STAI état (↑ dans les deux groupes)	→ cortisol sérique (↑ dans les deux groupes)
Reale et al, 2012 [76]	72 fumeurs ouvriers en bonne santé	M 40-60	<i>L. casei</i> Shirota (sachet)	3 sem.	STAI JCQ	→ scores STAI → scores JCQ	

Steenbergen et al, 2015 [77]	40 jeunes adultes en bonne santé	F et H Probiotique: 20.2 Placebo: 19.7	<i>B. bifidum</i> W23, <i>B. lactis</i> W52, <i>L. acidophilus</i> W37, <i>L. brevis</i> W63, <i>L. casei</i> W56, <i>L. salivarius</i> W24 et <i>Lactococcus lactis</i> W19 et W58 (sachet)	4 sem.	BAI	→ score BAI	
Whorwell et al, 2006 [78]	362 patients SII	F 18-65	<i>B. infantis</i> 35624 (capsule)	4 sem.	HADS	→ score global HADS dans aucun des dosages	
Simrén et al, 2010 [80]	67 patients SII	F et H Probiotique : 42 Placebo : 44	<i>L. bulgaricus</i> et <i>S. thermophilus</i> + <i>L. paracasei</i> F19, <i>L. acidophilus</i> La5 et <i>B. lactis</i> Bb12 (lait)	8 sem.	HADS	→ score global HADS-A	
Dapoigny et al, 2012 [79]	50 patients SII	F et H 47.1	<i>L. casei rhamnosus</i> LCR35 (capsule)	4 sem.	HADS	→ score global HADS	
Vaghef-Mehrabany et al, 2014 [81]	46 patients PR	F Probiotique : 41.14 Placebo : 44.29	<i>L. casei</i> 01 (capsule)	8 sem.	STAI	→ scores STAI	

Légende : L. : *Lactobacillus* B. : *Bifidobacterium* S. : *Streptococcus*

SFC : Syndrome de fatigue chronique, SEP : Sclérose en plaques, SII : Syndrome de l'intestin irritable, PR : polyarthrite rhumatoïde

UFC : cortisol libre urinaire

↑ augmentation, ↓ diminution, → pas de différence

Tableau 6 : Effet des probiotiques sur le stress et l'anxiété chez les humains

Les résultats des études citées apparaissent très hétérogènes et sont difficiles à analyser tant les conditions des études sont diverses. Les genres les plus fréquemment utilisés étaient *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, avec des espèces et des souches différentes selon les études. Les doses d'administration et les durées des traitements ont pu aussi influencer les résultats. D'autre-part, les études provenant de divers pays, les participants n'avaient pas les mêmes habitudes alimentaires, connues pour avoir un impact sur la composition du microbiote, ce qui a pu induire des effets probiotiques différents. D'autres facteurs ont pu intervenir, tels que l'état de santé ou encore le nombre de participants. Enfin, les outils de mesure psychologique du stress et de l'anxiété utilisés n'étaient pas les mêmes suivant les études, et en outre les résultats ont pu être faussés par la subjectivité d'une auto-évaluation.

Néanmoins, sur 14 études, 7 ont rapporté des effets bénéfiques significatifs de probiotiques sur le stress et /ou l'anxiété. Ces résultats doivent encourager à poursuivre les recherches sur le potentiel anti-stress et anxiolytique d'une supplémentation probiotique en évaluant, suivant la population concernée, quels sont les souches probiotiques, le dosage et la durée de traitement les plus efficaces. Par exemple, il est dommage qu'une seule étude [78] ait comparé l'efficacité de plusieurs dosages.

Conclusion générale

Des études précliniques comparant rongeurs axéniques et conventionnels ont montré que l'absence de microbiote intestinal exacerbait la réactivité de l'axe corticotrope HHS à un stress aigu en perturbant plusieurs niveaux de régulation [34, 36, 37], suggérant que **le microbiote intestinal pourrait avoir un effet modérateur sur la réponse au stress de l'axe HHS**. De plus, les résultats de Sudo et coll. suggèrent l'existence d'une période critique dans le jeune âge pendant laquelle la qualité du microbiote intestinal influence la maturation des structures cérébrales impliquées dans la réponse au stress. En conclusion, **il semblerait que le microbiote intestinal joue un rôle à la fois dans la programmation de l'axe corticotrope tôt dans la vie et dans la réactivité au stress au cours de la vie**.

Par ailleurs, il a été montré que l'administration à l'âge adulte du probiotique *Lactobacillus rhamnosus* JB-1 [40] ou *Lactobacillus farciminus* [41] pouvait atténuer la réponse de l'axe HHS à un stress aigu chez les rongeurs SPF suggérant **une action bénéfique de ces probiotiques sur la réactivité au stress même à l'âge adulte**.

L'effet du microbiote intestinal sur le comportement de type anxieux a été décrit dans plusieurs études précliniques. Les résultats montrent des divergences, la nature anxiogène ou anxiolytique semblant dépendre du fond génétique des animaux. Ainsi, l'absence de microbiote intestinal est associée à une diminution du comportement de type anxieux chez les souris NMRI [42] et Swiss Webster [36, 38] qui sont des lignées peu sensibles au stress. A l'opposé, l'absence de microbiote intestinal est associée à une augmentation du comportement de type anxieux chez les souris BALB/c [43] et chez les rats F344 [37] qui sont des lignées particulièrement sensibles au stress. Le microbiote intestinal semble donc avoir un effet normalisateur sur le comportement de type anxieux en atténuant l'anxiété chez les lignées sensibles au stress et en l'augmentant chez les lignées peu sensibles. Ce résultat suggère que **le microbiote jouerait un rôle dans la régulation du comportement de type anxieux**.

En outre, une étude de transfert de microbiote intestinal [44] a montré qu'il était possible de diminuer le comportement de type anxieux de souris de lignée BALB/c sensible au stress en remplaçant leur microbiote par celui de souris de lignée NIH Swiss peu sensible au stress et à l'inverse, d'augmenter celui de souris NIH Swiss en remplaçant leur microbiote par celui de souris BALB/c. Les différences de comportement semblent donc associées à des profils de microbiote différents. Ce résultat suggère que **la composition du microbiote intestinal pourrait influencer la susceptibilité de son hôte à l'anxiété**.

Par ailleurs, si Bercik et coll. [44] ont aussi montré que la colonisation de souris AX à l'âge adulte par le microbiote de souris SPF de la même lignée permettait de retrouver un comportement de type anxieux se rapprochant de celui de leurs congénères, d'autres études contredisent ce résultat [38, 42] et suggèrent plutôt [36, 42] qu'**il existerait, comme pour l'axe corticotrope, une période critique dans le jeune âge pendant laquelle le microbiote intestinal laisserait une empreinte sur le cerveau et conditionnerait la régulation de l'anxiété.** Cependant, les limites de cette période semblent dépendre de paramètres qui restent élucider.

Plusieurs études précliniques ont permis d'évaluer l'impact d'une modulation du microbiote intestinal sous l'effet d'agents extérieurs (entéropathogènes modérés, antibiotiques, probiotiques ou prébiotiques) sur le comportement de type anxieux.

Globalement, les études ont montré que la présence dans le tube digestif de bactéries pathogènes telles que *Citrobacter rodentium* [45] ou *Campylobacter jejuni* [46], de parasites tels que *Trichuris muris* [48] ou d'un agent chimique tel que du Dextran Sulfate de Sodium [47, 49] pouvait induire une augmentation du comportement de type anxieux. Ces résultats suggèrent qu'**une dysbiose provoquée par certains entéropathogènes pourrait entraîner une aggravation de l'anxiété.**

L'effet d'une perturbation du microbiote intestinal par un traitement antibiotique sur le comportement de type anxieux a été décrit dans plusieurs études. Les résultats montrent des divergences, l'effet étant de nature anxiolytique ou anxiogène suivant les études. Néanmoins, tous les résultats suggèrent que **si un traitement antibiotique à l'âge adulte peut provoquer une modification du comportement de type anxieux qui disparaît rapidement à l'arrêt du traitement, une perturbation précoce du microbiote intestinal par des antibiotiques pourrait entraîner une modification du comportement à l'âge adulte.**

Par ailleurs, deux études récentes sur des souris se sont intéressées aux conséquences d'un traitement antibiotique pendant la grossesse sur le comportement de type anxieux de la progéniture. Ainsi, dans l'étude de Leclercq et coll. [52], l'administration orale de pénicilline V à de futures mères, commencée une semaine avant la mise bas et poursuivie jusqu'au sevrage (âge 21 jours), a entraîné une diminution du comportement de type anxieux chez la progéniture mâle à l'âge de 6 semaines (jeune adulte). Dans l'étude de Tochitani et coll. [53], l'administration orale d'un cocktail de néomycine, bacitracine et pimaricine à de futures mères, commencée 9 jours après détection du bouchon muqueux et poursuivie pendant une semaine, a entraîné une augmentation du comportement de type anxieux chez la progéniture mâle (sevrée à 23 jours) à l'âge de 4 semaines et encore perceptible à l'âge adulte (8 semaines). De plus, en échangeant à la naissance les petits entre mères traitées par antibiotiques pendant la grossesse et celles non traitées, les souriceaux nés de mères traitées et allaités par des mères non traitées ont retrouvé un comportement de type

anxieux normal à l'âge de 4 semaines, alors que les souriceaux nés de mères non traitées mais allaités par des mères traitées ont développé un comportement de type anxieux exacerbé. Ces résultats suggèrent qu'**une dysbiose du microbiote intestinal maternel provoquée par un traitement antibiotique pendant la période prénatale et /ou pendant l'allaitement pourrait induire une modification de l'anxiété chez la progéniture**, d'où l'importance de prendre soin du microbiote intestinal maternel pendant la grossesse et pendant l'allaitement.

Plusieurs études précliniques ont évalué le potentiel anxiolytique de différents probiotiques seuls ou en combinaison. Les genres utilisés étaient *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Les espèces utilisées étaient *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *B. longum* et *B. breve*, avec des souches différentes selon les études. Les résultats suggèrent que **certaines souches probiotiques pourraient avoir un effet bénéfique sur le comportement de type anxieux à la fois sur des sujets sains à tendance anxieuse [40, 54, 55] et sur des sujets dont l'anxiété est accentuée par une dysbiose due à un entéropathogène [47, 48, 49, 56] ou à un traitement antibiotique [51].**

Enfin, deux études récentes ont étudié le potentiel anxiolytique d'un régime prébiotique, suggérant que **certains prébiotiques pourraient aider à atténuer les comportements de type anxieux [57, 58].**

En ce qui concerne les études cliniques, peu d'études ont évalué l'effet de probiotiques sur le stress et l'anxiété chez les humains. Les genres les plus fréquemment utilisés étaient *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* avec des espèces et des souches, ainsi que des doses d'administration et des durées de traitements différents selon les études. Plusieurs instruments de mesure psychologique du stress et de l'anxiété ont été utilisés. Malgré des résultats très hétérogènes, 7 études sur les 14 citées ont rapporté des effets bénéfiques de probiotiques sur le stress et/ou l'anxiété, suggérant, en accord avec les études précliniques, **le potentiel anti-stress et anxiolytique d'une supplémentation probiotique adaptée, chez des personnes malades, comme chez des personnes saines.**

Perspectives thérapeutiques

Notre société actuelle est construite sur des sollicitations incessantes et des situations stressantes et répétées (problèmes d'argent, stress au travail, relations difficiles ...), provoquant un état d'anxiété plus ou moins important suivant les individus. Tandis que l'organisme est en général capable de s'adapter à des facteurs de stress ponctuels, une surcharge chronique peut conduire à de nombreux problèmes de santé physique tels que inflammation du côlon, diabète de type II, obésité abdominale, hypertension artérielle, pathologies cardiovasculaires ou infectieuses, et de santé mentale tels que troubles cognitifs, troubles anxieux et dépression.

Les troubles anxieux, correspondant à une anxiété excessive, disproportionnée et persistante, sont les troubles mentaux les plus fréquemment retrouvés dans la population européenne ; ils conduisent souvent à une altération des relations sociales, professionnelles ou familiales. Plusieurs troubles tels que l'anxiété de séparation, le mutisme sélectif, la phobie spécifique et l'anxiété sociale se développent dans l'enfance et tendent à persister lorsqu'ils ne sont pas traités. Globalement, ils surviennent deux fois plus souvent chez les femmes que chez les hommes. Par ailleurs, les troubles anxieux sont hautement comorbides entre eux et avec les troubles de l'humeur dont la dépression, et peuvent conduire à des idées et des tentatives de suicide [82].

Si l'efficacité des anxiolytiques et des antidépresseurs permet l'amélioration de l'état de santé d'une majorité de patients atteints de troubles anxieux, l'axe microbiote-intestin-cerveau semble offrir un moyen d'action supplémentaire dans le traitement de ces troubles. En effet, les résultats de cette thèse suggèrent que des dysbioses pourraient contribuer à la physiopathologie des troubles anxieux et que la modulation du microbiote intestinal par des probiotiques, des prébiotiques ou des synbiotiques, en contribuant à restaurer la symbiose entre le microbiote et son hôte, pourrait être une nouvelle approche thérapeutique ou tout du moins un traitement adjuvant dans la thérapie de ces troubles, et dans la prise en charge du stress et de l'anxiété associés à certaines maladies. D'autre part, les études ont également suggéré le pouvoir anti-stress et anxiolytique de pro- et prébiotiques chez des personnes saines, laissant entrevoir un moyen pour éviter les conséquences délétères des stress auxquels nous sommes quotidiennement soumis dans le monde moderne. Ainsi, probiotiques et prébiotiques ouvrent des perspectives vers la prise en charge du stress et de l'anxiété chez les personnes malades, comme chez les personnes saines. Toutefois, si les résultats des études précliniques et des quelques études cliniques réalisées à ce jour sont encourageants, ils sont encore très insuffisants et les études notamment cliniques doivent être poursuivies ; en particulier des études d'intervention chez des patients souffrant de troubles anxieux doivent être entreprises.

Selon la définition adoptée en 2001 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), les probiotiques sont des « microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, ont des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. » [83]

Les prébiotiques sont des « ingrédients sélectivement fermentés qui induisent des changements spécifiques dans la composition et /ou l'activité du microbiote intestinal produisant ainsi un effet bénéfique sur la santé de l'hôte. »

Probiotiques et prébiotiques constituent donc un moyen direct dans le cas des probiotiques, ou indirect dans le cas des prébiotiques, de moduler le microbiote intestinal.

Les synbiotiques sont des produits qui contiennent à la fois un/des probiotique(s) et un/des prébiotique(s), et qui produisent un effet bénéfique sur la santé. La présence du/des prébiotique(s) assure la stabilité du/des probiotique(s) dans le produit ainsi que la survie et l'implantation dans le tractus gastro-intestinal, tant que dure la présence du/des prébiotiques(s).

Aucun modèle animal ne permettant de prédire avec certitude les réponses de l'espèce humaine à une intervention pro- et/ou prébiotique, il est impossible d'extrapoler les résultats obtenus chez l'animal à des sujets humains et les effets devront donc être évalués directement chez l'homme. D'autre part, les groupes testés dans les études cliniques devront être identiques à la population visée, les résultats obtenus par une souche probiotique ou une molécule prébiotique ne devront pas être extrapolés à d'autres, et des études comparatives devront être faites pour rechercher chaque fois la ou les souche(s) probiotique(s) ou molécule(s) prébiotique(s), la dose et le conditionnement les plus efficaces, ainsi que la durée optimale du traitement pour induire l'effet souhaité en s'assurant bien sûr de son innocuité.

Annexes

Annexe 1 : Questionnaire général sur la santé, GHQ-28 (General Health Questionnaire) d'après Goldberg et Hillier , 1979

Consigne : *Veillez lire ce qui suit avec attention : Nous aimerions savoir si vous avez eu des problèmes médicaux et comment, d'une manière générale, vous vous êtes porté(e) ces dernières semaines. Veuillez répondre à toutes les questions, en entourant la réponse qui vous semble correspondre le mieux à ce que vous ressentez. Rappelez-vous que nous désirons obtenir des renseignements sur les problèmes actuels et récents et non pas ceux que vous avez pu avoir dans le passé. Il est important que vous essayiez de répondre à toutes les questions.*

1. Vous êtes-vous senti(e) parfaitement bien et en bonne santé ?

mieux que d'habitude

moins bien que d'habitude

comme d'habitude

beaucoup moins bien que d'habitude

2. Avez-vous éprouvé le besoin d'un bon remontant ?

pas du tout

un peu plus que d'habitude

pas plus que d'habitude

bien plus que d'habitude

3. Vous êtes vous senti(e) à plat et pas dans votre assiette ("mal fichu(e)") ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
4. Vous êtes vous senti(e) malade ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
5. Avez-vous eu des douleurs à la tête ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
6. Avez-vous eu une sensation de serrement ou de tension dans la tête ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
7. Avez-vous eu des bouffées de chaleur ou des frissons ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
8. Avez-vous manqué de sommeil à cause de vos soucis ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
9. Avez-vous eu de la peine à rester endormi(e) ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
10. Vous êtes-vous senti(e) constamment tendu(e) ou "stressé(e)" ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
11. Vous êtes-vous senti(e) irritable et de mauvaise humeur ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
12. Avez-vous été effrayé(e) et pris(e) de panique sans raison valable
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
13. Vous êtes-vous senti(e) dépassé(e) par les évènements ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
14. Vous êtes-vous senti(e) continuellement énervé(e) ou tendu(e) ?
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| pas du tout | un peu plus que d'habitude |
| pas plus que d'habitude | bien plus que d'habitude |
15. Avez-vous réussi à rester actif(ve) et occupé(e) ?
- | | |
|---------------------|---------------------------|
| plus que d'habitude | moins que d'habitude |
| comme d'habitude | bien moins que d'habitude |

16. Avez-vous mis plus de temps à faire les choses habituelles ?
 moins de temps que d'habitude plus que d'habitude
 autant que d'habitude beaucoup plus de temps que d'habitude
17. Avez-vous eu le sentiment que dans l'ensemble vous faisiez bien les choses ?
 mieux que d'habitude moins bien que d'habitude
 aussi bien que d'habitude beaucoup moins bien que d'habitude
18. Avez-vous été satisfait(e) de la façon dont vous avez fait votre travail ?
 plus satisfait(e) moins satisfait(e) que d'habitude
 comme d'habitude bien moins satisfait(e)
19. Avez-vous eu le sentiment de jouer un rôle utile dans la vie ?
 plus que d'habitude moins utile que d'habitude
 comme d'habitude bien moins utile
20. Vous êtes-vous senti(e) capable de prendre des décisions ?
 plus que d'habitude moins capable que d'habitude
 comme d'habitude bien moins capable
21. Avez-vous été capable d'apprécier vos activités quotidiennes normales ?
 plus que d'habitude moins que d'habitude
 comme d'habitude bien moins que d'habitude
22. Vous êtes-vous considéré(e) comme quelqu'un qui ne valait rien ?
 pas du tout plus que d'habitude
 pas plus que d'habitude bien plus que d'habitude
23. Avez-vous eu le sentiment que la vie est totalement sans espoir ?
 pas du tout plus que d'habitude
 pas plus que d'habitude bien plus que d'habitude
24. Avez-vous eu le sentiment que la vie ne vaut pas la peine d'être vécue ?
 pas du tout plus que d'habitude
 pas plus que d'habitude bien plus que d'habitude
25. Avez-vous pensé à la possibilité de vous supprimer ?
 certainement pas m'a traversé l'esprit
 je ne pense pas oui certainement
26. Avez-vous pensé que parfois vous n'arriviez à rien parce que vos nerfs étaient à bout ?
 pas du tout plus que d'habitude
 pas plus que d'habitude bien plus que d'habitude
27. Vous est-il arrivé de souhaiter être mort(e) et loin de tout ça ?
 pas du tout plus que d'habitude
 pas plus que d'habitude bien plus que d'habitude
28. Est-ce que l'idée de vous supprimer réapparaissait continuellement dans votre esprit ?
 certainement pas m'a traversé l'esprit
 je ne pense pas oui certainement

Traduction française : Pariente et al, 1992

(Symptômes somatiques : items 1-7, anxiété : item 8-14, dysfonctionnement social : items 15-21, dépression sévère : items 22-28)

Annexe 2: Echelle HAD (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS)

d'après Zigmund et Snaith, 1983

Lisez chaque question et entourez la réponse qui s'adapte le mieux à vous pour la semaine passée. Votre réponse ne doit pas être trop réfléchie mais rapide. Il n'y a pas de bonne ou mauvaise réponse. Entourez une seule réponse par question.

1. Je me sens tendu(e) ou énervé(e)

- La plupart du temps 3
- Souvent 2
- De temps en temps 1
- Jamais 0

2. Je prends plaisir aux mêmes choses qu'autrefois

- Oui, tout autant 0
- Pas autant 1
- Un peu seulement 2
- Presque plus 3

3. J'ai une sensation de peur comme si quelque chose d'horrible allait m'arriver

- Oui, très nettement 3
- Oui, mais ce n'est pas trop grave 2
- Un peu, mais cela ne m'inquiète pas 1
- Pas du tout 0

4. Je ris facilement et vois le bon côté des choses

- Autant que par le passé 0
- Plus autant qu'avant 1
- Vraiment moins qu'avant 2
- Plus du tout 3

5. Je me fais du souci

- Très souvent 3
- Assez souvent 2
- Occasionnellement 1
- Très occasionnellement 0

6. Je suis de bonne humeur

- Jamais 3
- Rarement 2
- Assez souvent 1
- La plupart du temps 0

7. Je peux rester tranquillement assis(e) à ne rien faire et me sentir décontracté(e)

- Oui, quoi qu'il arrive 0
- Oui, en général 1
- Rarement 2
- Jamais 3

8. J'ai l'impression de fonctionner au ralenti

- Presque toujours 3
- Très souvent 2
- Parfois 1
- Jamais 0

9. J'éprouve des sensations de peur et j'ai l'estomac noué

- Jamais 0
- Parfois 1
- Assez souvent 2
- Très souvent 3

10. Je ne m'intéresse plus à mon apparence

- Plus du tout 3
- Je n'y accorde pas autant d'attention que je devrais 2
- Il se peut que je n'y fasse plus autant attention 1
- J'y prête autant d'attention que par le passé 0

11. J'ai la bougeotte et n'arrive pas à tenir en place

- Oui, c'est tout à fait le cas 3
- Un peu 2
- Pas tellement 1
- Pas du tout 0

12. Je me réjouis d'avance à l'idée de faire certaines choses

- Autant qu'avant 0
- Un peu moins qu'avant 1
- Bien moins qu'avant 2
- Presque jamais 3

13. J'éprouve des sensations soudaines de panique

- Vraiment très souvent 3
- Assez souvent 2
- Pas très souvent 1
- Jamais 0

14. Je peux prendre plaisir à un bon livre ou à une bonne émission de radio ou de télévision

- Souvent 0
- Parfois 1
- Rarement 2
- Très rarement 3

Traduction française : Lépine et al, 1985 et Ravazi et al 1989.

L'échelle HAD est formée de deux sous échelles de 7 items chacune : HADS-A (anxiété, items impairs) et HADS-D (dépression, items pairs), permettant ainsi l'obtention de sous scores.

Annexe 3 : Echelle de stress perçu, PSS (Perceived Stress Scale) d'après Cohen et al, 1983

Diverses questions vont vous être posées ci-après. Elles concernent vos sensations et pensées pendant le mois qui vient de s'écouler. A chaque fois, nous vous demandons d'indiquer comment vous vous êtes senti(e) le mois dernier.

Bien que certaines questions soient proches, il y a des différences entre elles, et chacune doit être considérée comme une question indépendante des autres. La meilleure façon de procéder est de répondre assez rapidement.

N'essayez pas de compter le nombre de fois où vous vous êtes senti(e) de telle ou telle façon, mais **indiquez plutôt la réponse qui vous paraît la plus proche de la réalité parmi les 5 choix proposés :**

- 1 Jamais
- 2 Presque Jamais (rarement)
- 3 Parfois
- 4 Assez souvent
- 5 Très souvent

Mettre une croix dans la case correspondant à votre réponse.

Au cours du dernier mois, combien de fois...	Jamais	Presque jamais	Parfois	Assez souvent	Très souvent
1 ... avez-vous été dérangé(e) par un événement inattendu ?					
2 ... vous a-t-il semblé difficile de contrôler les choses importantes de votre vie ?					
3 ... vous êtes-vous senti(e) nerveux(se) et stressé(e) ?					
4 ... avez-vous affronté avec succès les petits problèmes et ennuis quotidiens ?					
5 ... avez-vous senti que vous faisiez face efficacement aux changements importants qui survenaient dans votre vie ?					
6 ... vous êtes-vous senti(e) confiant(e) dans vos capacités à prendre en main vos problèmes personnels ?					
7 ... avez-vous senti que les choses allaient comme vous le vouliez ?					
8 ... avez-vous pensé que vous ne pouviez pas assumer toutes les choses que vous deviez faire ?					
9 ... avez-vous été capable de maîtriser votre énervement ?					
10 ... avez-vous senti que vous dominiez la situation ?					
11 ... vous êtes-vous senti(e) irrité(e) parce que les événements échappaient à votre contrôle ?					
12 ... vous êtes-vous surpris(e) à penser à des choses que vous deviez mener à bien ?					
13 ... avez-vous été capable de contrôler la façon dont vous passiez votre temps ?					
14 ... avez-vous trouvé que les difficultés s'accumulaient à un tel point que vous ne pouviez les surmonter ?					

Traduction française : Quintard, 1994

La cotation des items 1-2-3-8-11-12-14 est :

0 Jamais, 1 Presque jamais, 2 Parfois, 3 Assez souvent, 4 Très souvent.

La cotation des items 4-5-6-7-9-10-13 est inversée

Annexe 4 :Echelles de dépression, d'anxiété et de stress, DASS (Depression Anxiety Stress Scales) d'après Lovibond et Lovibond, 1993

Veillez lire chaque énoncé et indiquez lequel correspond le mieux à votre expérience au cours de *la dernière semaine*. Indiquez votre choix en encerclant le chiffre qui y correspond (soit 0,1,2 ou 3). Il n'y a pas de bonne ou de mauvaise réponse. Ne vous attardez pas trop longuement aux énoncés.

L'échelle de notation est la suivante :

- 0 ne s'applique pas du tout à moi
- 1 s'applique un peu à moi, ou une partie du temps
- 2 s'applique beaucoup à moi, ou une bonne partie du temps
- 3 s'applique entièrement à moi, ou la grande majorité du temps

1	Je me suis aperçu(e) que des choses insignifiantes me troublaient.	0	1	2	3
2	J'ai été conscient(e) d'avoir la bouche sèche.	0	1	2	3
3	J'ai eu l'impression de ne pas pouvoir ressentir d'émotion positive.	0	1	2	3
4	J'ai eu de la difficulté à respirer (par exemple, respirations excessivement rapides, essoufflement sans effort physique).	0	1	2	3
5	J'ai eu de la difficulté à initier de nouvelles activités.	0	1	2	3
6	J'ai eu tendance à réagir de façon exagérée.	0	1	2	3
7	Je me suis senti(e) faible (par exemple, les jambes qui allaient se dérober sous moi).	0	1	2	3
8	J'ai eu de la difficulté à me détendre.	0	1	2	3
9	Je me suis trouvé(e) dans des situations qui me rendaient tellement anxieux(se) que j'ai été très soulagé(e) lorsqu'elles ont pris fin.	0	1	2	3
10	J'ai eu le sentiment de ne rien envisager avec plaisir.	0	1	2	3
11	Je me suis aperçu(e) que j'étais assez facilement contrarié(e).	0	1	2	3
12	J'ai eu l'impression de dépenser beaucoup d'énergie nerveuse.	0	1	2	3
13	Je me suis senti(e) triste et déprimé(e).	0	1	2	3
14	Je me suis aperçu(e) que je devenais impatient(e) lorsque j'étais retardé(e) de quelque façon que ce soit (par exemple dans les ascenseurs, aux feux de circulation, lorsque je devais attendre).	0	1	2	3
15	Je me suis senti(e) étourdi(e).	0	1	2	3
16	J'ai eu l'impression d'avoir perdu goût à presque tout.	0	1	2	3
17	J'ai eu le sentiment de ne pas valoir grand chose comme personne.	0	1	2	3
18	J'ai eu l'impression d'être assez susceptible.	0	1	2	3
19	J'ai transpiré de façon perceptible (par exemple, les mains moites) en l'absence de températures élevées ou d'effort physique.	0	1	2	3
20	J'ai eu peur sans bonne raison.	0	1	2	3
21	J'ai eu le sentiment que la vie n'en valait pas la peine.	0	1	2	3

Rappel de l'échelle de notation :

- 0 ne s'applique pas du tout à moi
- 1 s'applique un peu à moi, ou une partie du temps
- 2 s'applique beaucoup à moi, ou une bonne partie du temps
- 3 s'applique entièrement à moi, ou la grande majorité du temps

22	J'ai trouvé difficile de décompresser.	0	1	2	3
23	J'ai eu de la difficulté à avaler.	0	1	2	3
24	J'ai eu de la difficulté à prendre plaisir à ce que je faisais.	0	1	2	3
25	J'ai été conscient(e) des palpitations de mon coeur en l'absence d'effort physique (sensation d'augmentation de mon rythme cardiaque ou l'impression que mon coeur venait de sauter).	0	1	2	3
26	Je me suis senti(e) abattu(e) et triste.	0	1	2	3
27	Je me suis aperçu(e) que j'étais très irritable.	0	1	2	3
28	J'ai eu le sentiment d'être presque pris(e) de panique.	0	1	2	3
29	J'ai trouvé difficile de me calmer après avoir été contrarié(e) par quelque chose.	0	1	2	3
30	J'ai eu peur d'être déconcerté(e) par une tâche insignifiante mais non-familière.	0	1	2	3
31	J'ai été incapable de me sentir enthousiaste au sujet de quoi que ce soit.	0	1	2	3
32	J'ai trouvé difficile de tolérer des interruptions à ce que je faisais.	0	1	2	3
33	J'ai été dans un état de tension nerveuse.	0	1	2	3
34	J'ai eu le sentiment d'être sans valeur.	0	1	2	3
35	J'ai été intolérant(e) à tout ce qui m'empêchait de faire ce que j'avais à faire.	0	1	2	3
36	Je me suis senti(e) terrifié(e).	0	1	2	3
37	Je n'ai rien pu voir dans l'avenir qui me donnait de l'espoir.	0	1	2	3
38	J'ai eu l'impression que la vie n'avait pas de sens.	0	1	2	3
39	Je me suis aperçu(e) que je devenais agité(e).	0	1	2	3
40	Je me suis inquiété(e) en pensant à des situations où je pourrais paniquer et faire de moi un(e) idiot(e).	0	1	2	3
41	J'ai eu des tremblements (par exemple, des mains).	0	1	2	3
42	J'ai trouvé difficile d'être motivé(e) à commencer des activités.	0	1	2	3

Traduction française : Donald

DASS-S / items 1-6-8-11-12-14-18-22-27-29-32-33-35-39

DASS-A: items 2-4-7-9-15-19-20-23-25-28-30-36-40-41

DASS-D: items 3-5-10-13-16-17-21-24-26-31-34-37-38-42

Annexe 5 : Inventaire d'anxiété de Beck (Beck Anxiety Inventory, BAI) d'après Beck et al, 1988)

Voici une liste de symptômes courants dus à l'anxiété. Veuillez lire chaque symptôme attentivement. Indiquez, en encerclant le chiffre approprié, à quel degré vous avez été affecté par chacun de ces symptômes *au cours de la dernière semaine*, aujourd'hui inclus.

Au cours des 7 derniers jours, j'ai été affecté(e) par...		Pas du tout	Un peu Cela ne m'a pas beaucoup dérangé(e)	Modérément C'était très déplaisant mais supportable	Beaucoup Je pouvais à peine le supporter
1.	Sensations d'engourdissement ou de picotement	0	1	2	3
2.	Bouffées de chaleur	0	1	2	3
3.	«Jambes molles», tremblements dans les jambes	0	1	2	3
4.	Incapacité de se détendre	0	1	2	3
5.	Crainte que le pire ne survienne	0	1	2	3
6.	Étourdissement ou vertige, désorientation	0	1	2	3
7.	Battements cardiaques marqués ou rapides	0	1	2	3
8.	Mal assuré(e), manque d'assurance dans mes mouvements	0	1	2	3
9.	Terrifié(e)	0	1	2	3
10.	Nervosité	0	1	2	3
11.	Sensation d'étouffement	0	1	2	3
12.	Tremblements des mains	0	1	2	3
13.	Tremblements, chancelant(e)	0	1	2	3
14.	Crainte de perdre le contrôle de soi	0	1	2	3
15.	Respiration difficile	0	1	2	3
16.	Peur de mourir	0	1	2	3
17.	Sensation de peur, «avoir la frousse»	0	1	2	3
18.	Indigestion ou malaise abdominal	0	1	2	3
19.	Sensation de défaillance ou d'évanouissement	0	1	2	3
20.	Rougisement du visage	0	1	2	3
21.	Transpiration (non associée à la chaleur)	0	1	2	3

Traduction française : Freeston 1989

Annexe 6 : Inventaire d'anxiété Etat-Trait Forme Y (State-Trait Anxiety Inventory, STAI-Y), d'après Spielberger et al, 1983

Inventaire d'Anxiété Etat-Trait / Forme Y-A

Nom : _____ Prénom : _____

Age : _____ Sexe : _____

Date de passation : _____

E	T

Consignes : Un certain nombre de phrases que l'on utilise pour se décrire sont données ci-dessous. Lisez chaque phrase, puis entourez, parmi les 4 points à droite, celui qui correspond le mieux à ce que vous ressentez A L'INSTANT, JUSTE EN CE MOMENT. Il n'y a pas de bonnes ni de mauvaises réponses. Ne passez pas trop de temps sur l'une ou l'autre de ces propositions et indiquez la réponse qui décrit le mieux vos sentiments ACTUELS.

	Non	Plutôt non	Plutôt oui	Oui
1. Je me sens calme	*	*	*	*
2. Je me sens en sécurité, sans inquiétude, en sûreté	*	*	*	*
3. Je suis tendu(e), crispé(e)	*	*	*	*
4. Je me sens surmené(e)	*	*	*	*
5. Je me sens tranquille, bien dans ma peau	*	*	*	*
6. Je me sens ému(e), bouleversé(e), contrarié(e)	*	*	*	*
7. L'idée de malheurs éventuels me tracasse en ce moment	*	*	*	*
8. Je me sens content(e)	*	*	*	*
9. Je me sens effrayé(e)	*	*	*	*
10. Je me sens à mon aise (je me sens bien)	*	*	*	*
11. Je sens que j'ai confiance en moi	*	*	*	*
12. Je me sens nerveux (nerveuse), irritable	*	*	*	*
13. J'ai la frousse, la trouille (j'ai peur)	*	*	*	*
14. Je me sens indécis(e)	*	*	*	*
15. Je suis décontracté(e), détendu(e)	*	*	*	*
16. Je suis satisfait(e)	*	*	*	*
17. Je suis inquiet, soucieux (inquiète, soucieuse)	*	*	*	*
18. Je ne sais plus où j'en suis, je me sens déconcerté(e), dérouter(e)	*	*	*	*
19. Je me sens solide, posé(e), pondéré(e), réfléchi(e)	*	*	*	*
20. Je me sens de bonne humeur, aimable	*	*	*	*

Inventaire d'Anxiété Etat-Trait / Forme Y-B

Nom : _____ Prénom : _____

Age : _____ Sexe : _____

Date de passation : _____

E	T

Consignes : Un certain nombre de phrases que l'on utilise pour se décrire sont données ci-dessous. Lisez chaque phrase, puis entourez, parmi les 4 points à droite, celui qui correspond le mieux à ce que vous ressentez GÉNÉRALEMENT. Il n'y a pas de bonnes ni de mauvaises réponses. Ne passez pas trop de temps sur l'une ou l'autre de ces propositions et indiquez la réponse qui décrit le mieux vos sentiments HABITUELS.

	Presque jamais	Parfois	Souvent	Presque toujours
21. Je me sens de bonne humeur, aimable	*	*	*	*
22. Je me sens nerveux (nerveuse) et agité(e)	*	*	*	*
23. Je me sens content(e) de moi	*	*	*	*
24. Je voudrais être aussi heureux (heureuse) que les autres	*	*	*	*
25. J'ai un sentiment d'échec	*	*	*	*
26. Je me sens reposé(e)	*	*	*	*
27. J'ai tout mon sang-froid	*	*	*	*
28. J'ai l'impression que les difficultés s'accumulent à un tel point que je ne peux plus les surmonter	*	*	*	*
29. Je m'inquiète à propos de choses sans importance	*	*	*	*
30. Je me sens heureux (heureuse)	*	*	*	*
31. J'ai des pensées qui me perturbent	*	*	*	*
32. Je manque de confiance en moi	*	*	*	*
33. Je me sens sans inquiétude, en sécurité, en sûreté	*	*	*	*
34. Je prends facilement des décisions	*	*	*	*
35. Je me sens incompetent(e), pas à la hauteur	*	*	*	*
36. Je suis satisfait(e)	*	*	*	*
37. Des idées sans importance trotant dans ma tête me dérangent	*	*	*	*
38. Je prends les déceptions tellement à cœur que je les oublie difficilement	*	*	*	*
39. Je suis une personne posée, solide, stable	*	*	*	*
40. Je deviens tendu(e) et agité(e) quand je réfléchis à mes soucis	*	*	*	*

Adaptation française : Schweitzer et Paulhan 1990

Chaque item est coté de 1 à 4, 1 indiquant le degré d'anxiété le plus faible et 4 le degré le plus fort.

Annexe 7 : Echelle d'appréciation de l'anxiété de Hamilton HAMA (Hamilton Anxiety Rating Scale, HARS) d'après Hamilton, 1959

COTATION	
0 : absent ; 1 : léger ; 2 : moyen ; 3 : fort ; 4 : maximal (invalidant)	
Humeur anxieuse Inquiétude - Attente du pire Appréhension (anticipation avec peur) - Irritabilité	<input type="checkbox"/>
Tension Sensations de tension - Fatigabilité - Impossibilité de se détendre - Réaction de sursaut - Pleurs faciles - Tremblements - Sensation d'être incapable de rester en place	<input type="checkbox"/>
Peurs Du noir - Des gens qu'on ne connaît pas - D'être abandonné seul - Des gros animaux - De la circulation - De la foule	<input type="checkbox"/>
Insomnie Difficultés d'endormissement - Sommeil interrompu - Sommeil non satisfaisant avec fatigue au réveil - Rêves pénibles - Cauchemars - Terreurs nocturnes	<input type="checkbox"/>
Fonctions intellectuelles (cognitives) Difficultés de concentration - Mauvaise mémoire	<input type="checkbox"/>
Humeur dépressive Perte des intérêts - Ne prend plus plaisir à ses passe-temps - Dépression - Insomnie du matin - Variations de l'humeur dans la journée.	<input type="checkbox"/>
Symptômes somatiques généraux (musculaires) Douleurs et courbatures dans les muscles - Raideurs musculaires - Secousses cloniques - Grincements des dents - Voix mal assurée.	<input type="checkbox"/>
Symptômes somatiques généraux (sensoriels) Tintement d'oreilles - Vision brouillée - Bouffées de chaleur ou de froid - Sensations de faiblesse - Sensations de picotements	<input type="checkbox"/>
Symptômes cardiovasculaires Tachycardie - Palpitations - Douleurs dans la poitrine - Battements des vaisseaux - Sensations syncopales - Extra-systoles.	<input type="checkbox"/>
Symptômes respiratoires Poids sur la poitrine ou sensation de constriction - Sensations d'étouffement - Soupirs - Dyspnée.	<input type="checkbox"/>
Symptômes gastro-intestinaux Difficultés pour avaler - Vents - Dyspepsie : douleurs avant ou après les repas, sensations de brûlure, ballonnement, pyrosis, nausées, vomissements, creux à l'estomac, "Coliques" abdominales - Borborygmes - Diarrhée - Perte de poids - Constipation	<input type="checkbox"/>
Symptômes génito-urinaires Aménorrhée - Ménorragies - Apparition d'une frigidité - Mictions fréquentes - Urgence de la miction - Ejaculation précoce - Absence d'érection - Impuissance	<input type="checkbox"/>
Symptômes du système nerveux autonome Bouche sèche - Accès de rougeur - Pâleur - Tendance à la sudation - Vertiges - Céphalée de tension - Horripilation	<input type="checkbox"/>
Comportement lors de l'entretien Général: Tendru, non à son aise - Agitation nerveuse des mains, tripote ses doigts, serre les poings, us, serre son mouchoir - Instabilité : va-et-vient - Tremblement des mains - Front plissé - Faciès tendu - Augmentation du tonus musculaire - Respiration haletante - Pâleur faciale. Physiologique: Avale sa salive - Eructations - Tachycardie au repos - Rythme respiratoire à plus de 20mm - Réflexe tendineux vifs - Tremblements - Dilatation pupillaire - Exophtalmie - Sudation - Battements des paupières.	<input type="checkbox"/>

Anxiété psychique: items 1 à 6 et 14

Anxiété somatique: items 7 à 13

Références

- [1] CANNON W. Organization for physiological homeostasis. *Physiol.Rev.*1929; 9(3): 399-431.
- [2] SELYE H. Stress without distress. New American Library Ed., New York, 1974; 137-146
- [3] MASON J W. A re-evaluation of the concept of “non specificity” in stress story. *J. Psychiatr. Res.* 1971; 8: 323-333.
- [4] LAZARUS R, FOLKMAN S. Stress, appraisal, and coping. Springer Ed, New York, 1984
- [5] FOLKMAN S. Personal control and stress and coping processes: a theoretical analysis. *J. Pers. Soc. Psychol.*, 1984; 46(4): 839-852.
- [6] STERLING P, EYER J. Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology. *Hand book of Life Stress, cognition and health.* Ed. Fisher S, Reason J. Chichester Ed, UK.1988; 629-649.
- [7] McEWEN BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol. Rev.*, 2007; 87(3): 873-904.
- [8] GUENARD H. Physiologie Humaine. Edition Pradel Ed, N3. 2001; 183-187
- [9] WALKER CD, BODNAR M, FORGET MA et al., Stress et plasticité endocrinienne. *Synthèse médecine/sciences* 1997 ; 4 (13) :509-518
- [10] CARA KATZ, B. Sc., MURRAY B. Stein, M.D., FRCPC et Jitender Sareen, M.D., FRCPC. Les troubles anxieux dans le DSM-5 : Nouvelles règles sur le diagnostic et le traitement. *Les troubles de l’humeur et de l’anxiété, conférence scientifiques.* 2013 ; Vol 2 n°3
- [11] RABOT S. Axe intestin-cerveau : comment le microbiote intestinal influence la réponse au stress. *Bull. Acad. Vét. France* 2015 ; 168(3), DOI : 10.4267/2042/57938
- [12] Institut Universitaire en santé mentale Douglas <http://www.douglas.qc.ca/page/test-d-anxiete> consulté le 26/12/2016
- [13] http://psychobiologierouen.free.fr/OLD/S6UE3/Modeles_Animaux_Pathologies_Anxieuses.pdf consulté le 26/12/2016
- [14] Dossier pour la Science, n°95 Avril-Juin 2017 Intestin : l’organe qui révolutionne la médecine P96
- [15] <https://fr.slideshare.net/lguAsmaa/animal-models-of-depression-and-stress> consulté le 26/12/2016

- [16] <https://scac-irib.univ-rouen.fr/fr/tests/4/> consulté le 06/01/2018.
- [17] https://www.google.fr/search?q=sch%C3%A9ma+dispositif+test+defensive+burying&sa=N&biw=1920&bih=1047&tbm=isch&source=iu&ictx=1&fir=QnRBRNhkDOHWtM%253A%252C0bi0WU1FH4g2LM%252C&usg=__aTtqeSAk2tD3eZgT7xhJdbikYw%3D&ved=0ahUKEwj_n63f2YzZAhVL8RQKHajoBx4Q9QEIKjAA#imgrc=QnRBRNhkDOHWtM: consulté le 06/01/2018
- [18] GUENARD H. Physiologie Humaine. Edition Pradel N3. 2001 ; 55-63
- [19] MOHLER H. The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential, *Neuropharmacology*, 2012; 62(1): 42-53.
- [20] BOULENGER JP, LEPINE JP. Les troubles anxieux. Médecine Sciences Publications. Lavoisier Ed, Paris, 2014 ; 69-80
- [21] INRA. Microbiote, la révolution intestinale. Presse Dossier. 16/02/2017
- [22] SENDER R, FUSHS, MILO R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLOS Biology* 2016 ; 14(8) : e1002533
- [23] INSERM, microbiote intestinal et santé, février 2016. <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>
- [24] BARBUT F, JOLY F. Le microbiote intestinal : équilibre et dysbiose. *Hepato-Gastro et Oncologie digestive*. 2010 ; 17(6) : 511-520
- [25] CHERBUY C, THOMAS M, LANGELLA P. Le microbiote intestinal : une composante santé qui évolue avec l'âge. *Innovation agronomique* 33. 2013 ; 37-46.
- [26] ARUMUGAM M, RAES J, PELLETIER E et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473: 174-80
- [27] WU GD, CHEN J, HOFFMANN C et al. Linking long term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011 ; 334, 105^e8
- [28] DORE J. Conférence FondaMental Microbiote et probiotiques dans les maladies psychiatriques Joel Doré, MétaGénoPolis & Micalis, INRA, Jouy-en-Josas, France. YouTube 12 octobre 2016 <https://www.youtube.com/watch?v=KQJz5UV8kn0>
- [29] AAGAARD K, MA J, ANTONY KM et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med* 2014 ; 6(37) :237ra65
- [30] CAMPEOTTO F, WALIGORA-DUPRIET AJ, DOUCET-POPULAIRE F et al. Establishment of the intestinal microflora in neonates. *Gastroenterol Clin Biol*, 2007; 31(5): 533-42

- [31] <http://www.gutmicrobiotaforhealth.com/fr/le-stress-maternel-prenatal-pourrait-influencer-le-microbiote-intestinal-du-nourrisson/> consulté le 28/10/2017
- [32] PHILLIPS ML. Gut reaction : Environmental effects on the human microbiota. *Environ. Health Perspect*, 2009 ; 117(5) : A198-A205.
- [33] LANDMAN C, QUEVRAIN E. Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *La revue de médecine interne*, 2016 ; 37(6) : 418-423
- [34] SUDO N, CHIDA Y, AIBA Y et al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol*, 2004; 558: 263-75.
- [35] CRYAN JF, DINAN TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci.*, 2012; 13(10): 701-12
- [36] CLARKE G, GRENHAM S, SCULLY P et al. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular psychiatry*, 2013 ; 18 : 666-673
- [37] CRUMEYROLLE-ARIAS M, JAGLIN M, BRUNEAU A et al. Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats. *Psychoneuroendocrinology* 2014; 42: 207-217
- [38] NEUFELD, KANG, BIENENSTOCK et al. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 255-e119
- [39] GAREAU MG et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gastroenterology Gut* 2011;60: 307-317.
- [40] BRAVO JA, FORSYTHE P, CHEW MV et al. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108 : 16050-5
- [41] AIT-BELGNAOUI A, DURAND H, CARTIER C et al. Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 2012; 37: 1885-1895
- [42] DIAZ HEIJTZ R, WANG S, ANUAR F et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108 (7): 3047-3052
- [43] NISHINO R, MIKAMI K, TAKAHASHI H et al. Commensal microbiota modulate murine behaviors in a strictly contamination-free environment confirmed by a culture-based methods. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: 521-e371

- [44] BERCIK P, DENOU E, COLLINS J et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice. *Gastroenterology* 2011a; 141: 599-609
- [45] LYTE M, LI W, OPITZ N et al. Induction of anxiety-like behavior in mice during the initial stages of infection with the agent of murine colonic hyperplasia *Citrobacter rodentium*, *Physiol. Behav.* 2006; 89(3): 350-357
- [46] GOEHLER LE, PARK SM, OPITZ N et al. *Campylobacter jejuni* infection increases anxiety-like behavior in the holeboard: possible anatomical substrates for viscerosensory modulation of exploratory behavior, *Brain Behav. Immun.* 2008; 22(3): 354-366
- [47] EMGE JR, HUYNH K, MILLER EN et al. Modulation of the microbiota-gut-brain axis by probiotics in a murine model of inflammatory bowel disease, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2016; 310: 989-998
- [48] BERCIK P, VERDU EF, FOSTER JA et al. Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice, *GAstroenterology* 2010; 139(6): 2102-2112
- [49] BERCIK P, PARK AJ, SINCLAIR D et al. The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroenterol Motil*, 2011b ; 23(12): 1132-1139
- [50] DESBONNET L, CLARKE G, TRAPLIN A et al. Gut microbiota depletion from early adolescence in mice: implications for brain and behaviour. *Brain Behav Immun* 2015; 48 : 165-173
- [51] WANG T, HU X, LIANG S et al. *Lactobacillus fermentum* NS9 restores the antibiotic induced physiological and psychological abnormalities in rats. *Benef Microbes* 2015; 6: 707-717.
- [52] LECLERCQ S, MIAN FM, STANISZ AM et al. Low-dose penicillin in early life induces long-term changes in murine gut microbiota, brain cytokines and behavior. *Nat Commun* 2017; 8 : 15062 doi : 10.1038/ncomms15062
- [53] TOCHITANI S, IKENO T, ITO T et al. Administration of non- absorbable antibiotics to pregnant mice to perturb the maternal gut microbiota is associated with alterations in offspring behavior. Publié en ligne le 20 janv 2016 : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138293>
- [54] SAVIGNAC HM, KIELY B, DINAN TG et al. *Bifidobacteria* exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice. *Neurogastroenterol Motil* 2014; 26:1615-27.

- [55] MESSAOUDI M, LALONDE R, VIOLLE N et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Br J Nutr* 2011 a; 10: 755-64
- [56] MACKOS AR, EUBANK TD, PARRY NM et al. Probiotic *Lactobacillus reuteri* attenuates the stressor-enhanced severity of *Citrobacter rodentium* infection. *Infect Immun* 2013; 81 (9): 3253-3263
- [57] TARR AJ, GALLEY JD, FISHER S et al. The prebiotics 3' Sialyllactose and 6' Sialyllactose diminish stressor-induced anxiety-like behavior and colonic microbiota alterations: evidence for effects on the gut-brain axis. *Brain Behav Immun* 2015; 50: 166-177
- [58] ROLLER R. Dietary prebiotics promote anxiolytic-like behavior in the open field and reduce relative adrenal and spleen weight in Fisher 344 rats. 2016; Undergraduate Honors Theses Paper 1196
- [59] GOLDBERG DP, HILLIER VF. A scaled version of the General Health Questionnaire. *Psychol Med* 1979; 9: 139-45
- [60] DEROGATIS LR, LIPMAN RS, COVI L. The SCL-90: An outpatient psychiatric rating scale. *Psychopharm. Bull* 1973; 9: 13-28
- [61] ZIGMOND AS, SNAITH RP. The Hospital Anxiety and Depression Scale. *Acta Psychiatr Scand* 1983; 67: 361-370
- [62] COHEN S, KAMARCH T, MEMELSTEIN R. A global measure of perceived stress. *Journal of Health and Social Behavior* 1983; 24: 385-396
- [63] PAULHAN I, NUISSIER J, QUINTARD B et al. The measurement of « coping ». French translation and validation of the Vitaliano's scale (Vitaliano et al 1985). *Ann Med Psychol (Paris)* 1994; 152: 292-299
- [64] LOVIBOND PF, LOVIBOND SH. The structure of negative emotional states: comparison of the Depression Anxiety Stress Scales (DASS) with the Beck Depression and Anxiety Inventories. *Behav Res Ther* 1995; 33(3): 335-343
- [65] BECK AT, EPSTEIN N, BROWN G et al. An inventory for measuring clinical anxiety: Psychometric properties. *Journal of Consulting and Clinical Psychology* 1988; 56: 893-897
- [66] SPIELBERGER CD, GORSUCH RL, LUSHENE RE et al. Manual for the State-Trait Anxiety Inventory STAI (Form Y). Palo Alto: Consulting Psychologists Press Inc; 1983; 36p
- [67] HAMILTON M. The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol* 1959; 32: 50-55

- [68] KARASEK RA, BRISSON C, KAWAKAMI N et al. The Job Content Questionnaire (JCQ): an instrument for internationally comparative assessments of psychosocial job characteristics. *J Occup Health Psychol*; 1998; 3(4): 322-355
- [69] MOHAMMADI AA, JAZAYERI S, KHOSRAVI-DARANI K et al. The effects of probiotics on mental health and hypothalamic-pituitary-adrenal axis: A randomized double-blind, placebo-controlled trial in petrochemical workers. *Nutr Neurosci* 2016 Nov; 19 (9): 387-395. Epub 2015 Apr 16
- [70] MESSAOUDI M, VIOLLE N, BISSON JF et al. Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. *Gut Microbes* 2011b; 2(4): 256-261
- [71] RAO AV, BESTED AC, BEAULNE TM et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathog* 2009; 1: 1-6
- [72] TAKADA M, NISHIDA K, KATAOKA- KATO A et al. Probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut-brain interaction in human and animal models. *Neurogastroenterol Motil* 2016; 28: 1027-1036
- [73] YANG H, ZHAO X, TANG S et al. Probiotics reduce psychological stress in patients before laryngeal cancer surgery. *Asia Pac J Clin Oncol* 2016; 12: e92-e96. Epub 2014 Feb 20
- [74] KOUCHAKI E, TANTAJI OR, SALAMI M et al. Clinical and metabolic response to probiotic supplementation in patients with multiple sclerosis : A randomized, double- blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr* 2017; 36(5):1245-1249. Epub 2016 Sep 16
- [75] MARCOS A, WARNBERG J, NOVA E et al. The effect of milk fermented by yogurt cultures plus *Lactobacillus casei* DN-114001 on the immune response of subjects under academic examination stress. *Eur J Nutr* 2004; 43(6): 381-389
- [76] REALE M, BOSCOLO P, BELLANTE V et al. Daily intake of *Lactobacillus casei* Shirota increases natural killer cell activity in smokers. *Br J Nutr* 2012; 108: 308-314
- [77] STEENBERGEN L, SELLARO R, VAN HEMERT S et al. A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. *Brain Behav Immun* 2015; 48: 258-264
- [78] WHORWELL PJ, ALTRINGER L, MOREL J et al. Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1581-1590
- [79] DAPOIGNY M, PICHE T, DUCROTTE P et al. Efficacy and safety profile of LCR35 complete freeze-dried culture in irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind study. *World J Gastroenterol* 2012; 18(17): 2067-2075

[80] SIMRÉN M, ÖHMAN L, OLSSON J et al. Clinical trial: the effects of a fermented milk containing three probiotic bacteria in patients with irritable bowel syndrome-a randomized, double-blind, controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 218-227

[81] VAGHEF- MEHRABANY E, ALIPOUR B, HOMAYOUNI- RAD A et al. Probiotic supplementation improves inflammatory status in patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition* 2014; 30: 430-435

[82] CROCQ MA, GUELFY JD, BOYER P et al. DSM-5 : Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux 5^e édition. American Psychiatric Association. Ed Elsevier- Masson 2015 ; 221-274

[83] GUARNER F, SANDERS ME, ELIAKIN R et al. Probiotiques et prébiotiques. *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines*. Février 2017; 1-13