



HAL
open science

Microbiote intestinal, immunité et transfert de microbiote : vers un espoir thérapeutique ?

Kevin Fabiani

► **To cite this version:**

Kevin Fabiani. Microbiote intestinal, immunité et transfert de microbiote : vers un espoir thérapeutique ?. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02417693

HAL Id: dumas-02417693

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02417693v1>

Submitted on 18 Dec 2019

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.

THÈSE

PRESENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTÉ
DE PHARMACIE DE MARSEILLE

LE 17 DÉCEMBRE 2019

PAR :

M. FABIANI Kevin

NÉ LE 22/05/1992 À BASTIA

EN VUE D'OBTENIR :

LE DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

TITRE :

MICROBIOTE INTESTINAL, IMMUNITÉ ET TRANSFERT DE
MICROBIOTE : VERS UN ESPOIR THÉRAPEUTIQUE ?

JURY :

Président : Mme ESTEVE Marie-Anne

Membres : Mme CERINI Claire

Mlle ZAPATA Claire

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Jean-Pierre REYNIER, M. Henri PORTUGAL
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT
M. Hervé KOVACIC

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE

M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI
Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
M. François DEVRED
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

A.H.U.

THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

PROFESSEURS

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI
M. Thierry AUGIER
M. Edouard LAMY
Mme Alexandrine BERTAUD
Mme Claire CERINI
Mme Edwige TELLIER
M. Stéphane POITEVIN

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Aurélie LEROYER
M. Romaric LACROIX
Mme Sylvie COINTE

MICROBIOLOGIE

Mme Michèle LAGET
M. Michel DE MEO
Mme Anne DAVIN-REGLI
Mme Véronique ROUX
M. Fadi BITTAR
Mme Isabelle PAGNIER
Mme Sophie EDOUARD
M. Seydina Mouhamadou DIENE

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO
M. Aurélien DUMETRE
Mme Magali CASANOVA
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

M. Maxime LOYENS

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Philippe GALLICE

CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE –
CHIMIE THERAPEUTIQUE

M. Pascal RATHELOT
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE
M. Thierry TERME

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

Mme Evelyne OLLIVIER

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

A.H.U.

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

ATER

CHIMIE ANALYTIQUE	M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Fanny MATHIAS

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	Mme Diane BRAGUER M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Bruno LACARELLE
TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT	Mme Frédérique GRIMALDI

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Joseph CICCOLINI Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD
PHARMACOCINETIQUE	Mme Nadège NEANT

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 22 février 2018

« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »

Remerciements

Je remercie en premier lieu ma Directrice de thèse, Mme Cerini, pour avoir accepté de diriger ce projet. Ses enseignements dispensés en 6^{ème} année ont été en grande partie à l'origine du choix de mon sujet. Son implication dans mon travail et ses remarques attentionnées ont été particulièrement stimulantes au cours de la rédaction de ma thèse.

Je remercie également Mme Estève d'avoir accepté de faire partie du jury en tant que Président, mais aussi pour sa réactivité et sa sympathie.

Quant à toi, Claire, chère cousine, merci de t'être dévouée avec empressement à cette mission que je te confiais.

Ma gratitude va également à mes chers parents qui, malgré la distance, n'ont jamais cessé d'être à mes côtés pour me soutenir et s'enquérir de mon bien-être. Merci aux autres membres de ma famille : ma grand-mère, mes oncles et tantes et mes cousins qui sont pour moi autant de piliers et sans lesquels ce travail n'aurait pu voir le jour.

Enfin, je souhaite témoigner ici ma reconnaissance envers mes amis, qu'ils résident à Marseille, à Bastia ou ailleurs. Le temps passé ensemble est toujours source de bonheur et m'encourage à aller de l'avant.

Table des matières

Liste des abréviations	17
Liste des figures	20
Liste des tableaux	24
Introduction	25
I. Le microbiote intestinal : généralités, caractérisation, mise en place	26
I.1 Définition du microbiote	26
I.2 Le microbiote intestinal de l'Homme	27
I.3 Caractérisation du microbiote intestinal	27
I.3.1 Les difficultés d'étude du microbiote	27
I.3.2 La métagénomique au service de l'étude du microbiote	28
I.3.2.1 L'outil de base de l'étude génétique : l'ARN ribosomal	28
I.3.3 Notion de phylogénétique bactérienne	30
I.3.4 Identification d'espèces par séquençage à haut-débit	31
I.3.4.1 Séquençage à haut débit : global ou ciblé ?	31
I.3.4.2 Assignement taxonomique des séquences	32
I.3.4.3 Le comptage d'espèces d'un échantillon	33
I.4 Les programmes d'exploration métagénomique	34
I.4.1 Programme MetaHIT	34
I.4.2 Utilisations potentielles du catalogue de gènes	36
I.4.2.1 L'étude des potentialités du génome bactérien	36
I.4.2.2 L'utilisation du microbiote intestinal en tant qu'outil diagnostique	36
I.4.2.3 L'établissement d'une « carte génétique » individuelle du microbiote	37
I.4.2.4 Des résultats incomplets mais prometteurs	38
I.5 Composition et répartition du microbiote intestinal	38
I.5.1 Principaux Phyla chez l'Homme	38
I.5.2 Principaux genres bactériens chez l'Homme	40
I.5.3 Les entérotypes bactériens	41
I.5.3.1 Définition de l'entérotype et généralités	41
I.5.3.2 Les trois entérotypes principaux de l'Homme	41
I.5.3.3 Le mode de vie influence l'entérotype	42
I.6 Répartition du MIH dans le tube digestif	43
I.6.1 Un équilibre qui doit se maintenir	46
I.7 Comment le microbiote intestinal de l'Homme se met-il en place ?	47
I.7.1 La colonisation du tube digestif commence dès la naissance	47
I.7.1.1 L'implantation bactérienne des premiers jours de vie	47
I.7.2 Implantation bactérienne durant les premiers mois de vie (0 – 6 mois)	48
I.7.2.1 Le lait influence la diversification bactérienne	50
I.7.2.1.1 Le rôle des oligosaccharides du lait maternel	50

I.7.2.1.2	Les anticorps du lait maternel contrôlent la colonisation	51
I.7.2.1.3	L'allaitement apporte des bactéries au nourrisson	51
I.7.3	L'implantation bactérienne de 6 mois à 2 ans	51
I.7.3.1	De l'alimentation lactée à l'alimentation solide	52
I.7.4	Le microbiote « adulte »	53
II.	Les grandes fonctions du microbiote et son influence sur le système immunitaire	54
II.1	Quelques fonctions non immunitaires du microbiote intestinal	54
II.1.1	Métabolisme de macromolécules et régulation énergétique	54
II.1.1.1	Le métabolisme des glucides	54
II.1.1.1.1	Les fibres végétales	54
II.1.1.1.1.1	Le devenir des fibres dans l'intestin : hydrolyse et fermentation	56
II.1.1.1.1.2	Le devenir des gaz issus de la fermentation glucidique	58
II.1.1.1.2	Le métabolisme des protéines	58
II.1.1.3	Le métabolisme des lipides	59
II.1.2	Les métabolites bactériens : exemple des AGCC	60
II.1.2.1	Les AGCC influencent le métabolisme glucidique de l'hôte	60
II.1.2.2	Les AGCC influencent le métabolisme lipidique de l'hôte	61
II.1.3	Synthèse de vitamines par le microbiote	62
II.2	L'immunité intestinale et ses relations avec le microbiote	63
II.2.1	L'immunité innée de la muqueuse intestinale	63
II.2.1.1	Les modules constitutifs de l'immunité innée	64
II.2.1.1.1	La paroi intestinale	64
II.2.1.1.2	La barrière épithéliale intestinale	64
II.2.1.1.2.1	Structure et composition de l'épithélium	64
II.2.1.1.2.2	Fonction de protection de l'épithélium	66
II.2.1.1.3	La lamina propria	66
II.2.1.1.4	Les bactéries intestinales « associées » à la muqueuse	66
II.2.1.1.4.1	Participation des bactéries à l'effet barrière	67
II.2.1.2	Les modules induits de l'immunité innée	67
II.2.1.2.1	L'immunité innée médiée par des récepteurs	67
II.2.1.2.1.1	Les motifs associés aux pathogènes (PAMP)	67
II.2.1.2.1.1.1	Les PRRs	68
II.2.1.2.1.1.2	La signalisation PAMP-PRR	68
II.2.1.2.2	L'immunité innée par présentation d'antigènes	69
II.2.1.2.2.1	Les Cellules Présentatrices d'Antigènes	69
II.2.1.2.2.2	La présentation de l'antigène aux cellules immunitaires	70
II.2.2	L'immunité adaptative du Tube Digestif	72
II.2.2.1	Les constituants de l'immunité adaptative	72
II.2.2.1.1	Le GALT	72
II.2.2.1.1.1	Les sites inducteurs du GALT	72
II.2.2.1.1.2	Les sites effecteurs du GALT	73
II.2.2.1.1.2.1	Les lymphocytes	73
II.2.2.2	Mode d'action de l'immunité adaptative	75
II.2.2.2.1	Mise en route au niveau du GALT	75
II.2.2.2.1.1	Capture des antigènes de la lumière intestinale	75
II.2.2.2.1.1.1	Contact des molécules de CMH II avec les cellules inductrices	76
II.2.2.2.1.2	Réponse adaptative B	76

II.2.2.2.1.2.1	Expansion et différenciation	76
II.2.2.2.1.2.2	Formation de lymphocytes B mémoire	77
II.2.2.2.1.3	Réponse adaptative T	77
II.2.2.2.1.3.1	La différenciation des lymphocytes TCD4	77
II.2.2.2.1.3.2	La différenciation des lymphocytes TCD8	79
II.3	Le microbiote contribue au bon fonctionnement du système immunitaire	79
II.3.1	Compétition entre microbiote et organismes exogènes	79
II.3.2	Le microbiote stimule la production de facteurs anti-microbiens	80
II.3.3	Aide à la production de mucus	81
II.3.3.1	Ségrégation des micro-organismes pathogènes	82
II.3.4	Actions du microbiote sur l'immunité mucoale	83
II.3.4.1	Effet trophique sur l'épithélium et la muqueuse	83
II.3.4.2	Contribution à la maturation du système immunitaire intestinal	85
II.3.4.2.1	Le GALT des souris axéniques est moins développé	85
II.3.5	Les composés issus du métabolisme bactérien influencent l'immunité	86
II.3.5.1	Rôle des acides gras à courte chaîne (AGCC)	86
II.3.5.1.1	Les AGCC agissent sur l'environnement tissulaire local	86
II.3.5.1.2	Les AGCC orientent la réponse immunitaire vers un profil tolérogène	87
II.3.5.1.2.1	Les AGCC Inhibent les HFACs (Histone Désacétylases)	87
II.3.5.1.2.2	Les AGCC modulent l'environnement cytokinique local	88
II.3.5.2	Rôle d'autres métabolites d'origine bactérienne	90
II.3.5.2.1	Les ligands de l'Ahr	90
II.3.5.2.2	Les polyamines	91
II.4	Le microbiote permet la tolérance « au soi » et la reconnaissance du « non soi »	93
II.4.1	Les IgA : généralités	93
II.4.1.1	Structure et fonction des IgA	94
II.4.1.2	Lieux de sécrétion des IgA	95
II.4.1.3	Mode d'action des IgA au niveau intestinal	96
II.4.1.3.1	Les IgA séquestrent puis éliminent les antigènes du Tube Digestif	96
II.4.1.3.2	L' IgA soutient la relation entre le microbiote et son hôte	98
II.4.1.3.3	Le maintien d'une flore commensale bénéfique	99
II.4.1.3.4	Un « dialogue » entre la flore commensale et immunité	99
II.4.2	Le microbiote maintient une réponse immune efficace mais contrôlée	100
II.4.2.1	Le seuil d'activation de l'immunité contre le microbiote est élevé	100
II.4.2.2	Le microbiote influence les populations de lymphocytes T	101
II.4.2.2.1	Les Bactéries Filamenteuses Segmentées	101
II.4.2.3	Les réponses anti-flagelline chez la souris	102
III.	Déséquilibre du microbiote et terrain pathologique	104
III.1	Notion de dysbiose	104
III.1.1	Les causes possibles d'une dysbiose	104
III.1.1.1	La dysbiose aiguë ou « rupture de l'eubiose »	104
III.1.1.1.1	L'infection gastro-intestinale aiguë	105
III.1.1.1.2	Rupture de l'eubiose par traitement médicamenteux	106
III.1.1.1.2.1	Les antibiotiques	106
III.1.1.2	La dysbiose induite par l'hygiène de vie	107
III.1.1.2.1	Un régime alimentaire néfaste est délétère	108

III.1.1.2.2	Alcoolisme et microbiote intestinal	109
III.2	Dysbiose et désordres inflammatoires intestinaux	110
III.2.1	Dysbiose et MICI	110
III.2.1.1	La Maladie de Crohn	110
III.2.1.1.1	Physiopathologie de la Maladie de Crohn	110
III.2.1.1.1.1	La classification de Montréal	111
III.2.1.1.2	Symptomatologie de la Maladie de Crohn	113
III.2.1.1.3	Etiologies probables de la Maladie de Crohn	114
III.2.1.1.3.1	Le terrain génétique est à l'origine d'une susceptibilité	114
III.2.1.1.3.2	Le rôle de l'environnement dans l'étiologie de la maladie	115
III.2.1.1.3.2.1	La fréquence est dépendante de la géographie	115
III.2.1.1.3.2.2	Incrimination du mode de vie « à l'occidentale »	117
III.2.1.1.3.2.2.1	Le tabagisme	118
III.2.1.1.3.2.3	Un facteur déclenchant de la maladie	119
III.2.1.1.4	Maladie de Crohn, immunité et dysbiose	119
III.2.1.1.4.1	Dérégulation de l'immunité innée	119
III.2.1.1.4.2	Auto-immunité dirigée contre le microbiote	120
III.2.1.1.4.2.1	Le microbiote déséquilibré entretient l'inflammation	121
III.2.1.2	La Rectocolite Hémorragique	123
III.2.1.2.1	Physiopathologie et symptomatologie	123
III.2.1.2.2	Etiologies possibles	124
III.2.1.2.2.1	Incidence et prévalence dans le monde	125
III.2.1.2.2.2	Susceptibilité génétique	125
III.2.1.2.2.3	Facteurs environnementaux	126
III.2.1.2.2.4	Incrimination du microbiote intestinal ?	126
III.3	Des perturbations précoces du microbiote à l'origine de déficits immunitaires ?	128
III.3.1	L'enfance, période sensible pour l'établissement du microbiote	128
III.3.1.1	Conditions périnatales et post-natales	129
III.3.1.1.1	Une transmission de microbiote pendant la grossesse ?	129
III.3.1.1.2	Influence du terme de naissance	130
III.3.1.1.3	Le mode d'accouchement	131
III.3.1.1.4	L'alimentation lactée et l'allaitement maternel	132
III.3.1.1.4.1	Des composés utiles pour le nourrisson et son microbiote	133
III.3.1.1.4.1.1	Les oligosaccharides du lait maternel	133
III.3.1.1.4.1.1.1	Les oligosaccharides sont protecteurs pour le nourrisson	135
III.3.1.1.4.1.2	Les IgA	136
III.3.1.1.4.1.3	Le microbiote lacté	137
III.3.1.1.4.1.4	La lactoferrine du lait maternel	139
III.3.1.1.4.2	Le lait industriel est-il moins bénéfique pour le nourrisson ?	140
III.3.1.1.4.3	Comment moduler les formules lactées infantiles ?	141
III.3.1.1.5	L'utilisation d'antibiotiques à un stade précoce de la vie	143
III.3.1.1.5.1	Traitement antibiotique durant la grossesse	143
III.3.1.1.5.2	Traitement antibiotique périnatal et durant la petite enfance	144
III.3.2	La théorie « hygiéniste »	145
III.3.3	Dysbiose et immunité systémique	146
III.3.3.1	Maladies d'origine allergique	147
III.3.3.1.1	Cas de l'eczéma	147
III.3.3.1.2	Cas de l'asthme allergique	148

III.4	Microbiote et obésité ?	149
III.4.1	Définition de l'obésité	149
III.4.2	Etiologie, et risques pour la santé	150
III.4.3	L'implication du microbiote intestinal dans l'obésité	151
III.4.3.1	Microbiote et dérégulation métabolique	151
III.4.3.2	AGCC bactériens et obésité	152
III.4.3.3	Microbiote et régulation de la lipoprotéine lipase	153
III.4.3.3.1	Le microbiote inhibe ANGPTL4	153
III.4.3.4	Le microbiote diminue l'activité de L'AMPK	154
IV.	Modulation de la flore et transfert de microbiote : quels espoirs pour la thérapeutique ?	157
IV.1	L'apport de bactéries intestinales	157
IV.1.1	Probiotiques, prébiotiques : définitions	157
IV.1.2	Propriétés d'un médicament probiotique	158
IV.1.2.1	Réglementation et allégations	158
IV.1.2.2	Propriétés d'un médicament probiotique	159
IV.1.2.3	Souches, espèces et genres utilisés	159
IV.1.2.4	Mode d'action et efficacité supposée	160
IV.1.3	Utilisation des probiotiques à l'officine	160
IV.1.3.1	Traitement de la diarrhée : l'utilisation des probiotiques à l'officine	160
IV.1.3.1.1	Traitement de la diarrhée aiguë	160
IV.1.3.1.2	Traitement de la diarrhée liée aux antibiotiques	161
IV.1.3.2	Exemples de probiotiques et prébiotiques à l'officine	161
IV.1.4	Les probiotiques dans le cadre des MICI	163
IV.1.4.1	Utilisation des probiotiques dans la rectocolite hémorragique	163
IV.1.4.2	Utilisation des probiotiques dans la Maladie de Crohn	163
IV.1.5	Utilisation des probiotiques dans les maladies allergiques	164
IV.1.6	D'autres utilisations ?	164
IV.1.7	Limites de l'utilisation de probiotiques	165
IV.2	Le Transfert de Microbiote Fécal	166
IV.2.1	Définition et intérêts supposés.	166
IV.2.2	Cadre légal en France et dans le monde	167
IV.2.3	Indication dans l'infection récurrente à Clostridium difficile	168
IV.3	La colite pseudomembraneuse à Clostridium difficile.	168
IV.3.1	L'agent infectieux : Clostridium difficile	168
IV.3.2	Epidémiologie et modes de contamination	169
IV.3.3	Physiopathologie et symptomatologie	170
IV.3.4	Diagnostic	172
IV.4	La nécessité d'une transplantation fécale	173
IV.4.1	L'antibiothérapie comme traitement classique	173
IV.4.2	L'établissement d'une susceptibilité chez le sujet infecté	174
IV.4.3	Limites et risques de l'approche thérapeutique actuelle	176
IV.5	La Transplantation Fécale en pratique	177
IV.5.1	Choix du donneur	177
IV.5.1.1	Faut-il préférer un donneur unique ?	178

IV.5.1.2	Sélection du donneur	178
IV.5.1.3	Etapes de la sélection du donneur	178
IV.5.1.4	Recherche d'agents infectieux	181
IV.5.2	Déroulement du TMF	182
IV.5.2.1	Locaux de fabrication	182
IV.5.2.2	Préparation du transplant	183
IV.5.2.3	Administration du transplant	183
IV.5.2.3.1	Conditionnement de l'échantillon	183
IV.5.2.3.2	Préparation du receveur	184
IV.5.2.3.3	L'administration	184
IV.5.2.3.4	Surveillance des effets indésirables	185
IV.6	Résultats expérimentaux	185
IV.6.1	Résultats sur la colite à Clostridium difficile	185
IV.6.2	Résultats sur d'autres pathologies	187
IV.6.2.1	Pathologies intestinales	187
IV.6.2.1.1	Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales	187
IV.6.2.1.2	Troubles Fonctionnels intestinaux	188
IV.6.2.2	Pathologies extra-intestinales avec terrain dysbiotique	189
IV.6.2.2.1	Syndrome métabolique	189
IV.6.2.2.2	Maladies neurologiques	190
IV.7	Limitations de la pratique	191
IV.7.1	Absence de standardisation des méthodes.	191
IV.7.1.1	Un profil idéal de donneur ?	191
IV.7.1.2	L'efficacité du TMF est influencée par la méthode de préparation	192
IV.7.2	Innocuité, oui, mais sur le long terme ?	193
Conclusion de la partie IV		194
Ouverture : vers d'autres microbiotes ?		195
1.	Le microbiote cutané	195
1.1	Généralités sur la peau	195
1.2	Les micro-organismes de la peau et leur rôle	196
1.3	Pathologies liées à la dysbiose cutanée	198
2.	Le microbiote des voies respiratoires	199
2.1	Généralités sur les voies respiratoires	199
2.2	Rôle des microorganismes des voies respiratoires	200
2.3	La dysbiose des voies respiratoires	201
Conclusion générale		203
Liste des références		204
Liste des sites internet		226
Serment de Galien		229

Liste des Abréviations

AG : Acide(s) Gras

AGCC : Acide(s) Gras à Chaîne Courte

AhR : Aryl Hydrocarbon Receptor

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens

AMPK : Protéine Kinase AMP-dépendante

ANGPTL4 : Angiopoietin-like Protein 4

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

ARNr : Acide Ribonucléique Ribosomal

ASCA : Anti-*Saccharomyces Cerevisiae* Antibodies (Fr : anticorps anti-*Saccharomyces Cerevisiae*)

ATB : Antibiotiques

BF : Bactériothérapie Fécale

BPCO : Bronchopneumopathie Chronique Obstructive

C.difficile : *Clostridium difficile*

cCD : Colite à *Clostridium difficile*

CD : Cellule(s) Dendritique(s)

CD4, CD8 : Cluster(s) de différenciation (4, 8)

CI : Côlon Irritable

CMH (I, II) : Complexe Majeur d'Histocompatibilité (de classe I, II)

CPA : Cellule(s) Présentatrice(s) d'Antigènes

CPM : Colite Pseudomembraneuse

E.coli : *Escherichia coli*

FAE : Follicle Associated Epithelium (Fr : Epithélium Associé aux Follicules)

Fiaf : Fasting-Induced Adipocyte Factor

FOS : Fructo-Oligosaccharides

GALT : Gut Associated Lymphoid Tissue (Fr : Tissu Lymphoïde Associé au Tube Digestif)

GLP-1 : Glucagon-Like Peptide 1

GOS : Galacto-Oligosaccharides
HDAC : Histone(s) Désacétylase(s)
IBD : Inflammatory Bowel Diseases
IFN γ : Interféron Gamma
Ig (G, A, E, D, M) : Immunoglobulines (G, A, E, D, M)
IGA : Infection Gastro-Intestinale Aiguë
IL : Interleukine
ILC : Innate Lymphoid Cell(s) (Fr : Cellule(s) Lymphoïde(s) Innée(s))
IMC : Indice de Masse Corporelle
IPP : Inhibiteurs de la Pompe à Protons
LB : Lymphocytes B
LPL : Lipoprotéine Lipase
LT (h₁, h₂, h₁₇, reg) : Lymphocytes T (h₁, h₂, h₁₇, reg)
LTc : Lymphocytes T cytotoxiques
LTh : Lymphocytes T helper
MA : Maladies Allergiques
MALT : Mucosa-Associated Lymphoid tissue (Fr : Tissu Lymphoïde Associé aux Muqueuses)
MC : Maladie de Crohn
Mc : Microbiote Colique
MF : Microbiote Fécal
MI : Microbiote Intestinal
MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin
MIH : Microbiote Intestinal Humain
MLN : Mesenteric Lymph Nodes (Fr : Ganglions Mésentériques).
MO : Micro-Organisme(s)
MP : Maladie de Parkinson
NF- κ B : Nuclear Factor- κ B
NIH : National Institute of Health
OLM : Oligosaccharides du Lait Maternel

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OTU : Operational Taxonomic Unit

PAI : Prophylaxie Antibiotique Intra-partum

PAM : Peptide(s) Antimicrobien(s)

PAMP : Pathogen Associated Molecular Patterns (Fr : Motifs Moléculaires Associés aux Pathogènes)

PCR : Polymerase Chain Reaction

PP : Plaques de Peyer

PRR : Pattern Recognition Receptors

PSA : Polysaccharide A.

PUI : Pharmacie à Usage Intérieur

RCH : Rectocolite Hémorragique

SI : Système Immunitaire

SNC : Système Nerveux Central

SND : Sonde Naso-Duodénale

SNG : Sonde Naso-Gastrique

TA : Tissu Adipeux

TCR : T Cell Receptor

TD : Tube Digestif

TF : Transplantation Fécale

TFI : Troubles Fonctionnels Intestinaux

TGF β : Tissue Growth Factor β

TLR : Toll-Like Receptors

TMF : Transfert de Microbiote Fécal

TNF α : Tumour Necrosis Factor α

Liste des figures

- Figure 1 : Les sous-unités du ribosome procaryote et leur teneur en ARNr, <https://askfrance.me>.
- Figure 2 : Structure de la molécule d'ARN ribosomal 16S et ADN codant pour l'ARN (Grosdemange, 2014)
- Figure 3 : Hiérarchie des taxons en phylogénétique bactérienne appliquée à la bactérie *Staphylococcus aureus*, <http://.microbes-edu.org>.
- Figure 4 : Extraction, fragmentation et séquençage des ADN d'un échantillon dans l'analyse métagénomique globale, <http://dridk.me/metagenomique.html>.
- Figure 5 : Sélection de l'ADN à séquencer dans le cadre de la métagénomique ciblée, <http://dridk.me/metagenomique.html>.
- Figure 6 : Assignation d'une séquence à un taxon de la base de données dans l'approche close-reference, <http://dridk.me/metagenomique.html>.
- Figure 7 : Regroupement des séquences similaires en clusters dans l'approche *de novo*, <http://dridk.me/metagenomique.html>
- Figure 8 : Comparaison de la teneur en ARN 16S de plusieurs échantillons par table des OTU, <http://dridk.me/metagenomique.html>
- Figure 9 : Principe de la métagénomique quantitative en tant qu'outil diagnostique ou pronostique. (Blottière H.M., Doré J., Impact des nouveaux outils de métagénomique sur notre connaissance du microbiote intestinal et de son rôle en santé humaine, 2016).
- Figure 10 : Représentation schématique des différents phyla bactériens chez l'Homme et de leur abondance relative au niveau du côlon (Cherbuy C, 2013).
- Figure 11 : Les trois principaux entérotypes de l'Homme diffèrent par leurs populations bactériennes, (Bourlioux, 2013)
- Figure 12 : Répartition schématique de la densité de colonisation bactérienne le long du Tube Digestif, (Bourlioux, 2013)
- Figure 13 : Populations bactériennes dominantes de la flore fécale cultivable (*Biard Noémie, 2016*)
- Figure 14 : Variation qualitative et quantitative des populations bactériennes dans le Tube Digestif de l'Homme (Coudeyras et Forestier, 2010)
- Figure 15 : Microbiote fécal de nourrissons européens âgés de 6 semaines (Fallani, 2010)
- Figure 16 : Mise en place de la colonisation bactérienne de l'intestin de la naissance à l'âge de deux ans (Le Bourgot, 2016)
- Figure 17 : Représentation spatiale d'une fibre de cellulose. (<http://chimphys.smauernco.free.fr>)
- Figure 18 : Organisation des fibres de cellulose dans la paroi d'une cellule végétale. (<http://chimphys.smauernco.free.fr>)
- Figure 19 : Utilisation des fibres alimentaires par la chaîne trophique bactérienne intestinale (Doré, 2017)

Figure 20 : Production de métabolites par la chaîne trophique de dégradation des polysides alimentaires (Mosoni, 2014).

Figure 21 : Effet des AGCC circulants sur la sécrétion pancréatique d'insuline (Le Bourgot, 2016)

Figure 22 : Coupe transversale de l'intestin grêle montrant les étages de la muqueuse et de la musculature (<https://slideplayer.com>)

Figure 23 : Principales populations cellulaires de l'épithélium dans les villosités et cryptes (<https://www.snfge.org>)

Figure 24 : Rôle de présentation d'antigène par les cellules M (<https://www.3trois3.com>)

Figure 25 : Reconnaissance par un lymphocyte T d'un antigène présenté par une molécule de CMH de type II (<http://www.virologie.free.fr>).

Figure 26 : Sites inducteurs et effecteurs du GALT et populations cellulaires associées (Le Bourgot, 2016).

Figure 27 : Mécanismes de capture de l'antigène par les cellules dendritiques intestinales (Cerf-Bensussan, 2010)

Figure 28 : Mécanismes de la mise en route de l'immunité adaptative au niveau du GALT (Richaud-Patin, 2005)

Figure 29 : Les lymphocytes T CD4, le milieu nécessaire à leur différenciation et leur profil de sécrétion spécifique (Le Bourgot, 2016).

Figure 30 : Différentes voies de régulation de l'expression de peptides antimicrobiens (Hooper et Macpherson, 2010).

Figure 31 : Mécanismes immunitaires limitant le contact de bactéries avec la muqueuse intestinale (Hooper et Macpherson, 2010).

Figure 32 : Comparaison de la muqueuse intestinale d'une souris colonisée et d'une souris axénique (Sommer et Bäckhed, 2013).

Figure 33 : Colonisation bactérienne et maturation du système immunitaire au niveau des cryptes intestinales (Sommer et Bäckhed, 2013).

Figure 34 : Régulation de l'immunité et de l'inflammation par les AGCC (Kim, 2014)

Figure 35 : Régulation des populations de cellules T par les AGCC (Kim, 2014)

Figure 36 : Synthèse des multiples rôles du microbiote sur le milieu intestinal et l'organisme de l'hôte

Figure 37 : Structure schématique d'un dimère d'IgA sécrétoire (<https://microbenotes.com>)

Figure 38 : Étapes de la sécrétion des IgA de la lamina propria vers la lumière intestinale (Fadlallah, 2016).

Figure 39 : Différentes voies d'élimination d'un pathogène par les IgA au niveau de la muqueuse intestinale (<http://aipu2010rabat.refer.org>)

Figure 40 : Action de deux types de bactéries « clef de voûte » sur l'immunité intestinale (Sommer et Bäckhed, 2013)

Figure 41 : Les causes de la dysbiose intestinale sont multiples (<http://vanaroms47.canalblog.com>)

Figure 42 : Classification de Montréal de la MC (Baumgart et Sandborn, 2012).

Figure 43 : Prévalence des MICI dans le monde et gradient Nord-Sud de prévalence (<http://hepatoweb.com>).

Figure 44 : Risque relatif de développer une MC en France selon la localisation (<http://hepatoweb.com>).

Figure 45 : Structure moléculaire topologique du stachylose, un oligosaccharide (<https://wikipedia.org>)

Figure 46 : Inhibition de l'adhésion de pathogènes aux cellules épithéliales par les oligosaccharides et glucides conjugués du lait maternel (Lis-Kuberka, 2019).

Figure 47 : Transport de bactéries de l'intestin au sein par l'axe entéro-mammaire (Fernandez, 2013).

Figure 48 : Différents facteurs impactent la mise en place du MI de l'enfant durant sa croissance (Milani, 2017)

Figure 49 : Calcul de l'IMC et classement en fonction du résultat (<http://dietetique.1ere-page.net/>).

Figure 50 : Relations entre la colonisation microbienne de l'intestin et la survenue d'une adiposité (Cani et Delzenne, 2011)

Figure 51 : Les pathologies liées à un microbiote altéré ont plusieurs origines (Sommer et Bäckhed, 2013)

Figure 52 : Nomenclature utilisée pour les micro-organismes (<http://worldgastroenterology.org>)

Figure 53 : Lésions de pseudocolite membraneuse observables à la coloscopie (Detail, 2018)

Figure 54 : Différents grades de sévérité de l'infection à C.difficile (Gié, 2014)

Figure 55 : Exemple de recommandation de prise en charge de la colite à C.difficile de l'adulte en cas d'infection initiale ou de 1^{ère} récurrence (image gauche) ou à partir de la 2^{ème} récurrence (image droite) (Castrillon Ohanessian, 2013).

Figure 56 : Mécanismes d'établissement d'une susceptibilité à l'infection à C. difficile (Rao, 2016)

Figure 57 : Chronologie de la Transplantation de Microbiote Fécal (TMF) pour le donneur (<https://www.gftf.fr/>)

Figure 58 : Informations à recueillir auprès du candidat au don et critères de non-inclusion (ANSM, 2016)

Figure 59 : 2^{ème} questionnaire : informations à recueillir immédiatement avant le don (ANSM, 2016)

Figure 60 : Agents infectieux à rechercher systématiquement dans le sang ou dans les selles du candidat au don (ANSM, 2016).

Figure 61 : Méthode de préparation du transplant : à gauche, dilution des selles fraîches avec du sérum physiologique ; à droite : filtration des selles diluées sur tamis (Detail, 2018)

Figure 62 : Conditionnement du mélange dans une seringue avant administration (Detail, 2018)

Figure 63 (à gauche) : Coupe histologique de la peau montrant l'épiderme, le derme, l'hypoderme ainsi que l'unité pilo-sébacée (Goetz, 2017)

Figure 64 (à droite) : Les sous-couches de l'épiderme (wikipedia.org)

Figure 65 : Induction de la réponse immunitaire cutanée par S. epidermidis (Goetz, 2017)

Figure 66 : Spécificité de la colonisation bactérienne cutanée en fonction des caractéristiques de la peau (Goetz, 2017)

Figure 67 : Voies respiratoires supérieures et inférieures de l'Homme (<https://blogglophys.wordpress.com>)

Figure 68 : Bronchioles terminales et alvéoles pulmonaires (<https://svt-ccc.pagesperso-orange.fr>)

Figure 69 : Diversité des microbiotes abrités par l'Homme et des populations bactériennes qui les composent (Sansonetti, 2017).

Liste des tableaux

Tableau 1 : Vitamines synthétisées par le microbiote et leur rôle sur l'organisme (Frayssinhes, 2017)

Tableau 2 : quelques familles d'antibiotiques couramment utilisées en thérapeutique et leurs caractéristiques (<http://antibiotiques-tpe-by-eca.e-monsite.com>)

Tableau 3 : Répartition des patients en fonction de l'âge selon la classification de Montréal.

Tableau 4 : Répartition des patients en fonction des symptômes selon la classification de Montréal.

Tableau 5 : Principales utilisations des probiotiques en officine.

Introduction

La conscience de l'existence d'organismes vivants invisibles à l'œil nu est assez récente dans l'histoire de la médecine. Les premières observations de bactéries remontent au XVII^{ème} siècle lorsque le Néerlandais Antoine Von Leeuwenhoek perfectionne la microscopie optique. En 1878, Louis Pasteur évoque la « théorie des germes » selon laquelle les êtres vivants microscopiques sont déclarés responsables de maladies.

Longtemps considérés comme strictement pathogènes, les microbes sont d'abord décrits comme des agents contre lesquels il est nécessaire de lutter (première vaccination humaine en 1885 et généralisation de la vaccination par la suite), et tous les moyens sont mis en œuvre pour les éliminer. En 1928, un chercheur du nom de Fleming découvre fortuitement que des moisissures s'étant développées sur des boîtes de pétri destinées à faire pousser des bactéries, les staphylocoques, ont en même temps inhibé la croissance de ces dernières. Fort de cette observation, il extrait la première molécule aux propriétés antibiotiques, la pénicilline, à partir du champignon microscopique du genre *Penicillium*. L'utilisation de la pénicilline G sur la population à partir de 1941 marque l'apparition des antibiotiques dans notre arsenal thérapeutique.

Ce n'est que bien plus tard, avec l'avènement de la phylogénétique, que l'on comprendra que les microbes furent les premiers êtres vivants à coloniser la Terre et que notre évolution s'est faite au prix d'une cohabitation très longue et très étroite avec eux. On sait aujourd'hui que l'Homme, et de manière très générale les Eucaryotes, sont colonisés par des micro-organismes résidant à l'interface entre leurs tissus et le milieu extérieur. De ces informations nouvelles émergera l'idée d'une « flore » microbienne qu'il ne serait plus opportun d'éliminer tout à fait ; certains se mettent à évoquer son rôle protecteur sur l'organisme et parlent même d'une relation symbiotique.

Depuis, le microbiote a fait l'objet de vastes recherches et les observations n'ont cessé de plaider en faveur d'une relation symbiotique entre les micro-organismes colonisateurs et l'organisme hôte. De plus en plus d'études attribuent au microbiote des rôles bénéfiques, qu'il s'agisse du maintien de fonctions physiologiques ou de la protection contre des pathologies. Dans le cadre de mes recherches, je me suis intéressé uniquement, dans un souci de synthèse, au « microbiote intestinal » du tube digestif de l'Homme et des Mammifères. Au cours de ce travail, je tenterai de décrire à la lumière des connaissances actuelles les grandes lignes de la relation « Procaryote – Eucaryote » en évoquant le mutualisme et le commensalisme. En m'appuyant sur le fonctionnement du système immunitaire, j'expliquerai dans quelle mesure la présence d'un microbiote intestinal sain peut contribuer non seulement à la mise en place mais aussi à l'entretien d'une immunité efficace et parfaitement régulée. J'aborderai ensuite quelques situations au cours desquelles un microbiote déséquilibré peut se « retourner » contre l'organisme hôte et être à l'origine de nombreuses situations pathologiques. Enfin, je parlerai de la possibilité de soigner en « corrigeant » un microbiote pathologique, et des espoirs fondés sur ce principe nouveau qui semble dévoiler des possibilités thérapeutiques extrêmement prometteuses, bien que notre expérience dans le domaine soit limitée.

Les modèles animaux, particulièrement murins, occuperont une place importante de mes observations et démonstrations dans la mesure où de nombreuses expérimentations n'ont pu être réalisées chez l'Homme.

Enfin, je ne manquerai pas d'évoquer l'importance de l'hygiène de vie dans le maintien d'un microbiote équilibré et bénéfique. En tant que pharmacien d'officine, je rappellerai le rôle de l'officinal auprès du patient et notre contribution, par nos conseils et notre implication dans la relation patient-professionnel, à l'hygiène de vie du patient et à son bien-être.

I. Le microbiote intestinal : généralités, caractérisation, mise en place

I.1 Définition du microbiote

Le terme microbiote provient du grec ancien *μικρός* (mikros, « petit ») et *βίωτος*, (bíotos, « vie »)

Ce mot désigne l'ensemble des Micro-Organismes (MO) (Bactéries, Archées, Champignons, Protozoaires mais aussi Virus) hébergés par un hôte qui peut être un organisme vivant (animal, végétal) ou non vivant (air, eau, sol, matière organique ou inorganique). L'environnement dans lequel vit le microbiote représente un écosystème spécifique que l'on nomme microbiome.

Tous les organismes vivent en interaction étroite et permanente avec les microbes de l'environnement et peuvent être considérés comme des supra-organismes constitués d'une part de leurs propres cellules et de l'autre, des MO qui colonisent toutes leurs surfaces et cavités en contact avec le compartiment extérieur (Doré J, 2017). Ainsi, on ne parle pas d'un mais de plusieurs microbiotes, car les différentes surfaces colonisées sont autant de microbiomes aux caractéristiques propres qui hébergent chacune une population microbienne particulière.

Le microbiote trouve dans son microbiome particulier un environnement structurel et nutritionnel compatible avec sa survie et sa reproduction. En biologie, la colonisation d'un organisme par des microbiotes peut avoir diverses conséquences en fonction de la relation que maintient le microbiote avec son organisme hôte. Au cours de ce travail, nous nous intéresserons principalement au microbiote intestinal bactérien de l'Homme.

I.2 Le microbiote intestinal de l'Homme

L'Homme vit en association avec des Micro-Organismes (MO) dont la majeure partie est hébergée par son Tube Digestif (TD) : on la nomme Microbiote Intestinal (MI). Autrefois appelé « flore intestinale humaine », le MI humain est un écosystème complexe qui regroupe l'ensemble des êtres unicellulaires qui colonisent la totalité du *tractus* digestif, de la cavité orale jusqu'à l'*anus*.

Le Microbiote Intestinal Humain (MIH) est composé de quelque 10^{14} bactéries. A titre de comparaison, l'organisme est constitué d'environ 10^{13} cellules, ce qui signifie que le l'Homme transporte dans son TD un nombre de cellules procaryotes environ 10 fois supérieur à celui de ses propres cellules eucaryotes. Le microbiote héberge aussi des MO unicellulaires non bactériens tels que les Archées et les Levures. Il contient par ailleurs des Virus. Ces MO représentent une biomasse allant de 1 à 5 kg et environ 3,3 millions de gènes (150 fois plus que le génome humain). Le MI de chaque individu est unique et possède un répertoire microbiologique et génétique qui lui est propre.

Les MO du MIH se trouvent en transit permanent dans le TD et vivent, en l'absence de situation pathologique et dans des conditions d'homéostasie, en état de mutualisme ou de commensalisme avec l'Homme. On définit le mutualisme comme une interaction entre deux ou plusieurs organismes au cours de laquelle il existe un bénéfice réciproque. Le mutualisme est à distinguer du commensalisme (du latin *cum* « avec » et *mensa* « table ») qui définit une relation facultative, provisoire ou définitive, bénéfique pour le commensal mais neutre (ni bénéfique, ni nuisible) pour l'organisme hôte (*D.W. Davidson et D. McKey, 1993*) au cours de laquelle ce dernier fournit une partie de sa propre nourriture au commensal (la flore). La relation mutualiste se base sur le fait que certaines bactéries du microbiote puisent chez leur hôte les ressources nécessaires à leur survie et à leur reproduction, tout en exerçant sur lui plusieurs fonctions physiologiques reconnues comme bénéfiques. D'autres bactéries ne semblent pas avoir d'action bénéfique directe et font simplement partie de la flore au milieu de laquelle elles se développent sans toutefois causer de dommages à leur hôte dans des conditions d'homéostasie : on parle de bactéries commensales. Au cours de l'évolution, certaines bactéries sont devenues commensales de l'Homme, qui les a involontairement introduites dans de nombreux écosystèmes et régions où elles n'existaient pas.

I.3 Caractérisation du microbiote intestinal

I.3.1 Les difficultés d'étude du microbiote

Pendant de longues années, l'étude de la composition du MI était effectuée par des méthodes de culture en laboratoire et se limitait à la fraction dite cultivable. Si le nombre de bactéries présentes dans le MIH est très grand, nombreuses sont celles qui sont demeurées inconnues jusqu'à récemment. En effet, la majorité des espèces (de 50% à 90% selon les sources) ne peuvent être mises en évidence par les méthodes de culture sur gélose traditionnellement utilisées. Cela provient du fait que les bactéries du MI vivent dans un milieu dont les propriétés physicochimiques sont souvent

extrêmement difficiles à caractériser et à reproduire. De plus, la plupart sont anaérobies obligatoires, c'est-à-dire qu'elles ne peuvent survivre en présence d'oxygène.

L'état actuel de nos connaissances est donc essentiellement lié à des approches culture-indépendantes. L'avènement du génie génétique, au cours des dernières décennies, nous a permis de nous affranchir de la culture bactérienne et de mieux appréhender la complexité du MIH.

I.3.2 La métagénomique au service de l'étude du microbiote

Les méthodes actuelles d'identification bactérienne sont génétiques. Elles se basent sur l'analyse du matériel génétique bactérien et non plus seulement sur des caractères morphologiques et métaboliques tels que l'observation de colonies, la coloration de Gram et les tests enzymatiques. L'identification d'espèces se fait par la détermination de séquences de gènes contenus dans des échantillons.

I.3.2.1 L'outil de base de l'étude génétique : l'ARN ribosomal

Plus précisément, l'identification bactérienne se base sur la détermination de la séquence du gène codant pour l'Acide Ribonucléique Ribosomal 16S (ARN 16S). Ce gène est considéré aujourd'hui comme le marqueur universel de la phylogénie bactérienne pour plusieurs raisons : la première est qu'il s'agit d'un gène ubiquiste, retrouvé chez toutes les bactéries et non transférable d'une bactérie à une autre. Sa faible teneur en bases et la grande stabilité de sa séquence dans le temps font qu'il s'agit d'un acide nucléique parfaitement caractérisé dans les bases de données génétiques.

Le gène de l'ARN 16S comporte environ 1500 paires de bases. Il a une structure dite « en mosaïque » composée de 10 régions très conservées, communes à toutes les bactéries, de 9 régions variables, et de quelques régions hypervariables qui sont les régions d'intérêt (figure 2). La comparaison de séquences d'ARN 16S permet d'établir de degrés de parenté entre les bactéries. La parenté entre groupes bactériens est définie par le degré de similitude de composition entre deux ARN 16S d'origine différente. La similitude est exprimée en pourcentage de bases nucléotidiques identiques entre deux séquences. Cette notion nous permet par exemple de différencier des espèces bactériennes. En bactériologie, on estime qu'une espèce est définie sur la base d'une similarité de l'ARNr supérieure ou égale à 97%. Pour appartenir à une même espèce, deux bactéries doivent ainsi partager au minimum 97% des bases de leur ARNr 16S. Si ce pourcentage est plus petit, on définit une espèce pour chaque bactérie.

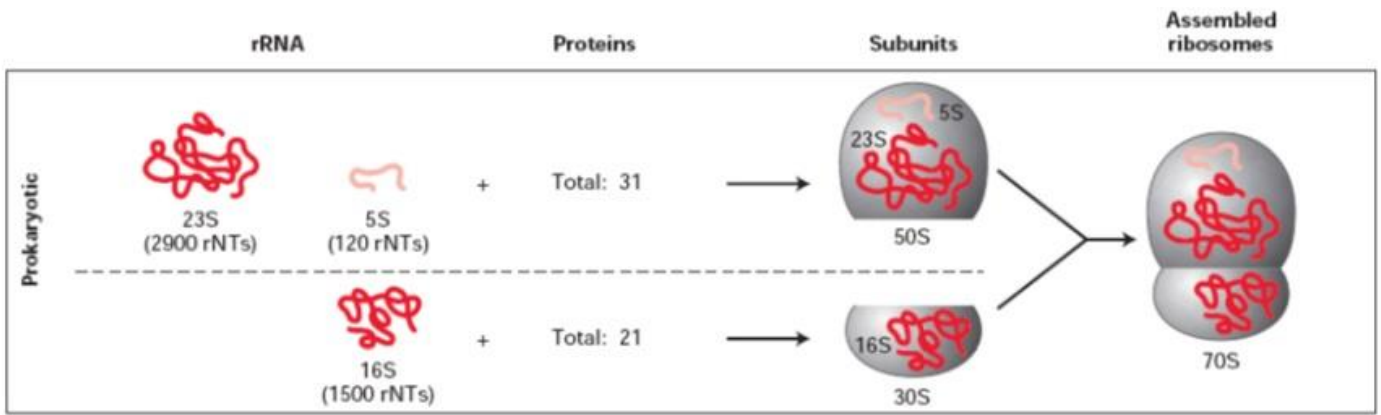


Figure 1 : Les sous-unités du ribosome procaryote et leur teneur en ARNr (<https://askfrance.me>)

Chez les Procaryotes, le ribosome est composé de deux sous-unités : une grande (50S) et une petite (30S). L'ARN 16S est contenu dans la petite sous-unité, qui est elle-même un complexe ribonucléoprotéique formé d'ARN 16S et de protéines ribosomiques.

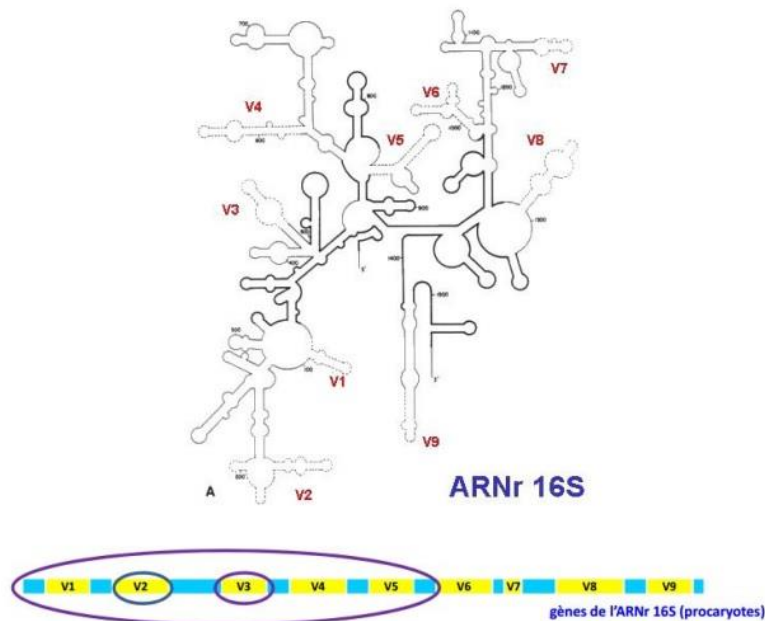


Figure 2 : Structure de la molécule d'ARN ribosomal 16S et ADN codant pour l'ARN 16S (Grosdemange, 2014)

Le gène codant pour l'ARN 16S est représenté de deux manières. En haut, un schéma bidimensionnel où sont visibles les régions conservées (en gris clair), les régions variables (en pointillés et signalées par un V numéroté) et les régions hypervariables (en noir). En bas et en couleur, un modèle linéaire qui montre la succession de zones conservées (en bleu) et de zones variables (en jaune).

I.3.3 Notion de phylogénétique bactérienne

La phylogénie est, de façon globale, l'étude des relations de parenté entre les êtres vivants. L'universalité du code génétique a montré que tous les organismes, eucaryotes et procaryotes, descendent d'un seul et même ancêtre. L'étude de gènes communs à tous les êtres vivants, tels ceux codant pour les ARNr, a montré que leurs séquences ont peu varié au cours des âges et que la comparaison de ces séquences permet de rendre compte de relations de parenté entre les organismes.

Les MO sont classés en taxons, ou groupes, sur la base de leurs relations phylogénétiques. Le taxon est une entité conceptuelle qui est censée regrouper tous les organismes vivants ayant en commun certains caractères taxinomiques ou diagnostiques bien définis. La nomenclature est l'ensemble des règles qui régissent l'attribution d'un nom à chaque taxon distinct. D'une manière générale, la classification des êtres vivants est universelle et est hiérarchisée comme sur la figure 3 :



Figure 3 : Hiérarchie des taxons en phylogénétique bactérienne appliquée à la bactérie Staphylococcus aureus (http://.microbes-edu.org.)

On repère sur la figure 3 le *Phylum* (pluriel *phyla*). Le *phylum* aussi appelé Embranchement correspond au deuxième rang de la classification des êtres vivants, juste sous le règne, qui est le plus important (Animaux, Végétaux, Champignons, Protistes, Bactéries, Archées). L'espèce est l'unité fondamentale de la classification, on dit que c'est le taxon de base. Elle est située au bas de l'échelle taxinomique et regroupe les organismes qui possèdent un certain nombre de caractères communs. Les noms des bactéries sont désignés par deux noms latins : le nom de genre, écrit avec une majuscule, suivi du nom d'espèce, écrit en minuscules. L'ensemble du nom est écrit en italique (Ex. : *Staphylococcus aureus*).

À l'intérieur d'une même espèce, il est possible de distinguer des souches. Une souche est une sous-division d'une espèce. Les souches peuvent être nommées en ajoutant un nom en italique (ou un nombre) à la suite du nom d'espèce. (Ex : *Lactobacillus acidophilus* LA201)

Les méthodes moléculaires utilisées permettent de connaître les relations entre les bactéries. En phylogénétique bactérienne, c'est l'ARN ribosomal 16S qui est étudié. Ainsi, le séquençage des zones variables de l'ARN 16S permet d'identifier des groupes phylogénétiques plus ou moins grands. Le séquençage des zones hypervariables est plus précis et permet d'identifier l'espèce bactérienne.

I.3.4 Identification d'espèces par séquençage à haut-débit

L'une des méthodes utilisées pour caractériser le génome bactérien est celle du séquençage à haut-débit. Le séquençage, qui consiste à déterminer à des fins d'identification l'ordre d'enchaînement des nucléotides d'un fragment d'acide nucléique (dans notre cas l'ARN 16S) est ici appliqué à grande échelle. Cette technique permet d'identifier un certain nombre d'acides nucléiques avant de les relier à des espèces connues.

La démarche qui a pour objectif de caractériser de manière globale les génomes d'un microbiome est nommée étude métagénomique. L'analyse métagénomique amène à connaître la diversité des espèces présentes dans un microbiome mais aussi leur abondance relative dans le milieu. Cette approche est actuellement la plus puissante pour caractériser le répertoire de gènes de tout contexte microbien complexe (Doré et Corthier, 2010). C'est le MI provenant d'échantillons fécaux qui est étudié en priorité en raison de la facilité de collecte des échantillons et du caractère non invasif de la méthode de prélèvement.

I.3.4.1 Séquençage à haut débit : global ou ciblé ?

Deux grandes stratégies de séquençage sont utilisables en métagénomique : la stratégie **globale** et la stratégie **ciblée** (<http://dridk.me/metagenomique.html>). La stratégie globale (« *Shotgun sequencing* » dans les pays anglosaxons) vise à connaître la teneur globale en gènes de l'échantillon prélevé. Pour cela, l'ADN contenu dans l'échantillon est fragmenté dans sa totalité afin de générer des fragments de petite taille (100 à 150 paires de bases) dont la composition en bases est ensuite déterminée par un séquenceur à haut débit. Cette méthode, rapide, ne nécessite pas d'amplification génique préalable. Les séquences lues à travers le séquenceur (les « *reads* ») sont comparées à une banque de gènes bactériens connus. L'alignement de plusieurs reads permet leur association à un gène connu. Par identifications successives, on obtient des informations sur la nature des gènes dominants de l'échantillon et on tire des conclusions sur la composition du microbiote prélevé (Blottière et Doré, 2016), (Figure 4 et 5).

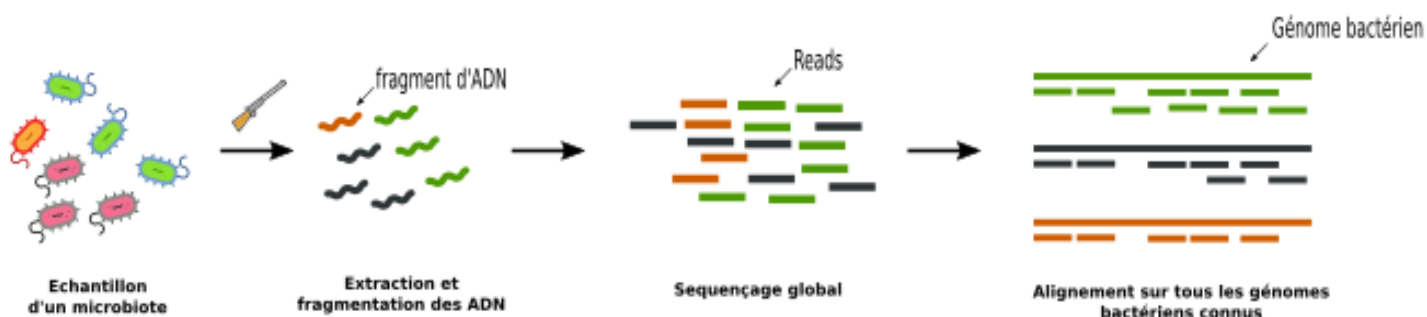


Figure 4 : Extraction, fragmentation et séquençage des ADN d'un échantillon dans l'analyse métagénomique globale (<http://dridk.me/metagenomique.html>)

Dans la stratégie ciblée, il faut préalablement sélectionner parmi le mélange de gènes prélevés au départ, le ou les acide(s) nucléique(s) que l'on veut identifier. Pour servir à l'identification d'espèces, le gène à séquencer doit être commun à plusieurs espèces et comporter des régions suffisamment variables pour pouvoir différencier chacun d'elles. En pratique, le gène bactérien utilisé est celui qui code pour l'ARN 16S. (<http://dridk.me/metagenomique.html>)

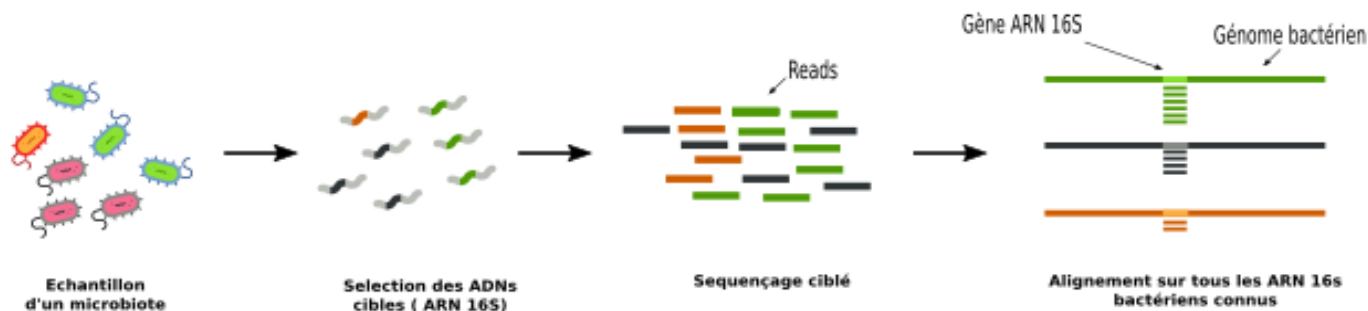


Figure 5 : Sélection préalable de l'ADN à séquencer dans le cadre de la métagénomique ciblée, (<http://dridk.me/metagenomique.html>)

Dans la stratégie ciblée, le gène d'intérêt doit subir une étape d'amplification qui augmente le nombre de copies (amplicons) dans l'échantillon afin d'en faciliter le séquençage. Cette étape se fait par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (Blottière et Doré, 2016).

Les séquences sont comparées bioinformatiquement à un catalogue de gènes connus et reliées à un génome bactérien particulier (<http://dridk.me/metagenomique.html>). Une matrice de comptage est ainsi générée pour chaque échantillon, qui montre dans quelles proportions les ARN 16S s'alignent sur les génomes connus. Cela donne une définition fine des populations contenues dans l'échantillon.

1.3.4.2 Assignement taxonomique des séquences

Une fois le séquençage réalisé, un fichier contenant l'ensemble des séquences lues est édité. Des outils informatiques prennent le relais et après plusieurs étapes de filtrage de données, assignent à chaque séquence un groupe taxonomique afin de nommer la bactérie à laquelle elle appartient. Deux approches existent pour l'identification.

L'approche *close-reference* consiste à assigner un nom à la séquence d'ARN 16S après comparaison aux séquences connues et conservées dans des bibliothèques. Un seuil de 97% de similarité est nécessaire pour qu'une séquence à identifier prenne le nom d'une bactérie connue. Les bases de données les plus connues sont Greengene, Silva et RDP.



Figure 6 : Assignment d'une séquence à un taxon présent de la base de données dans l'approche *close-reference*, <http://dridk.me/metagenomique.html>

Le principal défaut de l'approche *close-reference* est de ne pas tenir compte des séquences non répertoriées. Il existe une autre stratégie qui est la stratégie *de novo*. Cette approche a l'avantage de ne pas utiliser de base de données au départ. Elle consiste à comparer les séquences entre elles puis les classer par groupes de similarité. Ces groupes appelés *clusters* ont en commun une séquence « consensus », qui peut rejoindre une base de données et être reliée à un nom d'espèce. Elle peut aussi ne pas être nommée dans le cas où elle appartient à une espèce inconnue.



Figure 7 : Regroupement des séquences similaires en clusters dans l'approche *de novo*, <http://dridk.me/metagenomique.html>

1.3.4.3 Le comptage d'espèces d'un échantillon

Les bactéries identifiées grâce à leur séquence doivent être dénombrées pour définir l'abondance absolue puis relative de chacune d'elles dans l'échantillon. Le point de départ de l'analyse métagénomique est la construction de la **table des OTU**. Une OTU (acronyme pour *Operational Taxonomic Unit*) définit un ensemble de bactéries similaires à plus de 97% dans leur séquence.

La table des OTU est un tableau qui répertorie les séquences présentes dans l'échantillon. Après comptage informatique des séquences, on y inscrit l'abondance absolue (nombre) des séquences attribuables à un OTU. Afin de rendre les abondances comparables entre échantillons, les abondances absolues sont exprimées en pourcentage (%) pour parler d'abondance relative. La fréquence d'une séquence particulière (donc d'une OTU) est alors décrite en % de séquences totales.

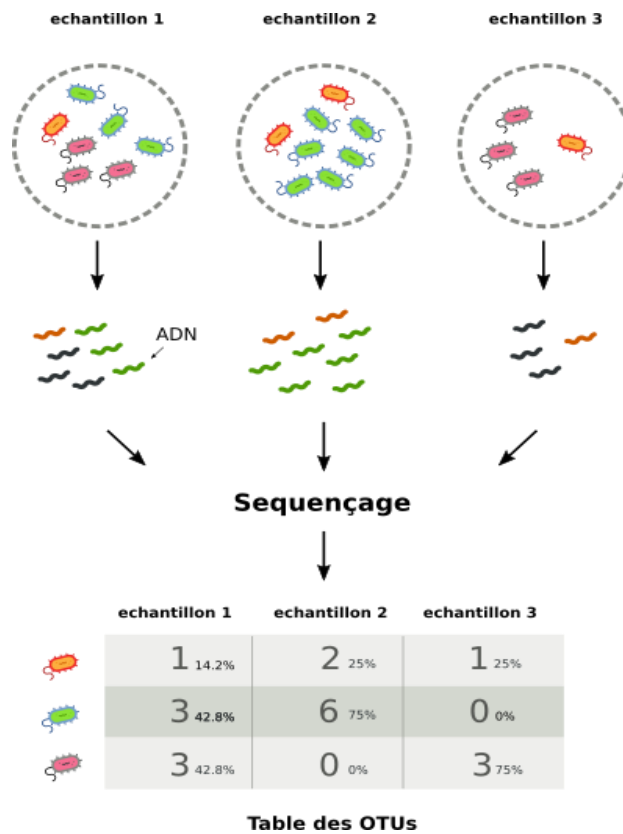


Figure 8 : Comparaison de la teneur en ARN 16S de plusieurs échantillons par table des OTU, <http://dridk.me/metagenomique.html>

L'assignement taxonomique des séquences permet de savoir que les échantillons 1 et 3 ont tous les deux une abondance absolue de 1 en bactéries orange. En pourcentage, leurs abondances relatives des bactéries orange sont de 14,2% et 25 % respectivement.

I.4 Les programmes d'exploration métagénomique

Ces dernières années, nos connaissances sur la métagénomique du MI humain n'ont cessé d'être approfondies et ont bénéficié de l'apport de grands programmes de recherche. Il s'est agi notamment du programme **MetaHIT** financé par la Commission européenne, de **GMGE Micro-Obes**, financé par l'Agence française de la recherche, ou encore des programmes **Roadmap** des Instituts Américains de la Santé (*National Institutes of Health, NIH*). A l'échelle internationale, ces programmes sont structurés au sein de l'*International Human Microbiome Consortium (IHMC)*, co-présidé par le NIH et la Commission européenne (*Doré et Corthier, 2010*).

I.4.1 Programme MetaHIT

Lancé le 1^{er} janvier 2008 et coordonné par l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), le programme européen MetaHIT prévu pour une durée de 4 ans a eu pour objectif l'identification

par analyse métagénomique de l'ensemble des génomes microbiens intestinaux et de leur inclusion à une base de données, vaste catalogue de référence des gènes microbiens utilisable par la suite. (*Dusko Ehrlich, 2010*).

Les chercheurs ont démontré que près d'un millier d'espèces bactériennes sont habituellement présentes en grande quantité dans l'intestin de l'homme, chaque individu en abritant au moins 170, et que la plupart des espèces sont les mêmes d'un individu à l'autre (<http://jacob.cea.fr>).

Les chercheurs du projet MetaHIT ont publié en mars 2010 le premier séquençage de l'ensemble des gènes des bactéries hébergées par le TD humain. Ils se sont d'abord basés sur l'analyse d'échantillons de selles recueillis auprès d'une cohorte de 124 personnes d'origine européenne (85 Danois et 39 Espagnols), ce qui a généré environ 300.000 séquences d'ADN par individu. La longueur totale de ces séquences mises bout à bout correspondait à près de 580 milliards de bases, soit environ 200 génomes humains (*Dusko Ehrlich, 2010*). Le catalogue de gènes complété lors du séquençage du métagénome a inscrit un total de 3,3 millions de gènes existant dans le MI d'un Homme. Ces gènes qui provenaient de plus de 1 000 espèces différentes étaient pour une large majorité d'entre eux d'origine bactérienne, mais il existait aussi des gènes provenant des Archées (*Dusko Ehrlich, 2010*). L'étude a estimé qu'un individu portait en moyenne 540 000 gènes microbiens non redondants (pour lesquels il n'existe pas d'équivalents) attribuables à près de 160 espèces bactériennes. En outre, près de 40 % des gènes portés par un individu donné seraient partagés avec au moins la moitié des individus de la cohorte. Nous désignons ces gènes comme des « gènes communs ». On peut donc en conclure que le métagénome microbien est largement partagé entre les individus de la cohorte. De plus, près de 85% des gènes identifiés dans la cohorte ont été qualifiés d'abondants (présents à une fréquence supérieure à 10^{-6} soit plus d'un sur un million) (*Dusko Ehrlich, 2010*). Le catalogue MetaHIT a été complété plus récemment grâce au séquençage de gènes présents dans les selles d'une large cohorte de 1 267 individus issus de trois continents (Européens, Américains et Chinois). On estime qu'il comprend maintenant 10 millions de gènes (*Li, 2014*).

Les gènes catalogués ont été classés en *clusters* de fonctionnalité. En plus des 14.000 *clusters* déjà connus, le projet MetaHit a permis d'en découvrir environ 5000 autres, avec au moins 20 gènes différents pour chacun. Environ 6000 *clusters* sont communs à tous les individus et on estime qu'ils représentent un noyau génomique commun. Les gènes concernés seraient des gènes « de ménage » nécessaires aux fonctions de base de l'écosystème digestif (*Dusko Ehrlich, 2010*). Il semble apparaître également que le MI humain présente un haut degré de conservation de ses fonctions majeures, telles que la digestion anaérobie des fibres alimentaires, et ce malgré des variations interindividuelles de composition. (*Doré et Corthier, 2010*).

I.4.2 Utilisations potentielles du catalogue de gènes

I.4.2.1 L'étude des potentialités du génome bactérien

L'une des utilisations possibles d'un vaste catalogue de gènes est la recherche de fonctions bactériennes d'intérêt pratique. De nombreux gènes présents dans les catalogues sont inconnus ou ne sont pas reliés à une fonction particulière. L'utilisation d'outils bio-informatiques a pour but l'exploration fonctionnelle de ces gènes pour en extraire davantage d'informations.

Les activités bactériennes à explorer peuvent concerner les capacités métaboliques du MI, avec par exemple l'étude des profils enzymatiques ou la production des molécules d'intérêt, mais aussi leur capacité à métaboliser les xénobiotiques (médicaments). La potentialisation bactérienne est définie par la possibilité qu'a une bactérie de potentialiser l'effet sur l'organisme d'une substance médicamenteuse en la modifiant chimiquement ou en agissant sur des voies métaboliques. La biodétoxification désigne la réduction de la demi-vie de substances exogènes par l'action de MO. Dans les deux cas, des enzymes sont très souvent impliquées et il semble important d'étudier la possibilité de ces bioconversions dans un but thérapeutique.

L'analyse métagénomique peut également servir à caractériser des modifications de composition et de fonction du MI dans le temps, particulièrement dans un contexte pathologique. D'autres approches « -omiques » peuvent servir à pour analyser la cinétique de composition du MI. L'étude du protéome (ensemble des protéines produites par le MI à un instant donné) et le métabolome (ensemble des dérivés métaboliques) existent mais ne seront pas développées dans ce travail.

I.4.2.2 L'utilisation du microbiote intestinal en tant qu'outil diagnostique

L'objectif central de MetaHIT était d'établir des corrélations entre les gènes du MI humain et la santé. En se basant sur deux désordres d'importance croissante, les maladies inflammatoires intestinales et l'obésité, ils ont tenté de faire le lien entre la présence de certains gènes (donc de certaines bactéries) et la fréquence d'apparition de la pathologie.

Dans l'état actuel de nos connaissances, le profil génétique du MI est en relation directe avec le phénotype humain. En effet, un lien a été établi entre des anomalies de composition MI et la fréquence de certaines pathologies. Des outils bio-informatiques et biostatistiques entrent en jeu pour mettre en relation la carte d'identité du génome bactérien et l'incidence de certaines pathologies. (*Dusko Ehrlich, 2010*)

L'utilisation d'outils de profilage peut être étendue à de nombreuses pathologies, mais aussi à n'importe quelle activité ou situation qui affecte la santé humaine et le bien-être. La bio-informatique pourrait ainsi établir des corrélations entre l'âge, l'alimentation et le style de vie et la présence d'espèces particulières.

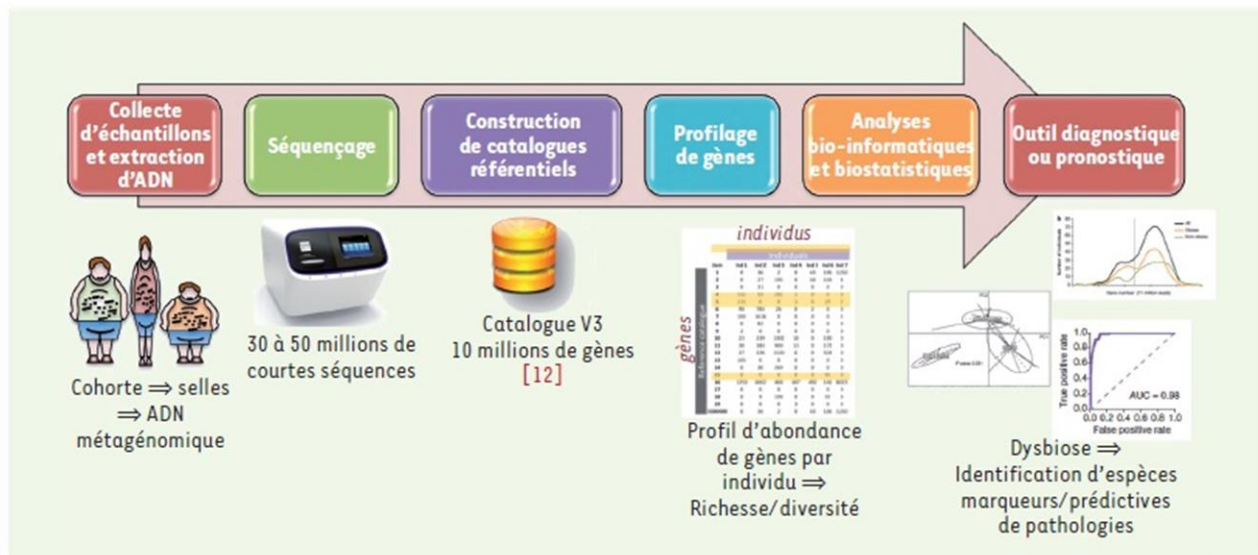


Figure 9 : Principe de la métagénomique quantitative en tant qu'outil diagnostique ou pronostique (Blottière et Doré, 2016)

Après collecte de l'échantillon et séquençage, une matrice informatique de comptage est générée pour chaque individu, ce qui détermine une composition fine du microbiome grâce à un catalogue annoté de gènes connus du MIH qui sert de référentiel. Le profilage est effectué par l'étude de l'abondance de certains gènes par individu. Des analyses statistiques associent des profils bactériens particuliers à des facteurs de risque pour la survenue de pathologies, leur donnant ainsi une valeur diagnostique ou pronostique (Blottière et Doré, 2016).

1.4.2.3 L'établissement d'une « carte génétique » individuelle du microbiote

Le catalogue de gènes ouvre aussi la possibilité de déterminer des profils individuels de gènes microbiens. Dans le cadre de de MetaHIT, deux types d'outils ont été mis au point pour déterminer chez un individu la présence de gènes, leur fréquence et leur expression. A titre d'exemple, les micro-puces ADN ou ARN à haute densité (« *High-Density Micro-Arrays* ») actuellement en cours d'étude, permettent la détection de plus de 3,4 millions de gènes microbiens et s'utilisent pour générer des profils génétiques individuels d'ADN ou ARN. Ils sont utilisés pour générer des profils de sujets sains ou malades, toujours dans le but de définir des interactions entre métagénome bactérien et état de santé particulièrement dans le cadre de pathologies d'incidence croissante dans les pays développés, comme les pathologies inflammatoires de l'intestin ou l'obésité. (Dusko Ehrlich, 2010).

Le deuxième outil est basé sur le séquençage à très haut débit (« *Very-High Throughput Sequencing* ») qui permet la constitution de plus en plus rapide et exhaustive de catalogue de gènes. Les bases de données bio-informatiques, initialement développées pour calculer la fréquence de gènes des cohortes de MetaHit, sont régulièrement complétées et servent à la comparaison de profils génétiques. L'approfondissement de nos connaissances sur le sujet a déjà révélé des associations très intéressantes entre les gènes bactériens et les phénotypes humains.

I.4.2.4 Des résultats incomplets mais prometteurs

L'analyse génétique est un outil précieux qui fournit nombre d'informations exploitables. C'est en partie grâce à l'évolution majeure des technologies de séquençage haut débit et à l'avènement de la bio-informatique que la métagénomique est aujourd'hui à notre portée (<http://dridk.me/metagenomique.html>). Du fait de la diminution des coûts du séquençage et grâce à des outils d'analyse de plus en plus performants, il est possible aujourd'hui de quantifier et de comparer les populations bactériennes du MI d'un grand nombre de personnes en un temps réduit.

Les méthodes d'analyse du génome se sont largement démocratisées ces dernières années mais restent coûteuses et requièrent des moyens technologiques avancés que seuls de grands programmes de recherche sont en mesure de déployer. De plus, peu d'études actuelles mettent en jeu des cohortes d'individus sélectionnés selon des critères représentatifs de la population mondiale. A titre d'exemple, le programme MetaHIT n'a inclus dans son étude de 2008 que des individus européens originaires de deux pays (Espagne et Danemark), et, bien qu'il ait été complété à plusieurs reprises par d'autres études, ses résultats ne sauraient être qualifiés d'exhaustifs. En outre, de nombreuses zones d'ombre demeurent au sujet de l'extraordinaire diversité des espèces du microbiote et de l'influence qu'a cette diversité sur notre santé. La notion de « carte » génétique est encore très virtuelle ; l'accès d'un individu à ses données bio-informatiques, et l'intégration de ces informations à des protocoles de soins ne sont donc pas à prévoir pour le moment.

La caractérisation de profils individuels de MI pourrait en revanche avoir des applications pratiques dans le domaine de la santé. Il est possible qu'à l'avenir, la connaissance plus fine du génome du MI et de son profil métabolomique s'intègre à une démarche diagnostique et thérapeutique. Le classement d'individus en fonction du profil de leur MI pourrait permettre, d'une part, de prédire une susceptibilité vis-à-vis de certaines pathologies et d'autre part d'anticiper la réponse individuelle aux médicaments disponibles. Les informations issues de la métagénomique pourraient alors s'appliquer à divers contextes pathologiques, notamment dans le cadre de la pharmacologie.

I.5 Composition et répartition du microbiote intestinal

I.5.1 Principaux *Phyla* chez l'Homme

Bien que l'Homme possède dans son TD une incroyable diversité de bactéries, le MI est propre à chaque individu, à la manière des empreintes digitales. Chaque individu héberge dans son TD une communauté bactérienne unique sur le plan qualitatif et quantitatif, qui demeure très stable dans le temps, telle une « empreinte bactérienne » intestinale. La phylogénétique permet néanmoins de classer ces dernières. En dépit de leur très grand nombre, elles peuvent être réparties de façon schématique en groupes caractérisés par un nom et une abondance particuliers. A titre d'exemple, il existe au sein du MIH plusieurs grands groupes phylogénétiques, les *phyla*, que l'on retrouve de façon universelle dans des proportions quasi identiques. Ce « socle » commun de composition, qui semble indépendant de l'origine géographique, semble avoir été conservé au cours de l'évolution. D'autre

part, il existerait un petit nombre d'espèces communes (de 15 à 20) à l'origine des principales fonctions physiologiques du MI et donc essentielles à l'hôte (<https://www.inserm.fr>)

Ainsi, de façon systématique chez tous les individus, 4 *embranchements* se partagent la plus grande partie des 10¹⁴ bactéries du MI : **Firmicutes**, **Bacteroidetes**, **Actinobacteria**, et **Proteobacteria**. Au sein du MIH, *Firmicutes* et *Bacteroidetes* sont les deux plus représentés avec des proportions respectives de 60–75 % et 30–40 %. (Landman et Quévrain, 2015)

Les bactéries du *phylum* **Firmicutes** sont des bactéries Gram positives. Elles peuvent être séparées en 4 classes, dont 2 sont représentées de manière importante :

- Classe des *Clostridia* : comporte des *Firmicutes* anaérobies, dont les genres *Clostridium* sp. et *Ruminococcus* sp.
- Classe des *Bacilli* : comporte des *Firmicutes* aérobies ou aérobies facultatives, dont le genre *Lactobacillus* sp.

La classe des *Clostridia* est particulièrement représentée. Le sous-groupe *Clostridium leptum* compte l'espèce *Faecalibacterium prausnitzii*, qui est si abondante qu'elle constitue à elle seule près de 20% du nombre de bactéries du MIH (Lay, 2005). Les sous-groupes *Clostridium leptum* et *Clostridium coccoides* additionnés représentent la composante majeure de la flore fécale et comptent pour plus de 50% de l'ARN 16S bactérien total (Rambaud J-C., 2004). Une étude publiée en 2005 qui s'était intéressée au MI muqueux et fécal d'individus sains avait identifié 395 phylotypes, parmi lesquels 301 correspondaient à des *Firmicutes*, dont une grande majorité appartenant au groupe *Clostridia*. (Eckburg PB, 2005).

Les bactéries du *phylum* **Bacteroidetes** sont des bactéries Gram négatives. Cet embranchement est représenté par des genres liés à *Bacteroides* avec des espèces telles que *Bacteroides thetaiotaomicron* et *Bacteroides fragilis*. Elles sont toujours présentes chez l'Homme et partagent la dominance avec le *phylum* des *Firmicutes*. (Cherbuy C, 2013).

Le *phylum* **Actinobacteria** est moins systématiquement décrit comme dominant. Il correspond à un embranchement de bactéries à Gram positif ubiquitaires et anaérobies. Il comprend les Bifidobactéries, dans des proportions variables selon les études : de 0,7 à 10 %, et les bactéries du groupe *Collinsella-Atopobium* : de 0,3 à 3,7 % en moyenne (Lay, 2005). La part totale des *Actinobacteria* dans le MIH est incertaine. Une marge allant de 2% à 25% au maximum a été évoquée. (Cheng, 2013). Ce *phylum* inclut des souches utilisées comme probiotiques (Bifidobactéries) mais aussi des bactéries potentiellement pathogènes chez l'individu immunodéprimé, comme celles du genre *Mycobacterium* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Actinobacteria>).

Proteobacteria est l'embranchement majoritaire dont l'abondance relative est la plus faible (de 1 à 2%) il contient des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* (Entérobactéries) dont un représentant est le genre *Escherichia spp.* qui porte l'espèce *E.coli*. S'y trouvent également des bactéries réductrices de soufre comme *Desulfovibrio spp.* La plupart des espèces appartenant aux

Protéobactéries sont anaérobies, exception faite pour *E. coli* qui représenterait 80% de notre flore aérobie (http://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli) et mobiles grâce à un flagelle.

Enfin, les Archées, et les cellules eucaryotes (champignons macroscopiques, protozoaires) ne représentent toujours qu'une part marginale de la composition du MI de l'Homme sain.

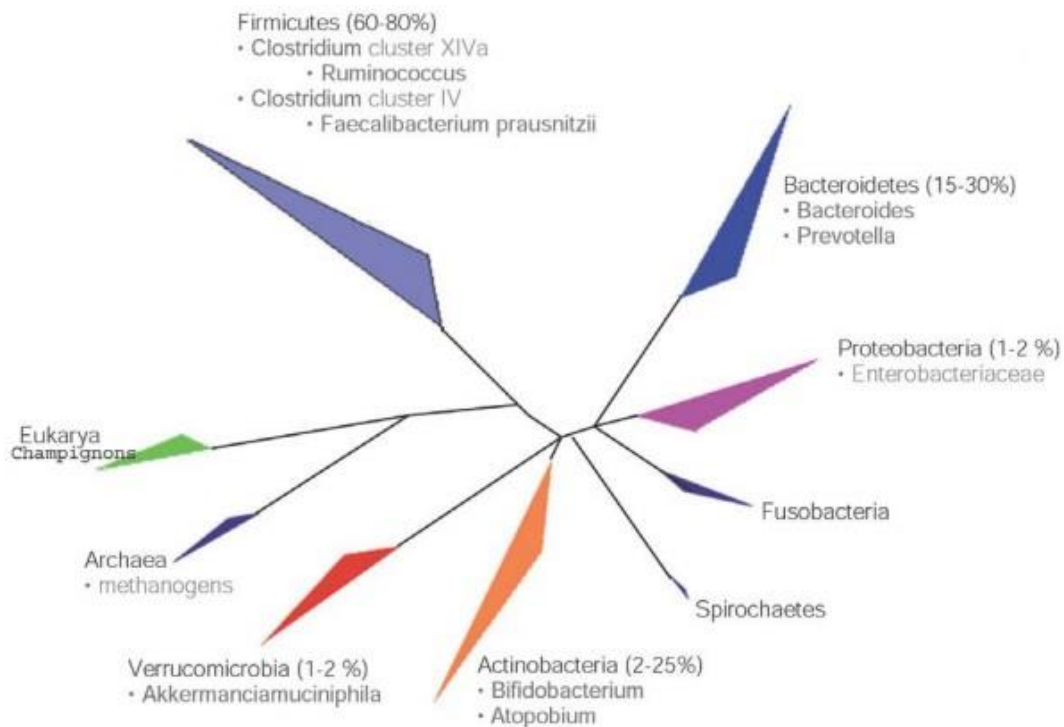


Figure 10 : Représentation schématique des différents phyla bactériens chez l'Homme et de leur abondance relative au niveau du côlon (Cherbuy C, 2013).

L'on sait aussi que la composition du MI se modifie avec l'âge. La technique d'hybridation de sondes nucléotidiques a permis de mettre en lumière que plusieurs groupes bactériens issus de 3 *phyla* : *Firmicutes* (*Clostridium leptum* et apparentés, *Clostridium coccoides* et apparentés, groupe *Lactobacillus-Streptococcus-Enterococcus*), *Bacteroidetes* (*Bacteroides* et apparentés), et *Proteobacteria* (Entérobactéries) englobent plus de 70% de la flore fécale du jeune adulte, contre 50 à 70 % chez la personne âgée, ce qui suggère chez ces derniers un profil d'espèces différent (Rambaud J-C., 2004). Globalement, il existerait une corrélation positive entre l'âge d'un individu et la diversité de son MI, ce qui s'observerait surtout pour les bactéries anaérobies facultatives.

1.5.2 Principaux genres bactériens chez l'Homme

Au sein du Microbiote Fécal (MF) de l'Homme, 6 genres se partagent la dominance :

- Le genre ***Eubacterium*** (*Firmicutes*)
- Le genre ***Clostridium*** (*Firmicutes*)
- Le genre ***Lactobacillus*** (*Firmicutes*)
- Le genre ***Enterococcus*** (*Firmicutes*)
- Le genre ***Bacteroides*** (*Bacteroidetes*)
- Le genre ***Bifidobacterium*** (*Actinobacteria*)

À ces six groupes, qui rassemblent environ 90% des espèces présentes chez tous les individus, s'ajoute parfois un septième groupe qui est ***Ruminococcus*** (*Firmicutes*). On peut trouver également, dans de plus faibles proportions (autour de 2%), des bactéries du genre ***Streptococcus*** (*Firmicutes*) (Lay, 2005).

I.5.3 Les entérotypes bactériens

I.5.3.1 Définition de l'entérotype et généralités

Malgré la grande diversité interindividuelle du MI, il est possible de classer les individus par groupes de composition bactérienne intestinale. Ces groupes qui sont comparables à des « signatures bactériennes intestinales » portent le nom d'entérotypes. Chaque individu peut être relié à un entérotype de la même manière qu'il appartient à un groupe sanguin. Un entérotype est un écosystème qui se différencie par l'abondance relative de ses souches bactériennes mais aussi par son potentiel génétique, c'est-à-dire la nature des gènes codés par ses bactéries et les fonctions que ceux-ci peuvent jouer.

L'appartenance à un entérotype particulier ne serait pas liée à l'âge ou à l'état de santé d'un individu et semble indépendante de ses caractéristiques ethniques ou géographiques. (Arumugam M. et Al, 2011). En revanche, l'hygiène de vie semble avoir un rôle déterminant sur la mise en place d'entérotypes. La composition de la flore microbienne est susceptible d'être altérée par un changement de mode de vie (déménagement, état psychologique, changement d'alimentation). À titre d'exemple, l'adoption d'un régime alimentaire particulier sur le moyen-long terme peut permettre de passer d'un entérotype à un autre (Wu GD., 2011).

I.5.3.2 Les trois entérotypes principaux de l'Homme

De récentes études ont relevé chez l'Homme trois principaux entérotypes. Ceux-ci portent le nom de leur genre bactérien dominant et sont identifiables par la variation des niveaux du genre dominant et d'autres genres couramment associés (Arumugam et Al., 2011).

On définit ainsi :

- Le type ***Bacteroides*** (ou type 1), caractérisé par de hauts niveaux de bactéries du genre *Bacteroides*.

- Le type **Prevotella** (ou type 2), caractérisé par de hauts niveaux de bactéries du genre *Prevotella*.
- Le type **Ruminococcus** (ou type 3), caractérisé par de hauts niveaux de bactéries du genre *Ruminococcus*.

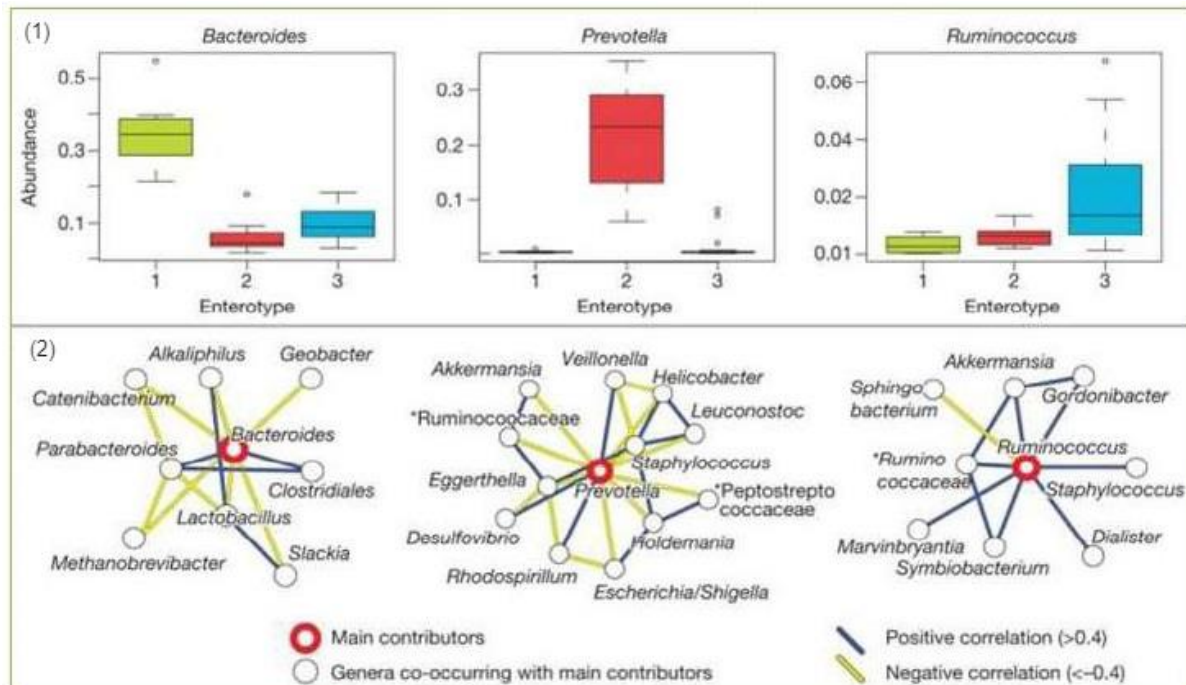


Figure 11 : Les trois principaux entérotypes de l'Homme diffèrent par leurs populations bactériennes (Bourlioux, 2013)

Partie supérieure (1) : à gauche, l'entérotipe *Bacteroides* : le genre *Bacteroides* sp. (en vert) est majoritaire ; au milieu, l'entérotipe *Prevotella*, le genre *Prevotella* (en rouge) est majoritaire ; à droite l'entérotipe *Ruminococcus* : le genre *Ruminococcus* (en bleu) est majoritaire.

Partie inférieure (2) : chaque entérotipe est caractérisé par une population bactérienne stéréotypée, avec des genres dominants en nombre (« *main contributors* ») et des genres non dominants signalés par un cercle blanc. Certains genres ont plus tendance à apparaître ensemble (corrélations positives, en bleu) ou à s'éviter (corrélations négatives, en vert) ce qui implique des réseaux de genres.

1.5.3.3 Le mode de vie influence l'entérotipe

L'hygiène alimentaire a un rôle prépondérant sur la composition du microbiote. Il a été démontré qu'une alimentation de type « *Western Diet* », riche en graisses et protéines animales, favorise l'implantation de l'entérotipe *Bacteroides* (type 1). En revanche, un régime alimentaire riche en carbohydrates incluant les fibres végétales induirait l'implantation de bactéries du genre *Prevotella* signant le type 2 (Wu GD., 2011).

Une étude réalisée aux Etats-Unis a montré que le MI peut rapidement répondre à des changements de régime alimentaire. En soumettant deux groupes d'individus à un régime différent : l'un

entièrement basé sur des végétaux avec richesse en fruits, légumes et céréales et l'autre basé sur des produits d'origine animale (viande, œufs, fromages), il a été observé qu'une courte durée (5 jours) suffisait à modifier la composition du MI, particulièrement le deuxième régime qui stimulait le développement d'espèces potentiellement délétères pour le TD (David, 2014).

Mais une autre étude réalisée sur une cohorte de 98 individus a montré qu'un changement de régime alimentaire de 10 jours ne suffisait pas à modifier l'écosystème global de la flore, malgré des adaptations certaines de la part de celui-ci. Les entérotypes ne seraient interchangeables que sur le long terme et ne seraient affectés que faiblement par des changements passagers d'alimentation (Wu GD, 2011).

En ce sens, la comparaison du MI d'enfants européens et d'enfants africains (burkinabés) vivant en milieu rural a montré de profondes différences de composition. Ces derniers possédaient un entérotipe *Prevotella* très marqué, attribuable certainement à leur régime alimentaire, caractérisé par d'importantes quantités de céréales (farines de millet, sorgho), de tubercules et de légumes locaux, et de faibles apports en protéines animales et en lipides. L'étude approfondie du MI de ces enfants a révélé une importante proportion de bactéries fibrinolytiques (*Prevotella* spp., *Xylanibacter* spp.) tandis que d'autres populations (*Bacteroides* spp., *Firmicutes* en général) étaient bien moins représentées que chez les enfants européens. Les auteurs ont émis l'hypothèse d'une adaptation réciproque entre le MI et l'hôte en réponse au régime alimentaire de ces populations, afin de maximiser l'apport d'énergie fournie par l'alimentation (De Filippo, 2010).

I.6 Répartition du MIH dans le tube digestif

Le MI se localise principalement dans l'intestin grêle et le côlon. Dans les parties hautes du TD, l'acidité gastrique et la présence d'enzymes digestives rendent plus difficile la colonisation bactérienne. Il n'est pas aisé d'obtenir des chiffres précis quant à la densité de peuplement du TD car les données disponibles divergent. On observe néanmoins, et de façon systématique, un gradient de biomasse avec une teneur croissante en bactéries et une plus grande diversité d'espèces à mesure que l'on progresse dans le *tractus* intestinal. La densité de peuplement s'exprime en nombre de bactéries par gramme de contenu intestinal et varie selon la localisation :

- Dans l'estomac, elle est globalement faible et varie de 10^2 à 10^3 bactéries/g.
- Dans le duodénum, elle varie de 10^3 à 10^4 bactéries/g (de 10^2 à 10^4 selon les sources)
- Dans le jéjunum, elle varie de 10^5 à 10^7 bactéries/g.
- Dans l'iléon, elle varie de 10^7 à 10^8 bactéries/g (de 10^7 à 10^9 selon les sources)
- Dans le côlon, la teneur en bactéries est maximale. La biomasse varie de 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme de contenu (10^{10} à 10^{12} selon les sources).

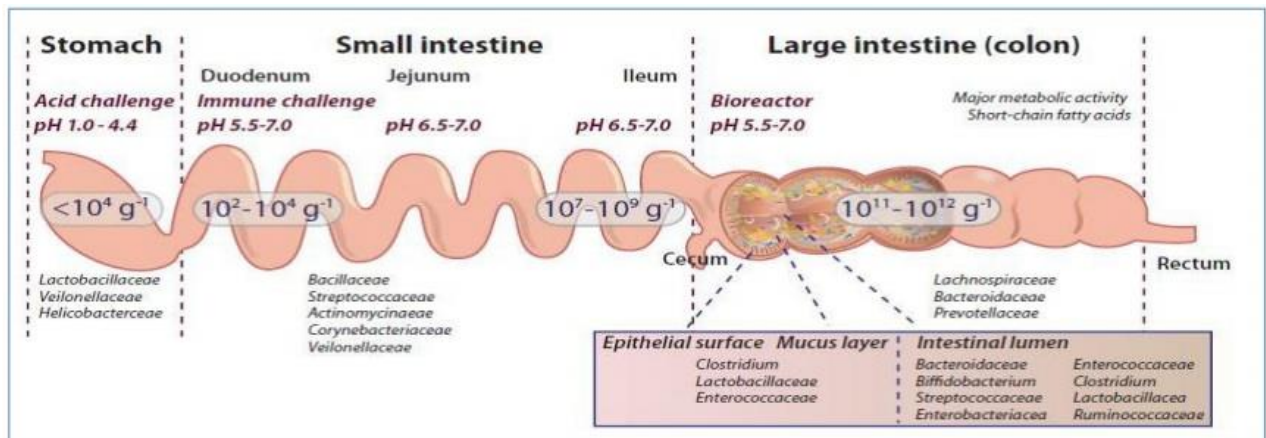


Figure 12 : Répartition schématique de la densité de colonisation bactérienne le long du Tube Digestif (Bourlioux, 2013)

Les fèces sont extrêmement riches en bactéries : de 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme (figure 13) ce qui représente de 20 à 50 % de leur masse selon les sources. Elles comptent un ensemble hétérogène de MO (bactéries mortes ou vivantes, champignons microscopiques), tous issus des flores résidente et de passage. Les matières fécales contiennent en outre environ 75% d'eau et des résidus d'aliments non digérés comme la cellulose. Le MF a une composition proche du Microbiote Colique (Mc), c'est pourquoi est souvent considéré comme un reflet approximatif de ce dernier. Les fèces sont constituées très majoritairement de bactéries anaérobies strictes parmi lesquelles *Bacteroidetes* est le *phylum* dominant. Les genres *Clostridium*, *Eubacterium* et *Bifidobacterium* y sont retrouvés de façon significative (figure 13)

Plusieurs facteurs, en grande partie endogènes (liés aux caractéristiques mêmes du milieu intestinal) expliquent les différences de colonisation. On cite par exemple le pH, la température, la teneur en oxygène, la teneur en acides biliaires et enzymes digestives, la présence de nutriments et le *mucus*. Globalement, un pH acide, la présence d'enzymes digestives et une faible production de *mucus* ne sont pas des facteurs favorisant pour la colonisation bactérienne. Un autre facteur responsable du gradient de biomasse est le péristaltisme intestinal, lié aux contractions des fibres musculaires lisses qui composent la paroi intestinale. Lorsqu'il est soutenu, le péristaltisme empêche la colonisation pérenne des muqueuses en propulsant le contenu du TD et oblige à un *turn-over* (renouvellement) bactérien soutenu pour assurer la stabilité des populations. L'intestin grêle subit un très fort péristaltisme lié à la digestion, mais ces mouvements baissent en intensité à mesure que l'on progresse dans le TD. Au niveau du côlon, le péristaltisme est faible et devient minimal dans sa partie distale, ce qui permet l'implantation d'espèces bactériennes « sédentaires ».

De même, la teneur en oxygène diminue graduellement le long du TD du fait de son utilisation par les espèces aérobies ou anaérobies facultatives dans les parties proximales du TD. La variation de la teneur en oxygène influence la composition qualitative du microbiote. Dans l'intestin, on observe une baisse progressive des bactéries aérobies et aéro-anaérobies au profit des bactéries anaérobies strictes. A partir de l'iléon, les bactéries sont très majoritairement anaérobies strictes. Dans la partie

distale de l'intestin grêle, l'oxygène a déjà totalement disparu. Le côlon et les parties distales de l'intestin grêle sont composées essentiellement de bactéries anaérobies strictes à l'exception du *caecum* de l'Homme qui contient environ un quart de bactéries anaérobies facultatives.

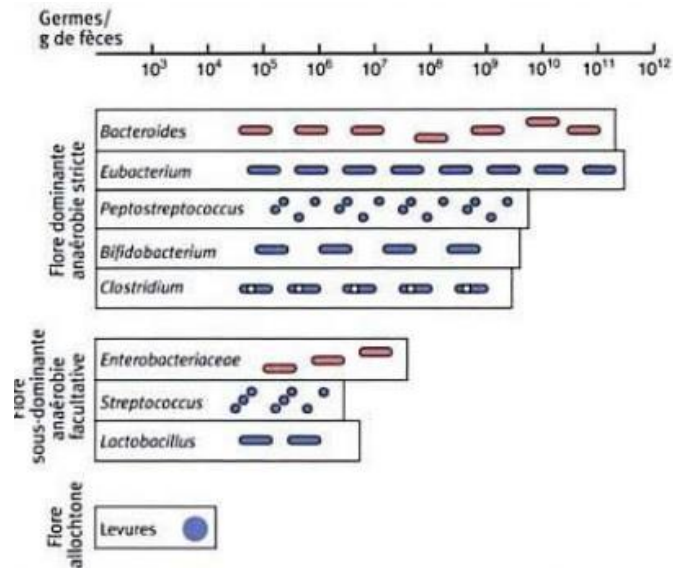


Figure 13 : Populations bactériennes dominantes de la flore fécale cultivable (Biard Noémie, 2016)

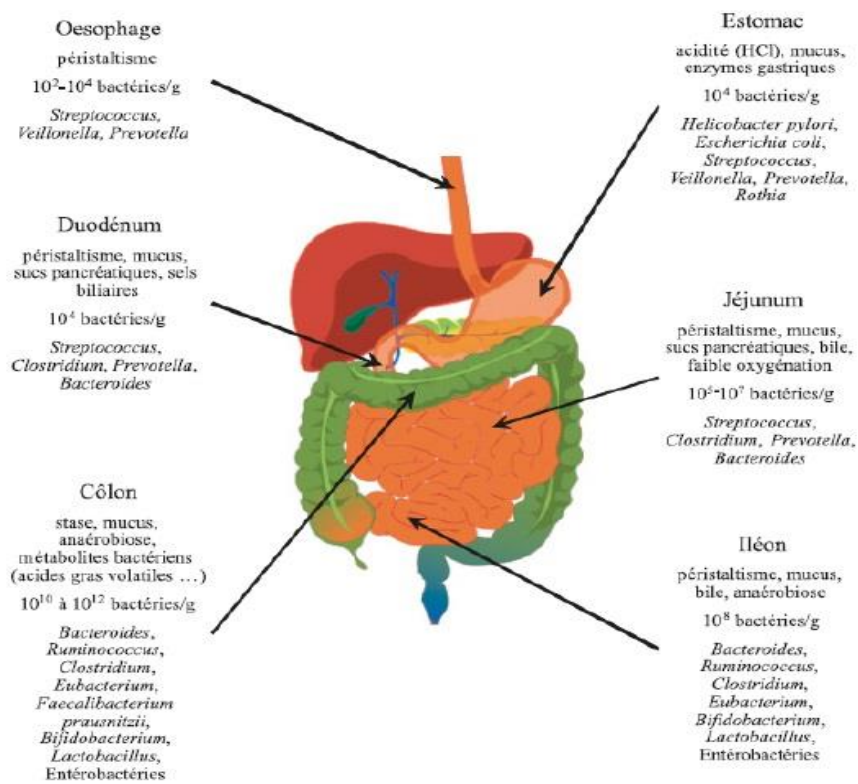


Figure 14 : Variation qualitative et quantitative des populations bactériennes dans le Tube Digestif de l'Homme (Coudeyras et Forestier, 2010)

I.6.1 Un équilibre qui doit se maintenir

Pour rester stables, les niveaux de population doivent être maintenus dans le temps. Pour cela, les bactéries doivent compenser les pertes liées à la mort cellulaire, à leur élimination par les selles et à l'action des cellules immunitaires. En termes écologiques, une souche donnée doit se reproduire au moins aussi rapidement qu'elle est éliminée pour se maintenir à un niveau de population stable dans son écosystème (Lee YK, 2004).

Des observations montrent que les communautés bactériennes sont plus stables dans les parties distales du TD où le péristaltisme est moins fort. Les niveaux de population des groupes subdominants, comme le genre *Lactobacillus*, sont nettement moins stables que ceux des groupes dominants et plus à même d'être affectés par des changements organiques ou environnementaux (Vanhoutte, 2004).

La stabilité des populations bactériennes est liée en partie aux mécanismes d'adhésion entre cellules procaryotes et cellules de l'hôte. La couche de *mucus* sécrétée par l'épithélium intestinal recouvre les parois du TD avec une abondance plus élevée au niveau des parties distales de l'intestin grêle et du côlon. La capacité de certaines bactéries à adhérer au *mucus* facilite le maintien des niveaux de population en empêchant une partie d'entre elles d'être emportées par les mouvements péristaltiques (Freter, 1983). Le phénomène d'adhésion améliore aussi la résistance au flux du bol alimentaire dans le TD. La capacité à adhérer aux parois intestinales confère aux bactéries un avantage sélectif, en particulier pour les souches à croissance lente (Freter, 1983).

Au cours d'infections intestinales, la capacité des bactéries pathogènes à adhérer à l'épithélium et au *mucus* constitue un facteur de virulence et est associée à la gravité des infections (Doré, 2010). L'adhésion des bactéries par reconnaissance de récepteurs cellulaires épithéliaux existe, bien que les mécanismes soient moins bien documentés.

Le MI est un écosystème résilient qui a la possibilité de se régénérer lorsqu'un événement délétère vient perturber l'équilibre de sa composition. La résilience du MI consiste au retour à l'état d'équilibre qualitatif et quantitatif initial en compensant les pertes liées à l'événement perturbateur. La prise de xénobiotiques est susceptible d'altérer la flore lors du contact avec des substances toxiques pour les MO endogènes : les antibiotiques sont régulièrement cités du fait de leur action bactériotoxique. Lors d'infections intestinales, qu'elles soient bactériennes, virales ou parasitaires, on assiste aussi à l'affaiblissement des populations commensales. Cela est généralement lié à :

- L'implantation transitoire et en grand nombre d'un MO pathogène qui trouve des conditions favorables à son développement et qui bloque, par un effet compétitif direct, l'accès à certains nutriments ou à des récepteurs cellulaires. La production locale de toxines par les bactéries infectieuses peut aussi être délétère pour les bactéries commensales.
- La modification structurelle locale de l'environnement digestif (épithélium intestinal) lors de l'inflammation. La destruction et le renouvellement cellulaire sont susceptibles d'altérer les structures épithéliales (microvillosités, villosités et cryptes intestinales) empêchant la fixation d'espèces commensales protectrices.

D'autres facteurs sont probablement impliqués dans le maintien des populations et le phénomène de résilience dont les limites sont mal connues. En thérapeutique, étudier les seuils au-delà desquels les populations bactériennes ne retournent plus à leur état d'équilibre pourrait donner des moyens de lutter contre la perte d'équilibre et prévenir les infections en améliorant la résistance au changement dans des situations critiques, comme une antibiothérapie ou un stress psychologique. (Doré, 2010).

I.7 Comment le microbiote intestinal de l'Homme se met-il en place ?

I.7.1 La colonisation du tube digestif commence dès la naissance

A la naissance, le TD du nouveau-né est dépourvu de bactéries. Bien que l'état stérile du milieu utérin et – par conséquent – du *fœtus* à naître soit aujourd'hui remis en question (Funkhouser, 2013), on peut affirmer que la compartimentation du *fœtus* par les membranes durant la grossesse et la présence d'un *placenta* filtrant le sang permettent à l'enfant à naître de se développer dans des conditions particulièrement aseptiques. Cependant, dès sa venue au monde, le nouveau-né se retrouve plongé dans un environnement bactérien riche et la colonisation de son TD débute avec les bactéries de l'environnement direct (air et surfaces) et par le biais du contact avec la mère. En particulier, le contact étroit avec la mère lors de l'accouchement par voie basse et dans les instants suivant la délivrance permettra un début de colonisation bactérienne (flores vaginale, fécale et cutanée). Les bactéries du microbiote cutané maternel pourraient donc transitoirement faire partie du MI dominant du nourrisson, comme c'est le cas de *Staphylococcus aureus* qui présente un taux de transmission mère-enfant très élevé à 2 semaines : 96% des enfants dont les mères sont porteuses de *S. aureus* ont cette bactérie dans leurs selles, et les souches sont identiques dans 91% des cas (Lindberg, 2004).

Le TD du nouveau-né, en l'absence des mécanismes immunitaires sophistiqués de l'adulte, représente un environnement particulièrement permissif où les niveaux de colonisation augmentent très vite. Ainsi, durant la petite enfance, le MI s'enrichit progressivement. La séquence d'établissement de la flore digestive reste un phénomène complexe et partiellement élucidé, mais on sait que l'implantation bactérienne suit un schéma relativement organisé, spécifique de l'espèce mais propre à l'individu, sous la dépendance de divers facteurs. Nous allons détailler dans la partie suivante les étapes de la colonisation retrouvées de manière systématique chez tous les individus.

I.7.1.1 L'implantation bactérienne des premiers jours de vie

A la naissance, le TD est un milieu riche en dioxygène. Les premiers MO doivent être capables de s'implanter et de survivre dans ce milieu. Les bactéries qui se développent en présence d'oxygène sont qualifiées d'aérobies. On distingue toutefois les bactéries aérobies strictes, pour lesquelles l'oxygène est indispensable à la vie, et les bactéries aéro-anaérobies facultatives, qui vivent et se développent avec ou sans oxygène.

Durant les premiers jours de vie, les bactéries à s'implanter de façon majoritaire sont des bactéries de la famille des Entérobactéries (*phylum* des Protéobactéries) dont fait partie l'espèce *E.coli*. Les Entérobactéries, très ubiquitaires, ont pour caractéristiques d'être des bacilles Gram négatifs de type aéro-anaérobies facultatives. Le genre *Escherichia* colonise 100% des nouveaux-nés a une abondance relative très élevée au sein du MI infantile : environ 60% à deux jours de vie. (*Grosdemange, 2014*) On retrouve également des *Firmicutes* représentés par les genres *Streptococcus* et *Staphylococcus* (*Palmer, 2017*). Les bactéries aéro-anaérobies facultatives consomment dans un premier temps l'oxygène du milieu intestinal du nouveau-né faisant rapidement diminuer son taux, ce qui a pour conséquence de créer de nouvelles niches écologiques où des bactéries anaérobies strictes, telles que *Lactobacillus* spp. (*phylum Firmicutes*) et *Bifidobacteria* spp. (*phylum Actinobacteria*) commencent à s'implanter après plusieurs jours.

Des observations semblent montrer que les premières bactéries anaérobies rencontrées lors d'une naissance par voie basse sont celles qui plus tard dominant le MI adulte. Elles ne deviendront cependant dominantes que lorsque les conditions seront favorables pour elles, c'est-à-dire lorsque les bactéries aéro-anaérobies auront consommé la totalité de l'oxygène (<https://www.snfge.org>).

Certaines questions demeurent au sujet du processus de développement du MI après la naissance. Par exemple, le concept de « fenêtre de permissivité » transitoire, permettant potentiellement à un quelconque microorganisme rencontré de devenir un constituant dominant est supposé mais non évalué. La durée d'une telle fenêtre de permissivité, si elle existe, est inconnue (*Doré, 2010*).

I.7.2 Implantation bactérienne durant les premiers mois de vie (0 – 6 mois)

L'évolution du MI durant les premiers mois de vie est séquentielle. L'établissement et la diversification du MI s'effectuent par paliers avec une alternance de phases relativement stables et de phases caractérisées par de brutales modifications.

Le MI s'enrichit d'abord préférentiellement de souches bactériennes présentes sur la muqueuse vaginale et oro-pharyngée de la mère, ainsi que sur son microbiote cutané, à la faveur des baisers et contacts répétés mère-enfant. Cependant, les bactéries anaérobies, qu'elles soient strictes (*Lactobacillaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Clostridiaceae*) ou aéro-tolérantes (*Streptococcaceae*, *Enterobacteriaceae*) deviennent majoritaires dès les premiers jours de vie. Elles continuent ensuite d'augmenter en nombre (figure 16). Les populations anaérobies strictes augmentent plus rapidement que les aéro-tolérantes, jusqu'à les surpasser en nombre, généralement à quelques semaines de vie.

Le milieu familial et l'environnement du nourrisson régissent la mise en place et l'évolution du microbiote. Deux variables importantes peuvent être :

- L'alimentation. Le nourrisson durant ses premiers mois de vie se nourrit exclusivement de lait. Ses bactéries intestinales sont mises en contact quotidiennement avec un lait aux

propriétés particulières. Nous verrons par la suite que l’allaitement, en comparaison avec l’utilisation de lait industriel, a des conséquences différentes sur le MI infantile.

- Les contacts avec le milieu extérieur durant la petite enfance. Les caractéristiques de l’environnement infantile sont déterminantes pour la mise en place du MI. Nous savons par exemple qu’un enfant évoluant en milieu urbain n’a pas le même microbiote qu’un enfant qui grandit à la campagne. La taille de la famille et le niveau d’asepsie du foyer semblent également avoir de l’importance.

Le lieu de naissance et la situation géographique de l’enfant peuvent jouer un rôle sur le développement du microbiote précoce. Une étude qui s’est intéressée au microbiote d’enfants Européens issus de cinq pays a montré des différences de composition bactérienne entre les pays, avec en particulier un gradient nord-sud. Ainsi, dans les pays du Nord (Suède, Écosse) *Bifidobacterium* spp. est le genre dominant, tandis que *Bacteroides* spp. devient plus prépondérant à mesure que l’on se dirige vers le sud. Il semblerait également y avoir une différence dans la dynamique de mise en place du MI selon les pays : le microbiote d’enfants du Sud de l’Europe (Espagne, Italie du Sud) se caractérise par une diversification plus précoce du MI au sein duquel *Bacteroides* se développe préférentiellement (Fallani, 2010).

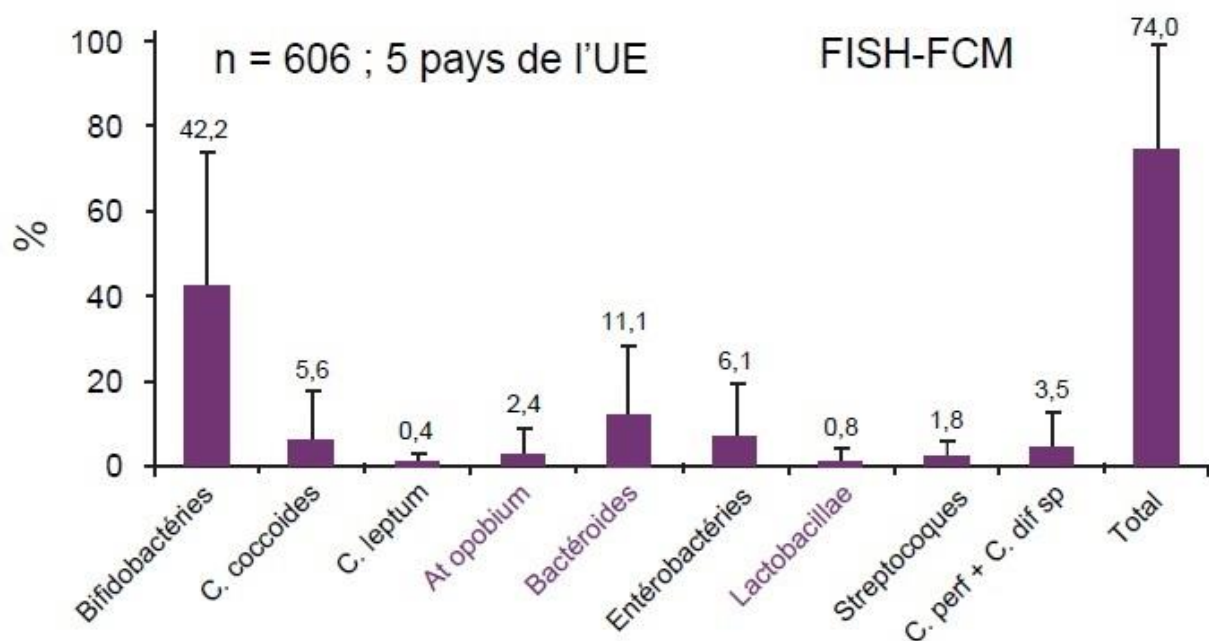


Figure 15 : Microbiote fécal de nourrissons européens âgés de 6 semaines (Fallani, 2010)

A 6 semaines de vie, le microbiote du nourrisson n’est pas encore identique à celui de l’adulte. Les bactéries les plus représentées sont des Bifidobactéries, parmi lesquelles *Bifidobacterium* sp. Les *Bacteroides* et les Entérobactéries sont des colonisateurs précoces, ce qui explique leur proportion assez importante (respectivement 11,1% et 6,1% des bactéries totales). Les groupes dominants chez l’adulte (*Clostridium coccoides* et *Clostridium leptum*) ne sont pas encore majoritaires.

I.7.2.1 Le lait influence la diversification bactérienne

L'alimentation du nourrisson accompagne l'évolution du MI. Le lait, qu'il soit naturel ou industriel joue un grand rôle dans la maturation du MI. En particulier, la période d'allaitement est une période de diversification au cours de laquelle le MI du nourrisson acquiert de nouvelles espèces et voit s'accroître en nombre celles déjà implantées. Au-delà des macronutriments qu'il renferme (glucides, lipides, protéines et eau) qui sont essentiels à la croissance de l'enfant, le lait contient bon nombre de composés utilisables par les bactéries du TD ce qui permet à certaines d'entre elles de se développer préférentiellement.

Dans les années 90, une étude s'est penchée sur le MI porcin (comparable en termes de composition au MIH) et a conclu que chez les jeunes porcs, la diversité microbienne augmente pendant la période de lactation. Celle-ci intéresse en particulier les genres *Lactobacillus* et *Streptococcus*. Les espèces des genres *Clostridium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* et *Propionibacterium* s'implantent également pendant la période de lactation, mais de façon moins importante (Swords, 1993).

Une étude publiée en 2012 a évalué les effets du lactose, composé glucidique du lait, sur l'évolution de la colonisation du MI. Cette étude a comparé le microbiote d'enfants nourris avec un formule infantile sans lactose pendant deux mois, puis ayant reçu les deux mois suivants, la même formule supplémentée en lactose. La comparaison des MI à des temps différents a permis de déterminer que l'addition de lactose est en mesure d'augmenter le taux de Lactobacilles et de Bifidobactéries et en diminuant, comparativement, la proportion des genres *Bacteroides*, *Prevotella* et *Clostridium* (Francavilla, 2012).

I.7.2.1.1 Le rôle des oligosaccharides du lait maternel

Le lait maternel contient des oligosaccharides en grande quantité. Ces sucres complexes inexistants dans le lait d'autres animaux (vache), regroupés sous le nom d'Oligosaccharides du Lait Maternel (OLM) sont nommés Galacto-Oligosaccharides (GOS) ou Fructo-Oligosaccharides (FOS) selon qu'ils comportent du galactose ou du fructose. Les OLM forment un groupe très hétérogène en raison de leurs différences structurales.

On leur attribue des propriétés bifidogènes, car certaines bactéries lactiques telles que les Bifidobactéries sont capables de les utiliser comme source d'énergie par fermentation anaérobie. La présence d'OLM dans le milieu intestinal est ainsi corrélée au développement de ces bactéries. Une étude clinique a ainsi démontré que l'apport chez l'adulte de FOS et d'inuline (autre fibre fermentescible) à raison de 10 grammes par jour, stimule la prolifération des bactéries lactiques dans l'intestin, essentiellement des Bifidobactéries (Miller, 1996). Une autre étude a permis de démontrer que la substitution de laits artificiels par un mélange de GOS et FOS produit une augmentation significative et dose-dépendante des Bifidobactéries dans les selles et est donc en mesure d'adapter la composition du MI chez des enfants prématurés et des nourrissons allaités, (Moro, 2002).

En outre, les OLM et leurs produits de dégradation ont un pouvoir régularisant sur le transit intestinal de l'enfant. Par leur fort pouvoir osmotique, ils augmentent le gradient osmotique du côlon, ce qui attire l'eau vers la lumière intestinale et augmente le poids des selles. La modulation de la teneur en eau des selles facilite l'évacuation de ces dernières et limite la constipation chez l'enfant.

I.7.2.1.2 Les anticorps du lait maternel contrôlent la colonisation

Les Immunoglobulines A (IgA) maternelles sécrétées dans le lait et ingérées par le nourrisson protègent ce dernier des MO extérieurs qui entrent en contact avec son TD et peuvent y exercer des effets pathogènes. Elles ont aussi un rôle dans le *processus* de colonisation bactérienne du nourrisson. En tant qu'effecteurs de l'immunité, elles contrôlent l'implantation des bactéries en préservant les espèces « utiles » et en aidant à l'élimination d'espèces indésirables et potentiellement pathogènes. Globalement, leur action participe à la mise en place d'une flore adulte saine en facilitant la diversification du MI et l'implantation de bonnes bactéries. Leur action passe aussi par le maintien à un niveau bas de certaines populations commensales dont l'expansion excessive serait délétère pour le nourrisson. Durant les premières semaines de vie, le contrôle immunitaire se fait par les anticorps maternels et permet de réduire l'inflammation colique chez l'enfant. Ce n'est qu'à partir du 3^{ème} mois de vie que la production d'IgA intestinales autologues par le nourrisson prend le relais (*Planer, 2016*). Leur action sera toujours celle de façonner la composition du MI immature en limitant l'expansion d'espèces pro-inflammatoires.

I.7.2.1.3 L'allaitement apporte des bactéries au nourrisson

En outre, le lait maternel n'est pas stérile. L'identification bactérienne, par des techniques moléculaires, d'échantillons de lait provenant de sept mères allaitantes a montré que de nombreux genres bactériens étaient présents de manière systématique dans le lait, parmi lesquels *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Parabacteroides*, et *Clostridium* avec des proportions variables en fonction de l'échantillon. Ainsi, en se nourrissant de lait maternel, les nourrissons ingéreraient des MO naturellement présents dans le MI infantile qui participent au développement d'une flore bénéfique. L'analyse a d'ailleurs montré de nombreuses similitudes entre la composition bactérienne du lait maternel et le MI de l'enfant nourri à ce lait (<https://www.futura-sciences.com/>).

I.7.3 L'implantation bactérienne de 6 mois à 2 ans

Durant les 6 premiers mois, le nombre de bactéries augmente fortement du fait de l'alimentation et des contacts extérieurs pour atteindre à 6 mois environ 10^{12} bactéries au niveau du côlon. Après 6 mois, le MIH poursuit sa maturation pour se rapprocher toujours plus de celui de l'adulte. Les genres *Bacteroides*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Bifidobacterium* et *Enterobacteriaceae* sont généralement très représentés à cet âge de la vie. De nombreuses espèces spécifiques du côlon se sont déjà implantées durablement (*Fusobacterium spp.*, *Eubacterium spp.*...) (figure 16). Après 6 mois,

l'évolution consiste en l'augmentation progressive de la biomasse bactérienne, et la diversification d'espèces anaérobies strictes qui seront de plus en plus majoritaires en particulier dans le côlon distal. Le MIH est considéré comme « proche » de celui de l'adulte à un âge situé entre 2 et 3 ans.

1.7.3.1 De l'alimentation lactée à l'alimentation solide

Durant la période d'allaitement exclusif, la composition du MI reste très caractéristique du nourrisson avec une proportion importante de bactéries lactiques. Celle-ci change lorsque la nourriture solide fait son apparition pour se tourner définitivement vers un profil « adulte » avec des communautés bactériennes plus complexes et plus stables (Fallani, 2011), (Koenig, 2011), (Vallès, 2014). La composition chimique du régime alimentaire, complexifiée par l'arrivée d'aliments solides, a un rôle déterminant pour la définition du MI. Les caractéristiques des aliments consommés, notamment leur teneur en bactéries et en nutriments, influencent fortement l'évolution de sa composition. L'impact de l'étape de sevrage est bien moins documenté que celui de l'allaitement. Cependant, l'apparition d'aliments nouveaux, de nutriments, fait augmenter la diversité, avec notamment le remplacement des phyla *Proteobacteria* et *Actinobacteria* par *Firmicutes* et *Bacteroidetes* en tant que flore dominante (Fallani, 2011), (Koenig, 2011).

L'étude du développement du MI chez le jeune enfant, entre 9 et 18 mois d'âge, a mis en relief les remaniements du MI avec une augmentation de l'abondance relative de certaines familles bactériennes telles que *Ruminococcaceae*, *Eubacteriaceae*, ou encore *Lachnospiraceae*, *Sutterellaceae* et *Rikenellaceae* (Laursen, 2016). En revanche, les Bifidobactéries acquises durant l'allaitement voyaient leur nombre diminuer, au même titre que les *Enterococcaceae*, *Fusobacteriaceae*, et de nombreuses bactéries de l'ordre des *Clostridiales* (Laursen, 2016). L'augmentation de l'apport protéique par l'alimentation solide a été associée à une augmentation des *Lachnospiraceae* au détriment de bactéries glycolytiques telles que les Bifidobactéries, plus généralement associée à l'alimentation lactée. Un apport élevé en fibres chez le jeune enfant a quant à lui été corrélé à des niveaux plus élevés de *Prevotellaceae*, ce qui démontre une fois de plus le lien étroit entre alimentation, profil microbiologique et mise en place d'entérotypes (Laursen, 2016).

Une autre observation concerne *Faecalibacterium prausnitzii* (*Firmicutes*), quasiment absente du MI infantile, qui voit ses niveaux augmenter de manière considérable dès le sevrage pour atteindre des niveaux proches de celui de l'adulte à 1 an (Yassour, 2016). Des modifications physiologiques du TD de l'enfant provoquées par le changement d'alimentation seraient aussi à l'origine de changements. L'espèce *Akkermansia muciniphila*, elle aussi très peu présente chez le nouveau-né, connaît une augmentation de ses niveaux jusqu'à l'âge de 2 ans. On attribue le développement d'*A.muciniphila* à l'intensification de la production de *mucus* par les cellules caliciformes au cours de l'enfance. En effet, la mucine est le principal glucide fermentable par *A. muciniphila* et une source d'énergie pour cette bactérie (Yassour, 2016), (Milani, 2017).

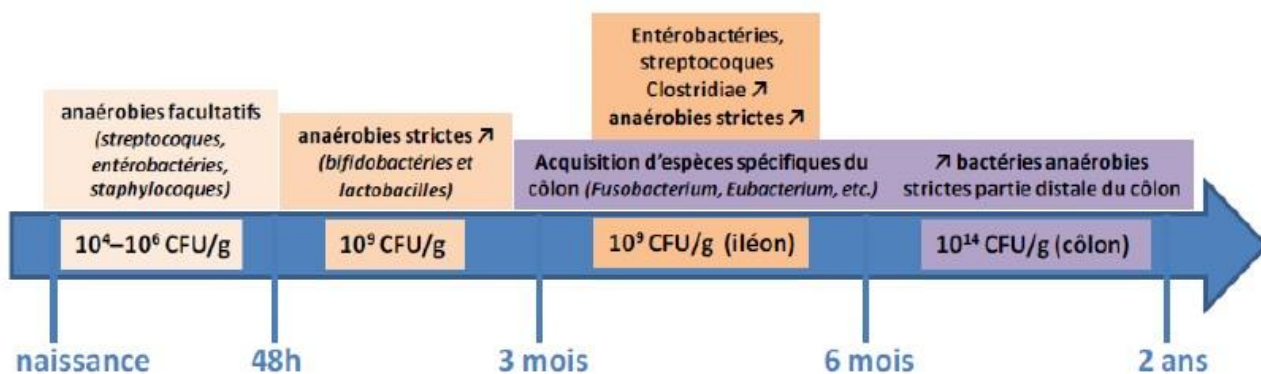


Figure 16 : Mise en place de la colonisation bactérienne de l'intestin de la naissance à l'âge de deux ans (Le Bourgot, 2016)

CFU : unité formant une colonie par gramme de contenu intestinal.

I.7.4 Le microbiote « adulte »

Vers 2 ou 3 ans, le microbiote est considéré comme mature et est proche de celui du futur adulte. A cet âge-là, le rapport entre le nombre de bactéries anaérobies strictes et de bactéries aéro-anaérobies facultatives dans le côlon est très en faveur des bactéries anaérobies.

La composition d'un MI mature sain fait preuve d'une grande stabilité au cours du temps, même si l'enfant pourra continuer à l'enrichir d'autres populations qui viendront compléter et affiner peu à peu le profil microbiologique jusqu'à l'âge adulte. Sa stabilité réside dans le phénomène dit de résilience, c'est-à-dire la possibilité de retour à un équilibre de composition après un événement perturbateur. Le MI sera néanmoins toujours très sensible aux modifications environnementales qu'elles soient physiologiques (croissance, diversification alimentaire...) ou pathologiques (affections digestives ou systémiques, prise de traitements antibiotiques).

II – Les grandes fonctions du microbiote et son influence sur le système immunitaire

II.1 Quelques fonctions non immunitaires du microbiote intestinal

Les bactéries du MI exercent un grand nombre de fonctions sur l'organisme hôte. Cette partie se concentrera essentiellement sur l'influence du MI sur le Système Immunitaire (SI) de l'organisme hôte. Il m'a toutefois semblé nécessaire, dans un premier temps, de décrire quelques fonctions non immunologiques. Ces activités qui sont principalement d'ordre métabolique permettront au lecteur d'avoir une vue d'ensemble sur le contexte de fonctionnement du MI.

II.1.1 Métabolisme de macromolécules et régulation énergétique

Les MO doivent trouver dans le milieu intestinal les conditions nécessaires à leur survie et à leur reproduction, à commencer par l'énergie. L'adaptation des MO au milieu intestinal a supposé une capacité d'utilisation des nutriments disponibles dans ce milieu.

Les bactéries intestinales sont en permanence soumises aux mouvements du bol alimentaire à différentes étapes de digestion. Plusieurs nutriments sont directement utilisables par les cellules eucaryotes et les bactéries, comme le glucose issu de l'alimentation. Cependant, les substrats énergétiques du MI seront principalement issus de phénomènes de biotransformation. Certaines substances non digérées par l'hôte seront transformées par le MI lui-même en substrats utilisables.

C'est principalement par la fermentation anaérobie de composés glucidiques complexes que les bactéries du MIH produiront leur énergie. Le côlon est le lieu où le métabolisme et l'extraction d'énergie sont les plus intenses, du fait de la forte colonisation par les bactéries de cette zone, et parce que la partie distale du TD reçoit l'intégralité des aliments non digérés. La fermentation de ces substrats produit une énergie utilisable par le microbiote lui-même, mais aussi une fraction non négligeable des calories alimentaires de l'hôte. La biodégradation génère d'autre part divers métabolites qui peuvent se retrouver dans la circulation sanguine ou avoir une action locale.

II.1.1.1 Le métabolisme des glucides

II.1.1.1.1 Les fibres végétales

Le MI colique utilise comme principale source d'énergie des fibres. De nature glucidique, les fibres sont des chaînes plus ou moins longues et complexes d'unités osidiques (glucose) liées entre elles par des liaisons covalentes dites liaisons osidiques. La coupure de ces liaisons par hydrolyse, point de départ de la digestion, n'est pas réalisable par les enzymes digestives humaines.

Selon les individus et leur régime alimentaire, de 10 à 60 g par jour de glucides fermentescibles non digérés dans le *tractus* digestif supérieur parviennent au côlon sous forme de fibres (Louis et Marteau, 2009). Parmi les fibres alimentaires figurent la cellulose, les hémicelluloses, les pectines, mais aussi une certaine fraction de l'amidon, que l'on nomme amidon résistant car elle n'est pas dégradée par nos enzymes. Les fibres forment un vaste groupe de macromolécules de tailles et formes diverses. Composés structurels du monde végétal, elles se retrouvent en majorité dans la paroi des cellules végétales où elles ont un rôle de soutien. Elles sont apportées par l'alimentation grâce aux fruits et légumes, tubercules, légumineuses et céréales.

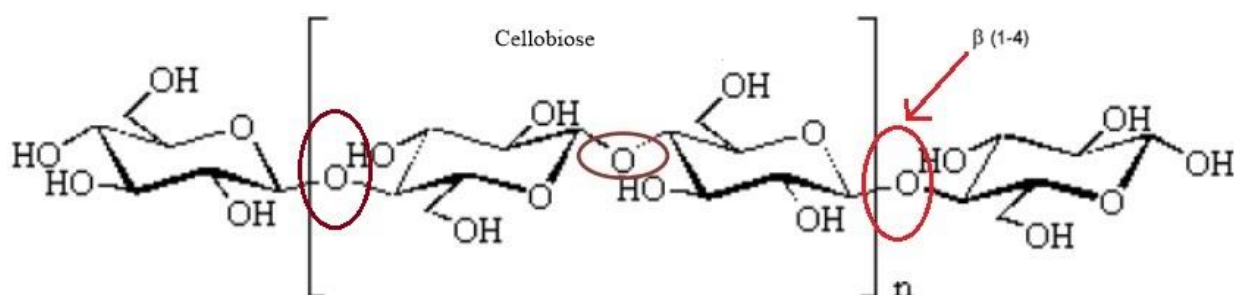


Figure 17 : Représentation spatiale d'une fibre de cellulose (<http://chimphys.smauernco.free.fr>)

La cellulose est un polymère de glucose dont les unités sont reliées bout à bout par des liaisons $\beta(1,4)$ osidiques, formant une chaîne linéaire. Le motif de base de la fibre de cellulose est le dimère nommé cellobiose, répété un certain nombre (n) de fois.

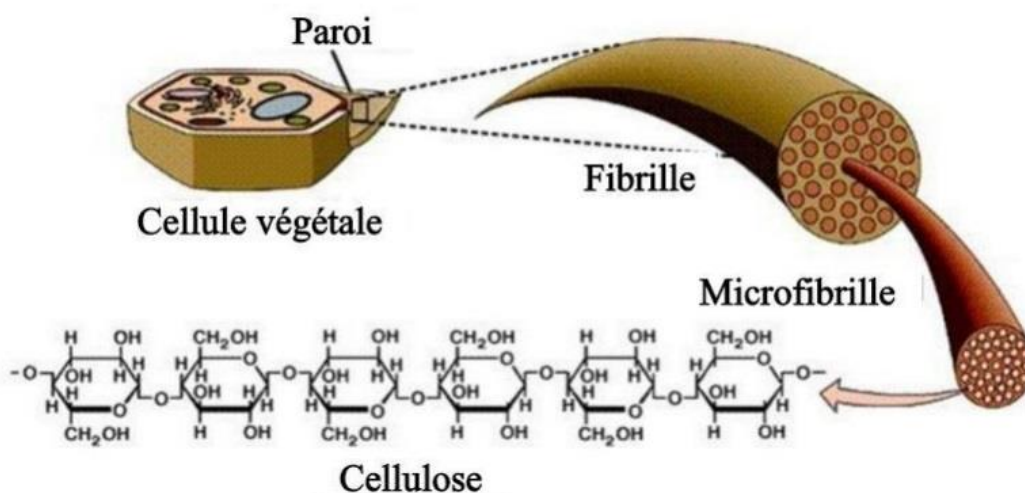


Figure 18 : Organisation des fibres de cellulose dans la paroi d'une cellule végétale (<http://chimphys.smauernco.free.fr>)

Les fibres de cellulose sont l'un des constituants de la paroi cellulaire. Les longues chaînes de $\beta(1,4)$ -D-glucose sont liées entre elles par des liaisons non covalentes (les liaisons hydrogène) qui assurent un ensemble cohésif : la microfibrille. Les microfibrilles se réunissent structures plus grandes, les fibrilles, qui s'enchevêtrent pour former la paroi.

II.1.1.1.1.1 Le devenir des fibres dans l'intestin : hydrolyse et fermentation

La capacité des bactéries à dégrader les fibres alimentaires fait partie du « noyau fonctionnel » commun au MI de tous les individus. En effet, les bactéries dites fibrolytiques se trouvent toujours à de hauts niveaux de population dans l'intestin. On distingue toutefois celles dégradant l'amidon (amylolytiques), le xylane (xylanolytiques) et la cellulose (cellulolytiques) (Mosoni, 2014).

La biotransformation de fibres par le MIH est réalisée en anaérobiose au niveau du côlon à partir des éléments non digérés provenant de l'intestin grêle. Elle comprend plusieurs étapes et fait intervenir des populations bactériennes possédant chacune un bagage enzymatique particulier. La coexistence d'activités métaboliques complémentaires permet aux bactéries de former une chaîne trophique (Louis et Marteau, 2009).

Les polymères glucidiques sont d'abord fragmentés au cours d'une première étape qui est l'hydrolyse. Les bactéries qualifiées de fibrolytiques (ou hydrolytiques) coupent les liaisons β (1,4)-D-glucose par action enzymatique. Les fibres sont ainsi transformées en polyosides de plus en plus petits, puis en oligosides (3 à 10 unités de glucose), et enfin en oses qui sont des monomères de glucose. Les bactéries fibrolytiques portent dans leur génome un grand nombre de gènes codant pour des enzymes impliquées dans la dégradation des polyosides. La plupart de ces enzymes appartiennent à la famille des glycoside-hydrolases, des polysaccharide-lyases ou des carbohydate-esterases (Mosoni, 2014). Ces enzymes que l'on regroupe parfois sous le nom d'hydrolases sont exprimées principalement par les bactéries des genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia* (Pryde SE, 2002). La transformation anaérobie de fibres alimentaires en métabolites fermentaires est donc sous la dépendance de plusieurs groupes bactériens dont les rôles se complètent. Certaines d'entre elles sont plurifonctionnelles et ont la capacité d'utiliser des polyosides de structure et de taille différentes, ce qui leur procure certainement un avantage compétitif. D'autres en revanche ne sont pas en mesure de s'attaquer aux polyosides complexes mais utilisent les oligosides libérés par le travail d'autres bactéries : c'est le cas par exemple des Bifidobactéries (*Actinobacteria*) et des Lactobacilles (*Firmicutes*) (Mosoni, 2014). Cette synergie d'action assure la dégradation complète de fibres végétales extrêmement variées qui précède l'étape de fermentation anaérobie.

Deuxièmement, les oses libérés au cours de l'étape d'hydrolyse sont pris en charge par bactéries glycolytiques, qui les transforment en composés intermédiaires (formate, succinate, lactate). Ces intermédiaires passent ensuite par différentes voies métaboliques pour être transformés en produits finaux de la fermentation qui sont les Acides Gras à Chaîne Courte (AGCC) et des composés gazeux. Ces AGCC sont l'**acétate** produit par la majorité des espèces prédominantes du côlon (*Bacteroides* spp., *Clostridium* spp...), le **propionate** synthétisé principalement par les genres *Bacteroides*, *Propionibacterium* et *Veillonella*, et enfin du **butyrate** produit par les espèces des genres *Eubacterium*, *Coprococcus*, *Roseburia*, *Faecalibacterium* (Mirande, 2009).

Ainsi, l'utilisation des oligosaccharides non digérés permet de récupérer plus de 2 Kcal d'énergie par gramme de fibres, profitable à l'hôte et aux bactéries commensales. Ce complément augmente l'utilisation énergétique des aliments ingérés. Les AGCC sont utiles aux bactéries du MIH et aux

cellules intestinales qui peuvent les utiliser comme source d'énergie : le butyrate est ainsi oxydé par les colonocytes pour produire de l'ATP directement utilisable pour accomplir les fonctions cellulaires, (Bäckhed F, 2004).

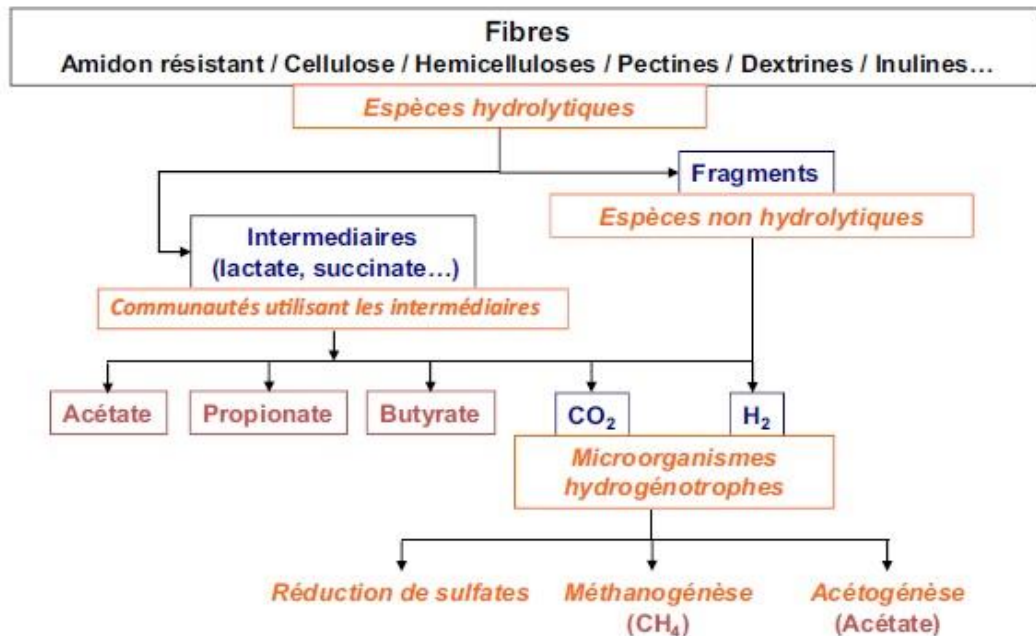


Figure 19 : Utilisation des fibres alimentaires par la chaîne trophique bactérienne intestinale (Doré, 2017)

C'est l'interaction étroite entre différents groupes bactériens qui conduira à l'obtention de produits finaux, les AGCC et les gaz de fermentation. Les espèces hydrolytiques (fibrolytiques et glycolytiques) sont les premières à initier la dégradation des fibres. Les produits intermédiaires et les fragments moléculaires seront pris en charge par d'autres communautés bactériennes.

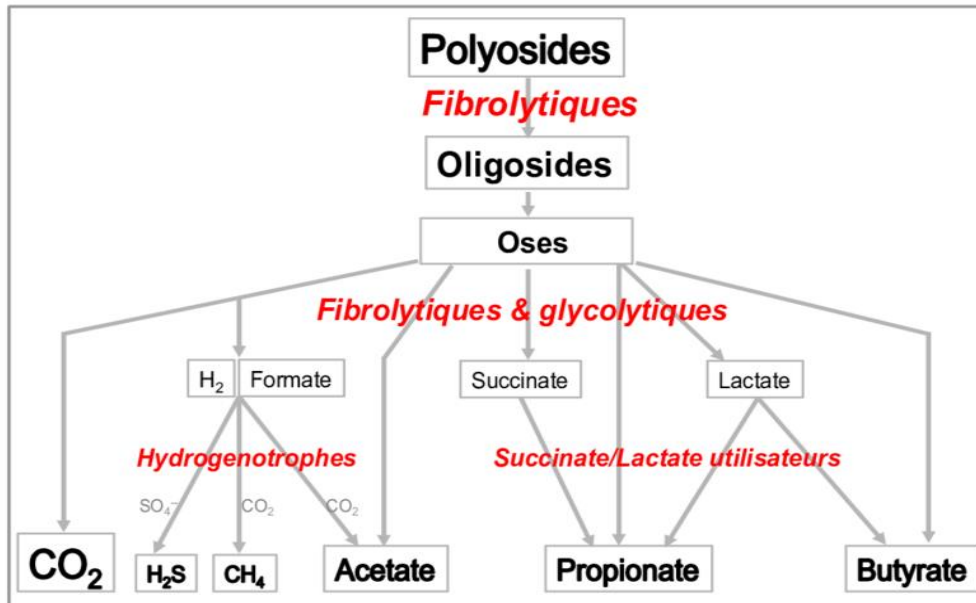


Figure 20 : Production de métabolites par la chaîne trophique de dégradation des polysides alimentaires (Mosoni, 2014).

Les termes en rouge font référence à des communautés fonctionnelles de bactériennes, c'est-à-dire des groupes bactériens ayant en commun une fonction. Par exemple, les bactéries capables de dégrader les fibres sont qualifiées de « fibrinolytiques ».

II.1.1.1.1.2 Le devenir des gaz issus de la fermentation glucidique

La dégradation des glucides produit aussi des gaz tels que le dioxyde de carbone (CO₂) et le dihydrogène (H₂). L'hydrogène est le gaz majoritairement produit lors des processus fermentaires et se retrouve chaque jour en grande quantité dans le côlon. L'élimination de ces gaz intestinaux, nécessaire au maintien de l'homéostasie intestinale et des mécanismes de fermentation, peut se faire par l'émission de gaz rectaux ou par voie pulmonaire, lors de l'expiration. Une certaine partie de l'hydrogène est cependant transformée *in situ* par des bactéries coliques dites hydrogénotrophes (Christl, 1992). L'utilisation d'hydrogène par les archées méthanogènes (présentes dans le Mc de 30 à 50 % des adultes) conduit à la production de méthane, tandis que les bactéries acétogènes le transforment en acétate. Les bactéries sulfatoréductrices, dont le genre le plus représenté est *Desulfovibrio*, transforment l'hydrogène en sulfures délétères pour les colonocytes à forte dose (Landman et Quévrain, 2015).

II.1.1.2 Le métabolisme des protéines

La masse des substrats protéiques qui parviennent à la partie distale de l'intestin quotidiennement varie entre 6 et 18 grammes par jour selon l'individu et son régime alimentaire (Bernalier-Donadille, 2010). Le MI participe à l'hydrolyse et à la fermentation (putréfaction) des substrats protidiques. De

la même manière que lors de la dégradation des glucides, le métabolisme des protéines fait intervenir plusieurs espèces ayant des activités complémentaires. La biodégradation des protéines est moins importante pour l'hôte en termes d'apport énergétique mais reste fondamentale pour le MI car elle constitue la principale source d'azote pour les bactéries coliques. Certaines espèces (appartenant aux genres *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Clostridium*) incapables de fermenter les glucides utilisent les acides aminés comme source principale d'énergie (Landman et Quévrain, 2015).

Les protéines sont formées d'un enchaînement plus ou moins long d'acides aminés, dont la structure tridimensionnelle variable est rendue grâce à la présence de liaisons peptidiques entre les acides aminés et de liaisons non covalentes établies à différents points de la chaîne. Les bactéries protéolytiques telles que *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Propionibacterium* spp., *Fusobacterium* spp., *Streptococcus* spp. et *Lactobacillus* spp. ont la capacité de dégrader les protéines par hydrolyse des liaisons peptidiques, ce qui libère des peptides (enchaînements d'acides aminés de plus petite taille). Certains groupes bactériens assimilent à leur tour les peptides, ce qui s'accompagne souvent de la libération d'acides aminés libres, fermentés cette fois par d'autres espèces. Le phénomène de fermentation des acides aminés résulte de plusieurs réactions d'oxydation et de réduction, dont la principale est la voie de désamination (réduction) qui aboutit à la formation d'ammoniac (NH₃) ainsi qu'à la production d'AGCC (acétate, butyrate, propionate). L'ammoniac représente une source majeure d'azote pour un grand nombre de bactéries coliques qui s'en servent pour produire des acides aminés essentiels à leur survie (Landman et Quévrain, 2015). Ce métabolite n'a en revanche pas d'utilité majeure pour l'hôte et une fois absorbé, il est converti en urée par le foie avant d'être excrété dans les urines.

II.1.1.3 Le métabolisme des lipides

Les lipides à disposition au niveau de la lumière colique ont plusieurs origines : par ordre d'importance, il y a les lipides alimentaires non absorbés par l'intestin grêle qui représentent de 5 à 8 grammes/jour, les lipides provenant de la desquamation des cellules épithéliales intestinales et enfin les lipides bactériens (<https://www.snfge.org>). Les lipides issus de l'alimentation sont majoritairement des Acides Gras (AG). Lorsqu'ils ne sont pas absorbés dans l'intestin grêle, ceux-ci arrivent dans le côlon où ils subissent plusieurs transformations (dont l'hydrolyse, l'oxydation-réduction et l'hydroxylation) assurées par les bactéries du MI colique (Landman et Quévrain, 2015).

Les acides biliaires pour la grande majorité d'entre eux suivent le cycle entéro-hépatique : après avoir été sécrétés dans la bile, ils sont réabsorbés au niveau de l'intestin grêle (iléon terminal) puis retournent au foie via la circulation portale, avant de retourner dans la bile. Seuls 5 % atteignent finalement le côlon où ils font l'objet d'une métabolisation par le MI colique (déconjugaison, oxydation, épimérisation, 7-alpha-déshydroxylation, désulfatation, etc.) qui mène à la production d'acides biliaires secondaires (Ridlon, 2006).

Certaines espèces des genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* sont capables de déconjuguer les acides biliaires. Ce mécanisme prépondérant favorise leur absorption passive en les rendant plus hydrophobes. (Landman et Quévrain, 2015). Les hormones stéroïdes et des xénobiotiques de nature hydrophobe suivent également un cycle entéro-hépatique et passent par les mêmes voies métaboliques avec conjugaison hépatique et déconjugaison par le MI.

Le cholestérol retrouvé au niveau du côlon est converti par le MI en coprostanol qui est éliminé dans les selles. Celui-ci provient en grande partie de la bile (70 %) et de façon plus minoritaire de l'alimentation (20 %) et de la desquamation des cellules épithéliales (10 %). En moyenne, 150 mg de cholestérol sont éliminés quotidiennement dans les selles (Lichtenstein, 1990). La capacité de transformation du cholestérol est très variable d'un microbiote à un autre, ce qui pourrait expliquer certaines prédispositions à l'hypercholestérolémie observée chez des individus.

II.1.2 Les métabolites bactériens : exemple des AGCC

L'influence du MI sur l'homéostasie énergétique de l'hôte s'exerce aussi de façon indirecte via la production de métabolites. La biotransformation de fibres alimentaires et de protéines aboutit à la formation d'AGCC (acétate, propionate, butyrate) dont une partie est absorbée au niveau des colonocytes. Ainsi, ces derniers (principalement l'acétate) se retrouvent dans le courant sanguin et influencent le métabolisme d'organes périphériques (Canfora, 2015).

II.1.2.1 Les AGCC influencent le métabolisme glucidique de l'hôte

Les AGCC sont les ligands de 2 récepteurs de la famille des Récepteurs Couplés à la Protéine G (GPR43 et GPR41, aussi nommés FFAR2 et FFAR3) retrouvés au niveau de la membrane des cellules épithéliales et immunitaires intestinales, mais aussi sur des sites extra-intestinaux tels que le tissu adipeux, le foie, le muscle squelettique et les îlots pancréatiques (Layden, 2013). Ces sites ont en commun d'être le siège d'importantes voies métaboliques. L'acétate est dirigé vers des organes tels que le muscle ou le rein où il participe à la réserve d'énergie. Le propionate, est utilisé dans le foie où il a un rôle dans la néoglucogenèse (Landman et Quévrain, 2015).

L'acétate et le propionate, en agissant *via* FFAR2, et le propionate et le butyrate *via* FFAR3, régulent la production d'hormones intestinales impliquées dans le métabolisme glucidique et la régulation de l'appétit (Tolhurst, 2012). La même équipe a démontré sur des modèles *in vitro* que la présence d'AGCC améliore la sécrétion *in vivo* de *Glucagon-Like Peptide 1* (GLP-1), hormone intestinale stimulant la production d'insuline par le pancréas. Ce mécanisme passerait par une augmentation de la concentration en ions calcium à l'intérieur de cellules L (entéro-endocrines) propice à l'exocytose (Tolhurst, 2012), et s'observerait aussi au niveau des cellules β du pancréas (figure 21). Chez des souris dont les gènes codant pour les récepteurs FFAR2 et FFAR3 ont été inactivés, on observe de plus faibles niveaux de GLP-1 circulant et une moindre tolérance au glucose (Tolhurst, 2012).

Les AGCC provoquent en outre l'activation par phosphorylation de la Protéine Kinase AMP dépendante (AMPK) qui exerce à son tour plusieurs actions en favorisant par exemple la constitution de réserves énergétiques *via* l'insuline. Cette hormone améliore la captation cellulaire du glucose et son stockage tissulaire sous forme de glycogène et inhibe la glycolyse (Canfora, 2015).

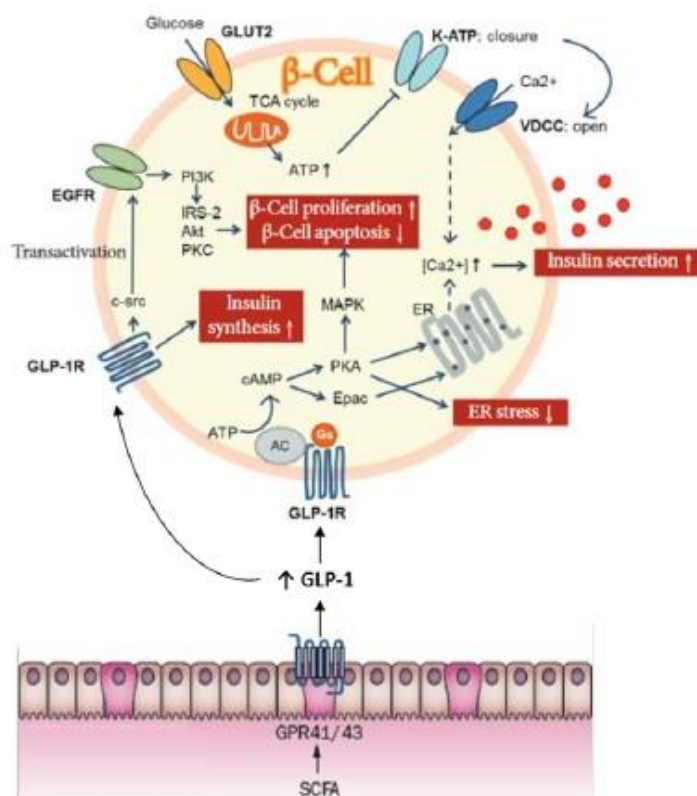


Figure 21 : Effet des AGCC circulants sur la sécrétion pancréatique d'insuline (Le Bourgot, 2016)

Les AGCC (acétate, propionate, butyrate) agissent sur les récepteurs épithéliaux (GPR41, GPR43) de leurs tissus cibles, ce qui déclenche la production de GLP-1. Cette hormone agit sur la cellule β pancréatique en stimulant la libération sanguine d'insuline par deux mécanismes complémentaires : la stimulation du récepteur membranaire GLP-1r provoque à la fois (1) la synthèse d'insuline et (2) la sécrétion d'insuline par des mécanismes dépendants de l'AMPc qui font jouer la libération de Ca^{2+} par le réticulum endoplasmique : l'augmentation du calcium intracellulaire entraîne en effet l'exocytose de vésicules d'insuline. Enfin, (3) le GLP-1r a une action sur le récepteur de l'EGF (Epidemial Growth Factor) qui est à l'origine de la prolifération des cellules β ainsi que de la diminution de leur apoptose.

II.1.2.2 Les AGCC influencent le métabolisme lipidique de l'hôte

La régulation du métabolisme lipidique par les AGCC se fait par régulation de la Lipoprotéine Lipase (LPL), enzyme qui hydrolyse les triglycérides des chylomicrons et lipoprotéines du plasma pour libérer des AG dans la circulation sanguine. Les AGCC ont une action globalement inhibitrice sur la LPL en diminuant son expression. Ainsi, la sous-expression de la LPL causée par l'acétate conduit à des

niveaux plus bas d'AG libres. Il a été observé chez la souris que la supplémentation en butyrate diminue la cholestérolémie et la triglycéridémie lorsque l'animal suit un régime riche en graisses (« *high-fat diet* ») (Gao, 2009).

Au niveau du Tissu Adipeux (TA), l'inhibition de la LPL favorise le stockage des triglycérides. Les conséquences de cette inhibition sont d'une part le stockage des AG dans le TA et d'autre part la diminution des AG circulatoires (Canfora, 2015). Au niveau du muscle, les AGCC diminuent l'accumulation des AG en favorisant leur l'oxydation (acétate, butyrate) et l'accroissement de la capacité stockage dans le TA (acétate, propionate) ce qui limite leur disponibilité. Au niveau du foie, l'acétate et le butyrate sont des substrats utilisés pour la lipogénèse (Canfora, 2015).

II.1.3 Synthèse de vitamines par le microbiote

Les vitamines font partie des micronutriments. Elles sont indispensables à faible dose au bon fonctionnement de l'organisme, mais ne peuvent être synthétisées en quantité suffisante par l'organisme. C'est pourquoi un apport exogène (alimentation) est souvent nécessaire pour couvrir les besoins. L'on sait aujourd'hui que les bactéries intestinales sont une source importante de vitamines pour l'Homme, en particulier par la production de vitamine K et de plusieurs vitamines du groupe B (Tableau 1).

Il a été observé qu'une antibiothérapie réduisait les taux sanguins de vitamine K et était susceptible de perturber l'hémostase. D'autre part, il est fréquent de voir apparaître une subcarence en vitamine K chez les patients qui présentent des altérations du MI (Colarelli, 2010). Les sujets âgés ou traités par anticoagulants doit être particulièrement vigilants lors de l'instauration d'une antibiothérapie à long terme.

Les personnes souffrant du syndrome de l'intestin irritable peuvent voir leur taux de vitamine B12 augmenter lorsque la pathologie est associée au développement d'une microflore de type colique au niveau de l'intestin grêle (phénomène du SIBO : *Small Intestine Bacterial Overgrowth*). La prolifération anormale de certaines bactéries productrices (particulièrement les genres *Pseudomonas* et *Klebsiella*) augmente la production de vitamines et peut entraîner de nombreux désagréments intestinaux (Colarelli, 2010).

Par ailleurs, en dégradant les fibres alimentaires, les bactéries libèrent un certain nombre de micronutriments (vitamines, polyphénols) et de minéraux qui sont « piégés » dans la structure moléculaire complexe des fibres et dont l'absorption serait impossible dans les parties hautes du TD. Au niveau du côlon, le MI rend ainsi nombre de molécules biodisponibles pour l'hôte, molécules aux propriétés diverses (antioxydantes, anti-inflammatoires) (Mosoni, 2014). De ce fait, le MI jouerait de façon indirecte un rôle protecteur vis-à-vis des cancers digestifs et de nombreuses pathologies intestinales (infectieuses ou inflammatoires) mais aussi, probablement, de pathologies systémiques.

Vitamine	implication
K	coagulation sanguine, métabolisme des os.
B12	synthèse de neuromédiateurs, synthèse de l'ADN, synthèse des acides gras
B9	synthèse de l'ADN, synthèse de certains acides aminés
B6	métabolisme des acides aminés, réaction d'hydrolyse du glycogène en glucose
B8	métabolisme des acides gras, des glucides et des acides aminés, ainsi qu'à la biosynthèse des vitamines B9 et B12.
B2	transformation des aliments simples (glucides, lipides et protéines) en énergie, métabolisme de réparation des muscles

Tableau 1 : Vitamines synthétisées par le microbiote et leur rôle sur l'organisme (Frayssinhes, 2017)

II.2 L'immunité intestinale et ses relations avec le microbiote

Le TD représente la plus grande surface du corps exposée à l'environnement. Les cellules qui tapissent sa paroi sont en contact direct et constant avec de très nombreux antigènes provenant du milieu extérieur. Au cours de l'évolution, la mise en place d'un SI complexe, efficace, et adaptable aux antigènes de nature très diverse a donc été une condition essentielle à la survie.

L'immunité intestinale intègre de nombreux facteurs à son fonctionnement. Il existe un SI intestinal, à la topographie caractéristique, qui a son propre mode de fonctionnement mais communique avec les autres éléments de l'immunité. Le MI, adapté à l'environnement tissulaire de leur hôte, participe aussi à ce mécanisme de défense. De façon très schématique, l'immunité intestinale peut être séparée en une composante innée et une composante adaptative. Cette sous-partie traitera des deux volets de l'immunité et décrira leurs principaux effecteurs cellulaires et structurels.

II.2.1 L'immunité innée de la muqueuse intestinale

L'immunité innée constitue la première ligne de défense contre les agents infectieux et pathogènes. Elle présente l'avantage d'être mise en place immédiatement, et a pour particularité d'être aspécifique vis-à-vis des antigènes.

Elle met en jeu plusieurs modules de défense :

- Des modules constitutifs, qui sont des barrières physiques comme la peau ou les muqueuses.
- Des modules induits, qui sont cellulaires. Il s'agit par exemple de la phagocytose et la réponse inflammatoire.

II.2.1.1 Les modules constitutifs de l'immunité innée

II.2.1.1.1 La paroi intestinale

L'un des éléments majeurs de l'immunité muqueuse est la paroi gastro-intestinale. La paroi, membrane imperméable, se compose schématiquement de 4 tuniques cellulaires superposées : une muqueuse, une sous-muqueuse, une musculuse et une séreuse. La muqueuse intestinale est constituée d'un épithélium unistratifié de revêtement qui repose sur un tissu conjonctif de soutien, la *lamina propria*, ainsi que d'une fine couche de muscle lisse appelée *muscularis mucosae* qui constitue la limite avec la sous-muqueuse. La musculuse permet, en se contractant, le mouvement de la muqueuse, et la séreuse permet le glissement. Au niveau du TD, l'immunité innée est principalement concentrée au niveau de la muqueuse. Les acteurs de l'immunité innée intestinale sont : les cellules épithéliales, les cellules présentatrices de l'antigène, et quelques infiltrats de lymphocytes disséminés dans la *lamina propria*.

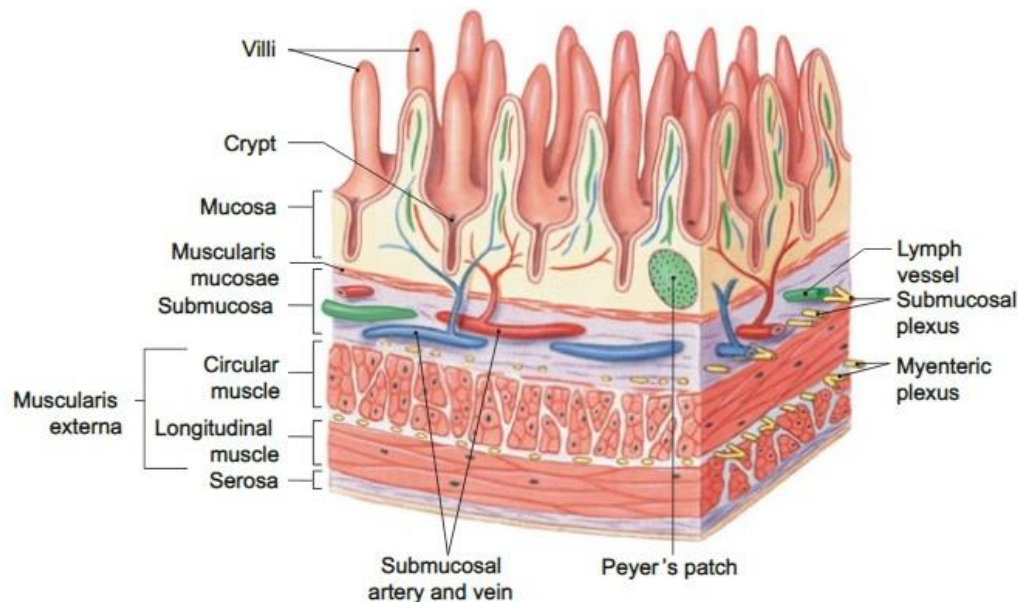


Figure 22 : Coupe transversale de l'intestin grêle montrant les étages de la muqueuse et de la musculuse (<https://slideplayer.com>)

II.2.1.1.2 La barrière épithéliale intestinale

II.2.1.1.2.1 Structure et composition de l'épithélium

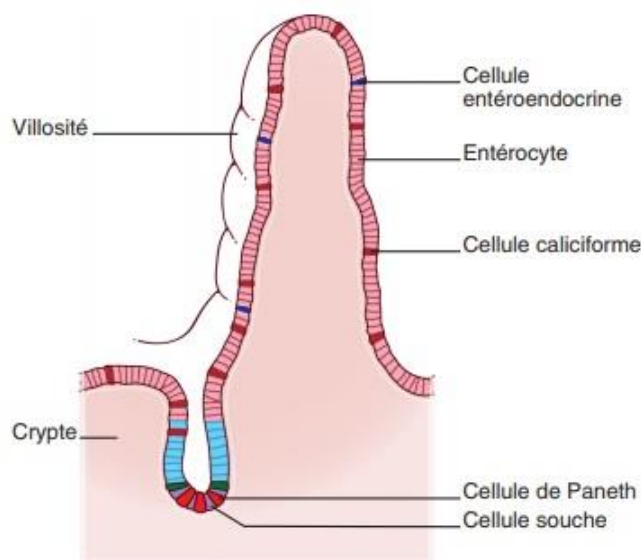
L'épithélium intestinal est la partie la plus extérieure de la muqueuse. Il représente une surface de plus de 300m² de contact direct avec la lumière intestinale. Cette immense surface est atteinte grâce à la morphologie particulière de l'épithélium qui forme de nombreux replis, plus marqués au niveau de l'intestin grêle. On distingue deux types de replis : les villosités (évaginations) et les cryptes (invaginations). Au niveau de l'intestin grêle on retrouve les deux types de replis alors qu'au niveau

du côlon, seules les cryptes sont présentes. De plus, l'entérocyte, type cellulaire majoritaire de l'épithélium, possède au niveau de son pôle apical (surface en contact avec le lumen) des microvillosités qui sont des ondulations régulières de la membrane plasmique formant une structure appelée « bordure en brosse » qui augmente encore la surface de contact avec l'extérieur.

L'épithélium intestinal est constitué d'autres types cellulaires (figure 23) :

- Les **cellules caliciformes** (ou cellules en gobelet), disséminées entre les entérocytes. Elles sécrètent des mucines, famille de glycoprotéines qui entrent dans la composition du *mucus* ;
- Les **cellules entéro-endocrines** (productrices d'hormones) ;
- Les **cellules de Paneth** (situées au fond des cryptes, produisent des substances antimicrobiennes)
- Les **cellules M** (aussi appelées « *Microfold cells* »). Ces cellules particulières sont situées au niveau de zones particulières de l'épithélium appelées Plaques de Peyer. Elles ont un rôle dans la phagocytose et l'internalisation de pathogènes, ainsi que dans l'immunité intestinale.

Comme tout tissu, l'épithélium subit des dommages. Le péristaltisme intestinal, les agressions environnementales mais aussi le vieillissement cellulaire sont autant de facteurs qui obligent l'épithélium à renouveler ses cellules afin que son intégrité soit préservée. Ce renouvellement qui se produit de manière soutenue est assuré par la division des entérocytes eux-mêmes (mitose), mais aussi grâce à un pool de **cellules souches** située au niveau des cryptes.



*Figure 23 : Principales populations cellulaires de l'épithélium dans les villosités et cryptes
(<https://www.snfge.org>)*

II.2.1.1.2.2 Fonction de protection de l'épithélium

L'épithélium a un double rôle dans l'intestin, c'est lui qui assure l'absorption sélective de nutriments vers la circulation sanguine tout en étant protecteur des agressions extérieures. Du fait de sa très grande surface d'absorption, il s'agit de la plus grande porte d'entrée vers la circulation sanguine pour les MO pathogènes ou commensaux. Des mécanismes de défense sont donc nécessaires pour conserver l'intégrité des tissus environnants.

La composante physique de la protection est assurée par l'épithélium et le *mucus*. Structurellement, les entérocytes sont reliés entre eux par des jonctions intercellulaires appelées jonctions serrées. Celles-ci renforcent la cohésion des cellules entre elles, donnent au tissu une résistance mécanique et rendent étanche l'interface entre l'épithélium et le *lumen*. Le *mucus* est un enchevêtrement de glycoprotéines produit par les cellules caliciformes de l'épithélium intestinal, qui forme une couche répartie sur l'ensemble de la muqueuse digestive avec une abondance relative selon la localisation : elle devient considérable au niveau de l'iléon terminal et est maximale au niveau du côlon.

La barrière physique est renforcée par une barrière chimique : les cellules épithéliales produisent des substances antimicrobiennes, les Peptides Antimicrobiens (PAM) dont fait partie le groupe des défensines. Les PAM constituent un deuxième moyen de lutte ont une action enzymatique, par l'attaque de la paroi bactérienne, ou rupture de la membrane. Certains sont synthétisés à l'état basal et d'autres sont inductibles (par la rencontre avec un antigène) Toutes les cellules constituant l'épithélium sont capables d'en synthétiser, mais certains types cellulaires le font de manière exclusive, comme les cellules de Paneth. Un exemple de PAM particulièrement bien caractérisé est **RegIIIy**, car il est possible de provoquer sa synthèse en colonisant le TD de souris axéniques. Ce peptide a un effet bactéricide direct sur les bactéries Gram-positives en se liant à leur couche de peptidoglycane (*Cash, 2006*).

II.2.1.1.3 La lamina propria

La *lamina propria* (également appelée « *chorion* ») est un tissu conjonctif lâche histologiquement situé sous les épithéliums, notamment digestif, respiratoire et urogénital. Au niveau digestif, elle est localisée sous l'épithélium et sur la musculature. Il s'agit d'un tissu physiologiquement très actif qui a une fonction de soutien de l'épithélium. Très richement vascularisée, elle permet aussi le passage de nutriments sanguins vers les cellules épithéliales. Enfin, elle joue un rôle dans l'immunité innée car elle est infiltrée de cellules immunitaires capables de phagocytose et de présentation de l'antigène.

II.2.1.1.4 Les bactéries intestinales « associées » à la muqueuse

Il convient en premier lieu de faire une distinction entre la **flore de transit** et la **flore résidente** du TD. La première, également nommée « flore allochtone » est composée de bactéries à faible pouvoir

d'implantation, présentes de manière transitoire dans le TD. Ce sont essentiellement les bactéries mises en contact avec la muqueuse digestive par l'alimentation et l'eau de boisson. Présentes en petit nombre, elles peuvent toutefois être à l'origine d'infections si elles sont pathogènes (*Chalabi, 2017*). La flore résidente, ou « flore autochtone » désigne la totalité des bactéries présentes en permanence dans le TD depuis sa mise en place. C'est cette flore qui s'implante dans des sites spécifiques et module la physiologie de l'hôte (*Chalabi, 2017*).

II.2.1.1.4.1 Participation des bactéries à l'effet barrière

Les bactéries résidentes trouvent dans les replis muqueux du TD un environnement adapté à leur survie et développement. Les nombreux sites d'adhérence à la muqueuse rendent possible l'implantation « physique » des bactéries. En particulier, la présence d'un *mucus* dont les mailles forment avec les bactéries un véritable biofilm permet d'isoler la muqueuse digestive du milieu extérieur.

L'effet de barrière repose sur plusieurs mécanismes. Les bactéries résidentes du TD entrent en compétition avec les pathogènes pour l'accès aux nutriments et aux sites d'adhérence épithéliaux. Les bactéries commensales étant les plus nombreuses et le mieux adaptées à l'écosystème intestinal, c'est elles qui ont le dessus sur les autres. Celles-ci produisent également des bactériocines, substances aux propriétés antibiotiques. Enfin, le MI renforce la cohésion des cellules épithéliales en renforçant les jonctions serrées (<https://www.snfge.org>).

II.2.1.2 Les modules induits de l'immunité innée

II.2.1.2.1 L'immunité innée médiée par des récepteurs

La réponse immunitaire innée est initiée à la suite d'une interaction entre un récepteur du soi, appelé PRR « *Pattern Recognition Receptor* » capable de reconnaître nos propres constituants cellulaires, et un ligand qui est une molécule du « non-soi ».

II.2.1.2.1.1 Les motifs associés aux pathogènes (PAMP)

Les Motifs Moléculaires Associés aux Pathogènes (en anglais *Pathogen Associated Molecular Patterns*, **PAMP**) représentent une grande famille de molécules retrouvées au niveau de MO pathogènes. Il s'agit le plus souvent de motifs structurels synthétisés de manière constitutive par le MO. De nature diverse (protéique, glucidique, lipidique), ils sont de composition stéréotypée et sont demeurés très conservés au cours de l'évolution. Un exemple de PAMP est le lipopolysaccharide (LPS), considéré comme une endotoxine. C'est constituant de la membrane des bactéries à Gram négatif.

II.2.1.2.1.1.1 Les PRRs

Des récepteurs de l'immunité innée, regroupés sous le nom de **PRR** (*Pattern Recognition Receptors*) sont en mesure de reconnaître ces composés du « non-soi ». Ces groupes de récepteurs de nature protéique sont exprimés au niveau membranaire chez certaines cellules immunitaires eucaryotes telles que les Cellules Présentatrices d'Antigène (CPA) (macrophages, cellules dendritiques) et certaines cellules résidentes (fibroblastes, cellules musculaires), mais aussi sur les épithéliums de contact dont fait partie l'épithélium intestinal. Chez l'organisme eucaryote, le contact des PAMP avec les cellules immunitaires est capable de déclencher une réponse immunitaire innée.

Il existe différents types de PRR. Les mieux caractérisés sont les Toll-Like Receptors (**TLR**) qui sont des récepteurs transmembranaires. Il en existe dix chez l'Homme, capables de reconnaître une grande variété de PAMPs d'origine bactérienne, fongique, parasitaire et virale. Les NOD-like receptors (**NLR**) sont autre famille de plus de 20 récepteurs intracellulaires. Moins représentés, ils ont pour rôle la détection des PAMPs cytoplasmiques, principalement des constituants viraux. D'autres sous-groupes de PRR participent au signal danger comme les *RIG-I-Like Receptors*, récepteurs cytoplasmiques aux ARN d'origine virale ou encore les *C-type Lectin-like Receptors* sensibles aux motifs glucidiques contenus dans les parois fongiques (<https://www.snfge.org>), mais ces derniers ne sont pas traités au cours de ce travail.

II.2.1.2.1.1.2 La signalisation PAMP-PRR

La signalisation PAMP-PRR est un élément important de l'immunité innée médiée par des récepteurs. Les PRR participent à la barrière immunitaire innée grâce à leur fonction de reconnaissance. Récepteurs polymorphes, ils sont impliqués dans la détection et l'élimination de MO pathogènes. L'activation des PRR au niveau du pôle apical des cellules épithéliales intestinales induit la production de PAM, la sécrétion de cytokines et le recrutement de polynucléaires neutrophiles et de macrophages (<https://www.snfge.org>). Les TLR initient et orientent les réponses dirigées contre les pathogènes. Leur activation donne lieu à différentes voies de signalisation qui conduisent à l'élimination, notamment par phagocytose, du MO détecté. La stimulation des TLR permet aussi l'expression des facteurs de transcription NF- κ B et AP1 qui entraînent la production de cytokines inflammatoires comme le TNF α (*Tumour Necrosis Factor α*), et les interleukines (IL1 ou IL6) (Moynagh, 2005) et participent à l'activation des caspases, molécules de la classe des protéases. Ces dernières sont indispensables au bon déroulement de la réaction inflammatoire car elles sont impliquées dans l'apoptose (mort cellulaire) des cellules infectées (Lehner, 2007).

Les récepteurs TLR jouent un grand rôle dans l'homéostasie du MI. Ils sont impliqués dans l'élimination de bactéries pathogènes pour le TD, mais aussi dans le maintien à des niveaux stables des populations bactéries commensales. De cette manière, elle empêche que certaines d'entre elles n'atteignent, dans un milieu favorable à leur reproduction, des niveaux qui deviendraient délétères pour l'organisme hôte. Des études menées chez la souris ont conclu que le signal TLR est essentiel à

l'élimination de bactéries qui parviennent à traverser l'épithélium et atteignent la muqueuse. L'inhibition expérimentale des TLR a conduit à une colonisation systémique des souris par les bactéries digestives qui ont traversé la barrière épithéliale et sont passées dans la circulation sanguine (Slack, 2009).

La signalisation par les PRR serait d'autre part à l'origine de mécanismes de tolérance envers les populations bactériennes faisant normalement partie de la microflore commensale. En présence de ces bactéries, le SI inné n'est pas activé afin de préserver ces populations. Sur des modèles murins, l'inhibition des TLR conduit à hausse de la production d'anticorps dirigés contre des bactéries commensales, ce qui montre que l'immunité adaptative est mise en route dans des situations où elle n'est pas nécessaire en temps normal (Slack, 2009).

II.2.1.2.2 L'immunité innée par présentation d'antigènes

Lorsque l'agent infectieux parvient à pénétrer dans l'organisme, les modules induits de l'immunité innée prennent le relais. Une fois reconnu, l'agent infectieux est phagocyté par une cellule phagocytaire qui sera à l'origine du signal danger, et qui activera ainsi la réaction inflammatoire à l'endroit où elle est entrée en contact avec l'agent pathogène.

II.2.1.2.2.1 Les Cellules Présentatrices d'Antigènes

Les cellules capables de phagocyter et de présenter l'antigène sont regroupées sous le nom de Cellules Présentatrices d'Antigènes (CPA). Celles-ci sont retrouvées en grande partie dans la *lamina propria*. On en distingue deux grands groupes qui sont les Cellules Dendritiques (CD) et les macrophages, bien qu'il existe une grande variété de CPA avec des caractéristiques aux CD et aux macrophages, comme les cellules M présentes au niveau de l'épithélium. Les CPA sont responsables de la phagocytose puis de la dégradation intracellulaire des antigènes luminaux. Les fragments antigéniques dégradés sont ensuite présentés à leur surface, sous forme de peptides associés au Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II (CMH-II).

Les **CD** sont parfois nommées CPA professionnelles car la présentation d'antigène est leur principale fonction. Elles se trouvent dans la *lamina propria* et dans les relais ganglionnaires du SI intestinal, mais peuvent avoir d'autres localisations (telles que la peau et les épithéliums muqueux où elles prennent le nom de Cellules de Langerhans). Elles sont pourvues de dendrites de grande taille, ramifiées, qui augmentent leur capacité à capter l'antigène (Morin, 2012). Ces dendrites peuvent parfois s'insérer entre les cellules épithéliales pour aller capter un antigène présent dans la lumière intestinale.

Les **macrophages** sont des cellules phagocytaires résidentes des tissus spécialisées dans la phagocytose. Ils proviennent de la différenciation de leucocytes sanguins circulants, les monocytes, et de leur migration vers les tissus. La migration dans les tissus leur permet de participer à l'immunité

innée mucoale par la phagocytose, et à contribuer à l'immunité adaptative en se comportant comme une CPA. D'autres cellules peuvent migrer du courant sanguin vers les tissus et devenir cellules phagocytaires, c'est le cas des polynucléaires neutrophiles.

Les **cellules M** (ou cellules « *Microfold* ») sont incluses au sein de l'épithélium intestinal au niveau de zones particulières qui sont les Plaques de Peyer (PP), siège de l'immunité adaptative intestinale. Ces cellules sont capables d'endocyter les antigènes de la lumière intestinale et de les transporter vers d'autres types cellulaires du SI sous-jacent, dont les CPA. Elles peuvent constituer une porte d'entrée pour certains MO pathogènes qui les utilisent pour traverser la barrière épithéliale, c'est le cas par exemple de *Yersinia enterocolitica* et *Salmonella typhi* (Albac, 2015).

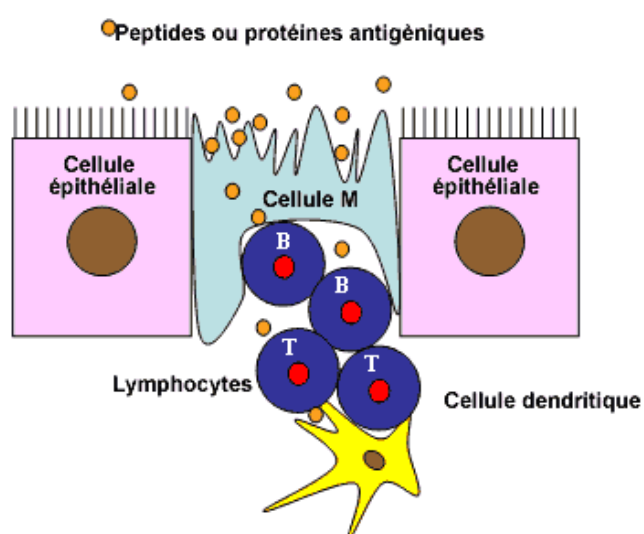


Figure 24 : Rôle de présentation d'antigène par les cellules M (<https://www.3trois3.com>)

Les antigènes de nature protéique ou peptides sont prélevés directement dans la lumière intestinale par les cellules M qui les phagocytent puis les présentent aux cellules immunitaires de la Plaque de Peyer sous-jacente. Le relais immunitaire par les lymphocytes B et T permet la mise en place de l'immunité adaptative.

II.2.1.2.2.2 La présentation de l'antigène aux cellules immunitaires

Lorsqu'un MO pathogène est phagocyté par une CPA à la suite d'une réaction PRR-PAMP, la présentation de peptides par cette dernière est un signal pour d'autres cellules immunitaires qui vont prendre le relais, comme les Lymphocytes B (LB) qui rendront la réaction immunitaire spécifique de l'antigène grâce à la production d'anticorps. L'une des fonctions principales des CPA est donc d'être des intermédiaires entre l'immunité innée et l'immunité adaptative.

La présentation d'un antigène par la CPA requiert la formation d'un complexe liant une protéine de surface de la CPA, le Complexe Majeur d'Histocompatibilité de Classe II (CMH-II) et la particule antigénique internalisée et dégradée. Ce n'est que de cette manière que l'antigène pourra être

reconnu par un Lymphocyte T (LT) qui est la cellule-cible. Le LT reconnaît le complexe CMH-II/antigène grâce à un récepteur particulier, le TCR (« *T Cell Receptor* »). La rencontre entre une CPA et le LT active ce dernier et déclenche le relais immunitaire (Morin, 2012).

Comme tous les MO, les bactéries du MI expriment à leur surface des PAMP reconnus par des cellules de l'immunité innée qui les phagocytent et les présentent. Cependant, les *stimuli* provoqués par les PAMP de ces bactéries commensales ne provoquent pas de réponse immunitaire dans la plupart des cas. En effet, la cohabitation de l'hôte avec son microbiote n'est possible qu'à condition que le SI de l'hôte se montre tolérant vis-à-vis de la flore commensale. La signalisation PRR-PAMP, dans des conditions physiologiques, est à l'origine de la tolérance de l'hôte pour les bactéries commensales et les bactéries extérieures susceptibles de s'implanter dans le TD. En revanche, lorsqu'une espèce commensale se développe excessivement et menace l'homéostasie du MI, la réaction immunitaire peut être initiée afin de réguler son nombre. Dans d'autres cas, des réactions immunitaires aberrantes dirigées contre le MI peuvent donner lieu à des déséquilibres de population et à un environnement inflammatoire chronique chez l'hôte. Ces réactions exagérées contre les composants du « soi » sont le socle de plusieurs pathologies du TD comme nous l'expliquerons ultérieurement.

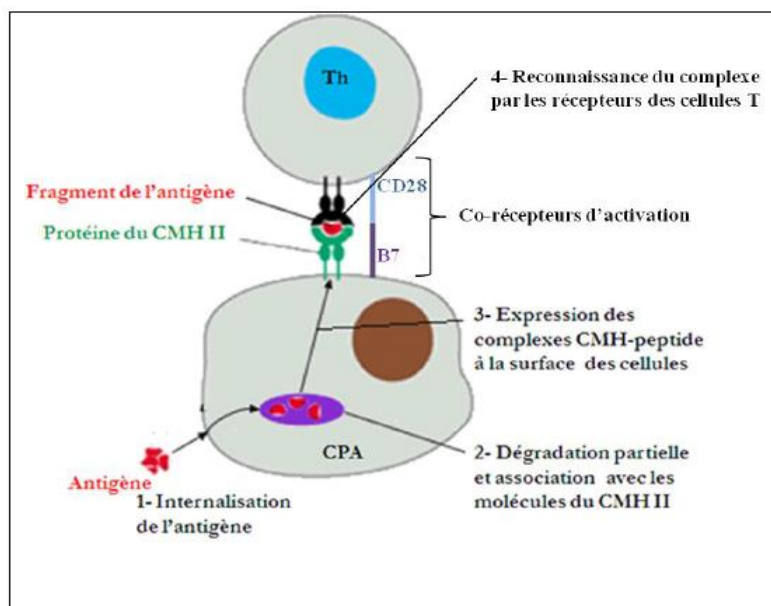


Figure 25 : Reconnaissance par un lymphocyte T d'un antigène présenté par une molécule de CMH de type II (<http://www.virologie.free.fr>)

L'internalisation et la dégradation de l'antigène par la CPA sont des conditions préalables à sa présentation. C'est la protéine du CMH-II qui permet la présentation de l'antigène et sa reconnaissance par le TCR de la cellule T. À la suite de ce contact, la formation d'une zone de contact entre les deux cellules, la synapse, donne lieu à des réarrangements protéiques au niveau du lymphocyte. Les CPA expriment également des molécules de costimulation indispensables à l'activation.

II.2.2 L'immunité adaptative du Tube Digestif

L'immunité adaptative vient compléter l'action de l'immunité innée lorsque celle-ci est incapable à elle seule de juguler la présence d'un antigène reconnu comme pathogène. L'immunité adaptative a des caractéristiques fondamentalement différentes de l'immunité innée : elle est spécifique, car la réaction immunitaire n'est dirigée que contre un seul antigène. Sa mise en place est longue (plusieurs jours) et son déroulement permet l'élimination du pathogène et la constitution d'une mémoire immunitaire absente de l'immunité innée. L'immunité adaptative compte d'autres acteurs cellulaires localisés dans des sites particuliers que l'on peut schématiquement classer en sites inducteurs et en sites effecteurs (<https://www.snfge.org>).

II.2.2.1 Les constituants de l'immunité adaptative

II.2.2.1.1 Le GALT

La première ligne de défense assurée en grande partie par l'épithélium est soutenue par un SI complexe rattaché à la muqueuse. Le Tissu Lymphoïde Associé au Tube Digestif (**GALT**, pour l'anglais « *Gut Associated Lymphoid Tissue* ») correspond à un type particulier de SI. Il est classé parmi les organes lymphoïdes secondaires (à la différence des organes primaires qui sont le *thymus* et la moelle osseuse). Il fait partie d'un groupe plus large de systèmes qui est le Tissu Lymphoïde Associé aux Muqueuses (**MALT**, pour l'anglais « *Mucosa-Associated Lymphoid Tissue* »). Commun à tous les mammifères, le GALT est généralement considéré comme le premier organe lymphoïde secondaire et sa teneur en LB dépasserait celle de la rate, de la moelle osseuse et des ganglions lymphatiques pris ensemble (*Kindt, 2007*). Il comporte un tissu lymphoïde diffus (infiltrant toutes les muqueuses) et des structures individualisées histologiquement. Il est situé à l'interface entre la muqueuse digestive et le milieu extérieur.

Le GALT est composé de plusieurs sous-éléments. Globalement, il s'organise en sites inducteurs, lieux de reconnaissance où débute la réponse adaptative, et en sites effecteurs, où circulent des sous-populations de lymphocytes à l'origine de la neutralisation des pathogènes, de la destruction des cellules infectées et du maintien de la tolérance orale (*Le Bourgot, 2016*).

II.2.2.1.1.1 Les sites inducteurs du GALT

Les sites inducteurs de l'immunité adaptative au niveau intestinal sont au nombre de trois, tous identifiables macroscopiquement (*Le Bourgot, 2016*). :

- Les Plaques de Peyer (PP),
- les ganglions mésentériques (MLN, pour l'anglais « *Mesenteric Lymph Nodes* »)
- les follicules lymphoïdes isolés.

Les **Plaques de Peyer** ont été décrites pour la première fois par Johan Conrad Peyer au XVIIème siècle. Ce sont des agrégats de follicules lymphoïdes primaires et secondaires (de 5 à 200) riches en LB, et des zones inter-folliculaires plus diffuses, riches en LT (immunité cellulaire) et en CD. Ces follicules sont recouverts par un épithélium spécifique, l'épithélium associé aux follicules (FAE, pour l'anglais « *Follicle Associated Epithelium* »). Le FAE se distingue du reste de l'épithélium intestinal par l'absence de villosités, une bordure en brosse moins prononcée, et une large infiltration par des cellules de l'immunité telles que les lymphocytes, macrophages et CD (Jacquier, 2014). Le FAE comporte des cellules M qui servent à la transcytose des antigènes alimentaires et bactériens de la lumière intestinale vers l'intérieur des PP (Corr, 2008).

Les **ganglions mésentériques** sont des relais lymphatiques situés plus en profondeur dans la muqueuse intestinale. Ils sont reliés aux PP par des vaisseaux lymphatiques afférents au sein desquels peuvent circuler des cellules immunitaires. Les MLN sont aussi le point de départ d'une circulation efférente de lymphes qui redistribue des cellules immunitaires en surface ou vers la circulation lymphatique systémique où elles rejoignent la circulation sanguine.

Les **follicules lymphoïdes isolés** représentent des structures de taille réduite, retrouvées en grand nombre dans le TD avec une prédominance au niveau de l'iléon (<https://www.snfge.org>). Comme les Plaques de Peyer, ils se situent sous l'épithélium et sont recouverts par un FAE, mais à la différence des PP, ils n'ont pas de vaisseaux lymphatiques afférents ou efférents et ne communiquent donc pas directement avec d'autres formations lymphoïdes. Ils abritent une population cellulaire plus faible du fait de leur taille réduite.

II.2.2.1.1.2 Les sites effecteurs du GALT

Les sites effecteurs du GALT consistent en un réseau diffus et plus ou moins dense de cellules immunitaires disséminées au niveau la lamina propria (LT, LB, CPA) et de l'épithélium (lymphocytes intra-épithéliaux) (Le Bourgot, 2016). Les sites effecteurs répondent à la stimulation par des CPA migrant depuis les sites inducteurs ou la lamina *propria*. L'activation des cellules effectrices déclenche plusieurs phénomènes :

- La différenciation de LB en plasmocytes producteurs d'anticorps et la division clonale des plasmocytes.
- La prolifération de LT CD4+/CD8+ et de LT_h régulateurs de l'immunité.
- La production de cytokines par les lymphocytes.

II.2.2.1.1.2.1 Les lymphocytes

Les principales cellules de l'immunité adaptative sont les lymphocytes. Ces cellules se développent au niveau de la moelle osseuse à partir de cellules souches hématopoïétiques. A un certain stade, ces cellules souches deviennent des progéniteurs lymphocytaires communs. Une partie des progéniteurs restent dans la moelle osseuse et deviennent des LB, les autres migrent vers le thymus pour finir leur

maturation et former des LT. Les lymphocytes devront cependant rencontrer un premier antigène pour acquérir leur pleine fonction. Les lymphocytes matures qui n'ont pas encore rencontré d'antigènes sont qualifiés de naïfs.

Les **lymphocytes B** assurent l'immunité à médiation humorale. L'immunité humorale a pour but l'élimination des pathogènes extracellulaires et des toxines qu'ils produisent. Les LB naïfs possèdent un anticorps de membrane qui est une immunoglobuline de type M. La stimulation de celui-ci par un antigène active le lymphocyte qui subit des réarrangements géniques et se différencie en une cellule (le plasmocyte) capable de sécréter des anticorps spécifiques de l'antigène.

Les **lymphocytes T** assurent l'immunité à médiation cellulaire. Ce type d'immunité a pour but de combattre les pathogènes à tropisme intracellulaire en détruisant (par cytolyse) les cellules infectées par ces pathogènes. C'est également l'immunité cellulaire qui repère et détruit certaines cellules devenues « anormales » telles que les cellules cancéreuses. L'expression de marqueurs spécifiques à la surface des LT, les *Clusters* de Différenciation (CD4, CD8), permet de les diviser en deux sous-populations majeures : les LT auxiliaires ou « helper » (**LTh**) qui expriment la molécule CD4 et les lymphocytes dits cytotoxiques (**LTc**) qui expriment la molécule CD8. Les LT CD4+ produisent des cytokines et communiquent avec d'autres types cellulaires, ce qui en fait des cellules indispensables à la régulation de l'immunité (Le Bourgot, 2016).

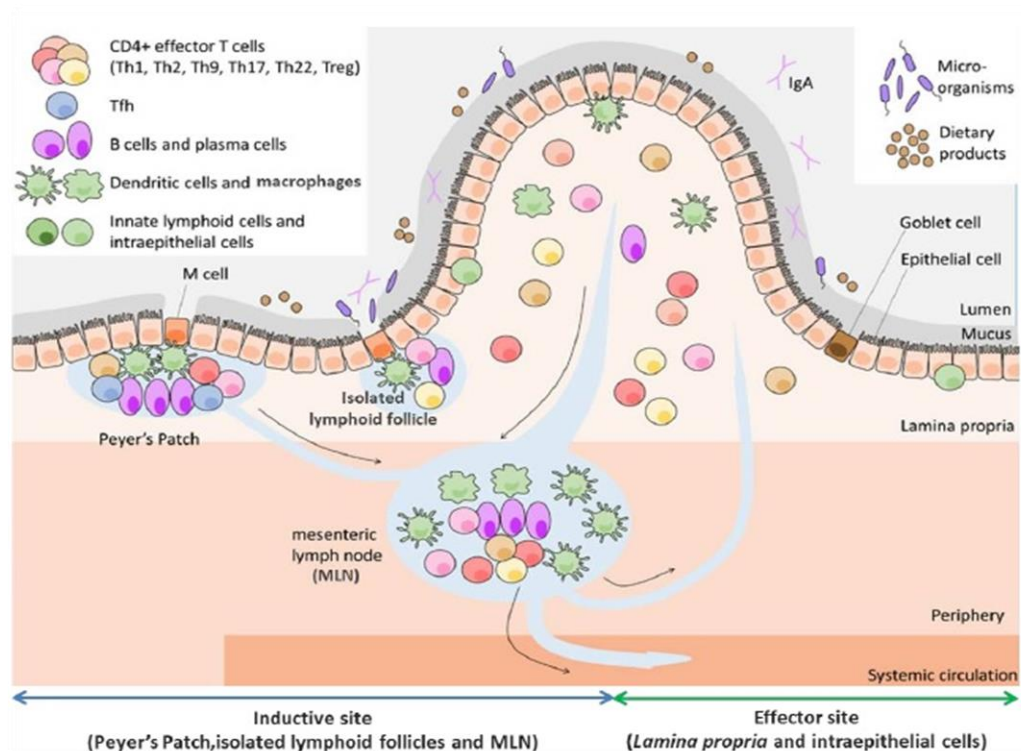


Figure 26 : Sites inducteurs et effecteurs du GALT et populations cellulaires associées (Le Bourgot, 2016)

II.2.2.2 Mode d'action de l'immunité adaptative

II.2.2.2.1 Mise en route au niveau du GALT

La mise en route de l'immunité adaptative est plus longue (souvent plusieurs jours) car elle fait intervenir davantage d'intermédiaires cellulaires. Néanmoins, elle est un moyen plus efficace de lutte contre l'antigène. Les mécanismes adaptatifs sont sous la dépendance de populations lymphocytaires préalablement activées dans les sites d'induction.

II.2.2.2.1.1 Capture des antigènes de la lumière intestinale

Les cellules du GALT peuvent prélever des antigènes *in situ* de plusieurs manières :

- Directement dans la lumière intestinale, par le biais des CD qui sont dotées de prolongements cytoplasmiques, les dendrites, qu'elles peuvent projeter entre les membranes des cellules épithéliales (figure 27).
- Par les cellules M qui ont la capacité de les internaliser par endocytose, phagocytose ou transcytose afin de les transférer aux CD localisées sous l'épithélium des Plaques de Peyer. Les CD apprêtent l'antigène capturé et le présentent grâce aux molécules de CMH de classe II (*Le Bourgot, 2016*).
- Lorsque qu'ils sont de petite taille et hydrophobes, les antigènes peuvent traverser les pôles apical et basal des cellules épithéliales et se retrouver dans la *lamina propria* sans passer par le GALT. Les cellules phagocytaires (macrophages, CD) peuvent à ce moment-là les phagocyter.

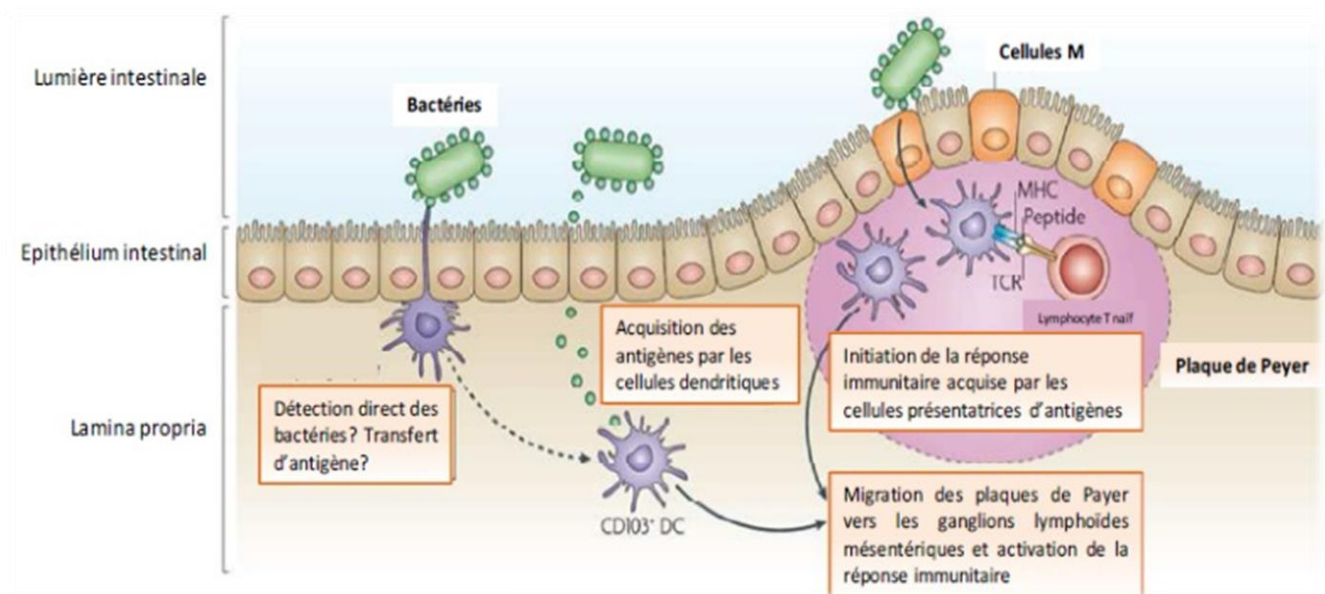


Figure 27 : Mécanismes de capture de l'antigène par les cellules dendritiques intestinales (Cerf-Bensussan, 2010)

II.2.2.2.1.1.1 Contact des molécules de CMH II avec les cellules inductrices

Depuis les Plaques de Peyer, les CPA (principalement des CD) migrent à travers les canaux lymphatiques pour présenter l'antigène aux cellules inductrices des ganglions lymphoïdes. Les CPA migrent aussi depuis la *lamina propria* d'où elles sont drainées. Les ganglions lymphatiques sous-muqueux sont remplis de LT dits naïfs (n'ayant jamais rencontré d'antigène) mais la présentation de l'antigène par les CPA via le CMH-II leur permet d'acquérir leur pleine fonction immunologique.

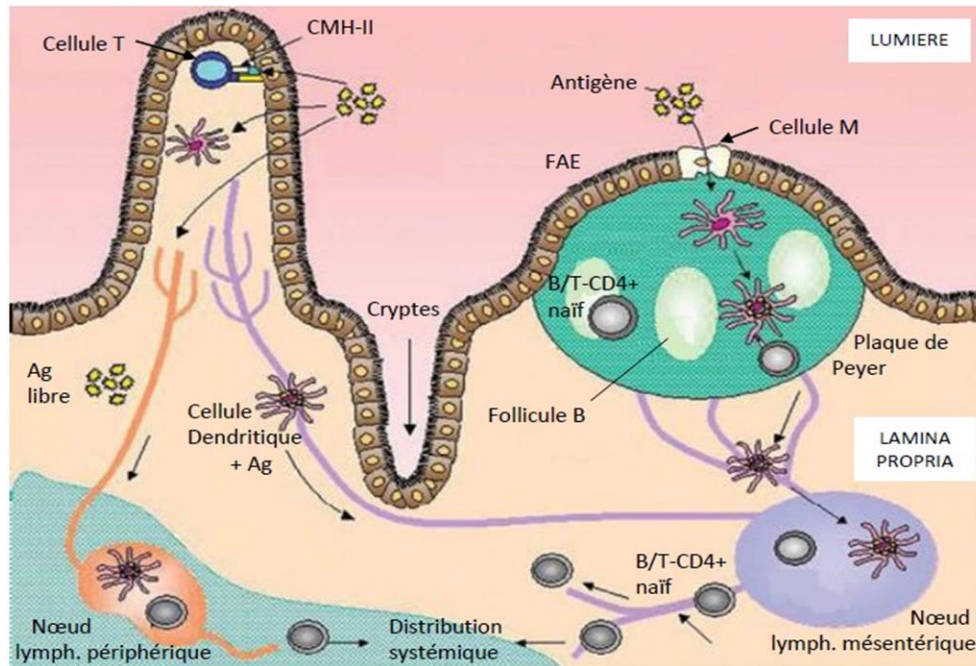


Figure 28 : Mécanismes de la mise en route de l'immunité adaptative au niveau du GALT (Richaud-Patin, 2005)

Les CD de la *lamina propria* ou des PP migrent par les canaux lymphatiques (en violet) vers les MLN où elles rencontrent les lymphocytes naïfs. Les antigènes de petite taille peuvent traverser l'épithélium et se retrouver à l'état libre dans les *canaux* lymphatiques, d'où ils sont drainés vers les nœuds lymphatiques périphériques (en orange) et pris en charge par les CD qui les présentent à leur tour. Les lymphocytes activés exercent leur action localement mais certains quittent le circuit lymphatique pour gagner la circulation sanguine.

II.2.2.2.1.2 Réponse adaptative B

II.2.2.2.1.2.1 Expansion et différenciation

Le lymphocyte B activé subit une expansion clonale et se différencie en plasmocyte, cellule de l'immunité humorale spécialisée dans la production d'anticorps. Cette transformation se produit au niveau des follicules lymphoïdes présents dans les PP et les nœuds lymphatiques. Le follicule est dit

primaire lorsqu'il ne contient que des LB naïfs, et secondaire lorsque se produit une réaction immunitaire à l'origine de l'expansion clonale et de la différenciation. La cellule B naïve, qui exprime d'abord à sa surface des IgM, se met à exprimer une autre classe d'Ig au cours de sa différenciation. Ce phénomène qui fait suite à une recombinaison de l'ADN de la cellule B est appelé commutation de classe (en anglais « *switch* »). Il est à noter qu'un lymphocyte B ne peut exprimer à sa surface qu'un seul des 5 isotypes existants (IgG, IgA, IgE, IgD et IgM). Au niveau de la muqueuse intestinale, c'est l'IgA qui constitue l'isotype majoritairement exprimé.

Ces anticorps de surface qui portent aussi le nom de BCR joueront le rôle de récepteurs membranaires pour les LB. Le plasmocyte gagne la capacité de reconnaître directement un antigène particulier en exprimant un paratope (une Ig) spécifique de surface. D'autre part, un signal à la suite de la formation du BCR active des mécanismes à l'origine d'une augmentation de la diversité des Ig. Ces modifications qui sont liées à des mutations ponctuelles touchant les domaines variables des Ig sont indispensables à l'augmentation de la spécificité de la réaction immunitaire vis-à-vis de l'antigène et caractérisent le phénomène d'hypermutation somatique.

II.2.2.2.1.2.2 Formation de lymphocytes B mémoire

Les plasmocytes produits à la suite à la rencontre avec l'antigène persistent plus ou moins longtemps dans le sang et les tissus, protégeant l'organisme. Mais l'immunité adaptative permet aussi de constituer une mémoire immunitaire grâce à une population cellulaire spécifique, les LB à mémoire. Ces lymphocytes ont pour rôle de mémoriser les propriétés de l'antigène les ayant activés, afin de créer une réponse immunitaire plus rapide, plus longue, plus intense et plus spécifique dans le cas d'un deuxième contact avec ce même antigène : c'est la réponse immunitaire secondaire. De plus, les LB à mémoire ont une durée de vie beaucoup plus longue que les plasmocytes et se positionnent dans des sites stratégiques de drainage immunitaire, comme la rate.

II.2.2.2.1.3 Réponse adaptative T

Lors de l'étape d'activation, les LT naïfs peuvent se différencier au niveau des centres germinatifs en plusieurs sous-populations, contrairement aux LB (figure 29). La différenciation en une sous-population se fait par l'acquisition d'un *cluster* de différenciation spécifique (CD4 ou CD8).

II.2.2.2.1.3.1 La différenciation des lymphocytes TCD4

À la suite du contact avec une CPA, le LTh CD4+ naïf (Th0) peut se différencier soit en cellule Th mémoire, soit en cellule Th effectrice (qui compte plusieurs sous-types : Th1, Th2, Th17 ou Treg au rôle immunorégulateur et immunosuppresseur).

Deux phases font suite à l'activation : une phase de prolifération puis de différenciation. Le devenir d'un LTCD4 est dépendant des cytokines présentes dans son microenvironnement et en particulier

des cytokines produites par la CPA qui l'active. Les cytokines sont des molécules protéiques servant de messagers chimiques, qui stimulent ou inhibent l'activation, la différenciation ou la prolifération des cellules, et sont produites par une large variété de cellules dont les CPA (Hooper et Macpherson, 2010). A la suite de leur différenciation, les LT CD4 migrent vers la *lamina propria* ou vers la circulation sanguine où ils induisent une réponse effectrice.

Toutes les sous-populations de de LT CD4 n'ont pas le même rôle dans l'immunité. Leur profil d'action est lié à la production de cytokines par ces cellules, qui induisent à leur tour des signaux pro-inflammatoires ou anti-inflammatoires. L'équilibre entre les différents sous-types de LT est indispensable pour permettre une réponse efficace vis-à-vis des pathogènes, tout en assurant les mécanismes de tolérance vis-à-vis des bactéries commensales et des antigènes alimentaires (Le Bourgot, 2016).

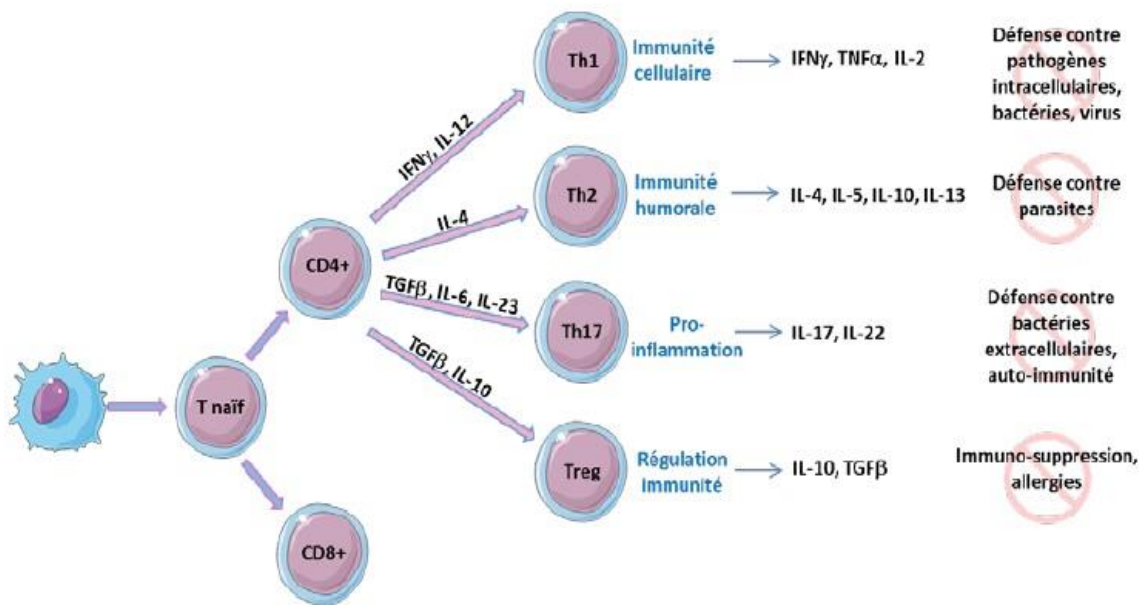


Figure 29 : Les LT CD4, le milieu nécessaire à leur différenciation et leur profil de sécrétion spécifique (Le Bourgot, 2016).

La présence d'Interféron γ (IFN γ) ou d'IL-12 mène à la différenciation en Th1 spécialisés dans la production d'IFN γ et la défense contre les MO intracellulaires.

La présence d'IL-4 mène à la différenciation en Th2 spécialisés dans la production IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 et la défense contre les parasites.

La présence de TGF β , d'IL-6 ou d'IL-23 mène à la différenciation en Th17 pro-inflammatoires spécialisés dans la production IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, et la défense contre les bactéries extracellulaires.

La présence de TGF β ou d'IL-10 mène à la différenciation en Treg anti-inflammatoires spécialisés dans la production IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 et dans l'immunosuppression.

II.2.2.2.1.3.2 La différenciation des lymphocytes TCD8

Les LTCD8 naïfs sont activés par les antigènes présentés par des CPA via le Complexe Majeur d'Histocompatibilité de Classe I (CMH-I) à la différence des LTCD4. Les molécules de CMH de classe I sont exprimées de façon quasi ubiquitaire par les cellules nucléées de l'organisme. Au niveau du SI intestinal, il peut s'agir de CD.

La différenciation en CD8 fonctionnels se produit à la suite de l'interaction avec la CPA, également sous forme de synapse, qui précède un remaniement moléculaire au sein de la cellule T. De la même manière, il existe des signaux de costimulation qui sont nécessaires à l'activation totale du lymphocyte, par exemple l'interaction entre CD28 à la surface du lymphocyte et le récepteur B7. Le récepteur B7 n'étant exprimé que par les CPA, l'activation du lymphocyte est restreinte à l'interaction avec ces cellules (<https://www.cours-pharmacie.com>)

Les LTCD8 ont une action cytotoxique vis-à-vis des cellules cibles. Ils sont pourvus de lysosomes qui contiennent des protéines particulières, les cytotoxines. Celles-ci, au moment de l'exocytose, vont provoquer la mort cellulaire par deux mécanismes :

- La perforine qui s'insère dans la membrane plasmique de la cellule cible et forme un canal en se polymérisant, ce qui entraîne la lyse cellulaire.
- Les sérine-estérases qui activent des caspases qui fragmentent l'ADN de la cellule cible. Ce mécanisme entraînera la mort cellulaire par apoptose.

II.3 Le microbiote contribue au bon fonctionnement du système immunitaire

Nous avons décrit dans la partie précédente le SI intestinal dans ses grandes lignes en détaillant l'organisation tissulaire et cellulaire à l'origine de la réponse immunitaire intestinale.

Des théories de plus en plus nombreuses évoquent l'interaction entre le SI intestinal et le microbiote associé aux muqueuses. Elles mentionnent un rôle prépondérant du MI dans le fonctionnement du SI de l'hôte en soutenant que les mécanismes immunologiques ne pourraient avoir lieu de manière optimale sans la présence d'un microbiote sain. Celui-ci, par une action stimulante et protectrice sur les éléments du SI, permettrait de maintenir une réponse immunitaire efficace et contrôlée.

Les parties et sous parties suivantes chercheront à détailler de quelles manières les cellules procaryotes sont en mesure d'assurer la protection des muqueuses et d'influencer positivement le profil immunologique de l'hôte.

II.3.1 Compétition entre microbiote et organismes exogènes

La grande diversité du MI et le très grand nombre de cellules qui le composent font que celui-ci occupe l'intégralité des niches écologiques du TD. Cette occupation est d'abord physique : les bactéries sont adaptées à la structure de la muqueuse, à la présence de villosités et de *mucus*. Les

conditions physicochimiques du TD changent en fonction de la localisation : le pH, les sels biliaires, les enzymes digestives, la disponibilité des nutriments influencent la colonisation mais chaque micromilieu porte des espèces adaptées sa physiologie. Du fait de l'occupation exhaustive des niches écologiques, le MI se trouve en compétition directe avec les organismes provenant de l'extérieur.

La compétition a pour but de rendre difficile la néo-colonisation par des MO exogènes. La flore commensale monopolise les récepteurs membranaires (notamment ceux permettant l'adhésion aux cellules) en les saturant. Elle utilise de façon prioritaire les nutriments libérés dans le *lumen* au cours de la digestion, ce qui limite l'accès à ces derniers pour des MO exogènes en transit dans le TD.

II.3.2 Le microbiote stimule la production de facteurs anti-microbiens

La résistance à la colonisation est améliorée par la capacité de plusieurs bactéries commensales à produire des bactériocines ou des molécules régulatrices de facteurs de virulence pour les pathogènes (Hooper et Macpherson, 2010). Les bactériocines regroupent des protéines de taille diverse qui ont en commun une activité antimicrobienne et se caractérisent par leur synthèse ribosomale et leur spectre d'action relativement réduit (Riley et Wertz, 2002). Leur mode d'action est lié à la membrane des bactéries. En se fixant à certains récepteurs membranaires, elles entraînent la formation de pores au niveau de la membrane qui devient perméable au milieu extérieur, ce qui est souvent létal pour la bactérie-cible. Ce mécanisme d'action dépendant de la membrane rend les bactériocines plus efficaces sur les bactéries à Gram positif. Cependant, en situation de stress (variations de pH ou de température, présence de chélateurs ou de sels, carence en ions métalliques) les bactéries à Gram négatif deviennent sensibles à l'action de certaines bactériocines. En fonction de la souche visée et du milieu dans lequel elle se trouve, les bactériocines auront un effet bactériostatique (inhibent la croissance bactérienne) ou bactéricide. L'activité bactéricide ou bactériostatique est dirigée le plus souvent contre des espèces proches de la souche émettrice (<https://fr.wikipedia.org>)

On sait aujourd'hui que la plupart des espèces commensales appartenant aux genres *Lactobacillus* spp. et *Bifidobacterium* spp. produisent des bactériocines (Gillor, 2008). D'autres bactéries du MI telles que *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* seraient aussi capables d'en produire. Les bactériocines jouent un rôle important dans la compétition entre souches bactériennes. Leur production semble stimulée par la présence de nombreuses bactéries dans le milieu de croissance (phénomène de détection du *quorum* ou « *quorum sensing* ») (<https://fr.wikipedia.org>). L'action antimicrobienne des bactériocines favorise l'établissement de la bactérie productrice au sein d'une niche écologique en limitant localement l'invasion par d'autres souches commensales ou pathogènes.

Il a été démontré qu'une souche de *Lactobacillus casei* (L26 LAFTI) était en mesure de limiter de manière significative une souche entérohémorragique d'*E. coli* et une souche pathogène de *Listeria monocytogenes in vivo* chez la souris et cette action était attribuable à la synthèse de bactériocines. (Su et al. 2007a, b). D'autre part, la capacité de *Lactobacillus* sp. à limiter la colonisation du TD par *Helicobacter pylori* a été étudiée. L'administration par voie orale, de façon régulière pendant une

semaine, d'un mélange contenant l'espèce *Lactobacillus johnsonii* à des adultes colonisés par *H. pylori* a permis de diminuer l'importance de la colonisation chez des patients asymptomatiques (Gotteland, 2005).

Les bactériocines ont donc une importance primordiale dans le contrôle de la diversité microbienne et de la survie des pathogènes. Leur action permet le maintien de l'équilibre des populations en même temps que la protection de l'organisme hôte. Elle peut être mise à profit dans le cadre de l'utilisation de probiotiques dont l'action est connue, comme le genre *Lactobacillus*.

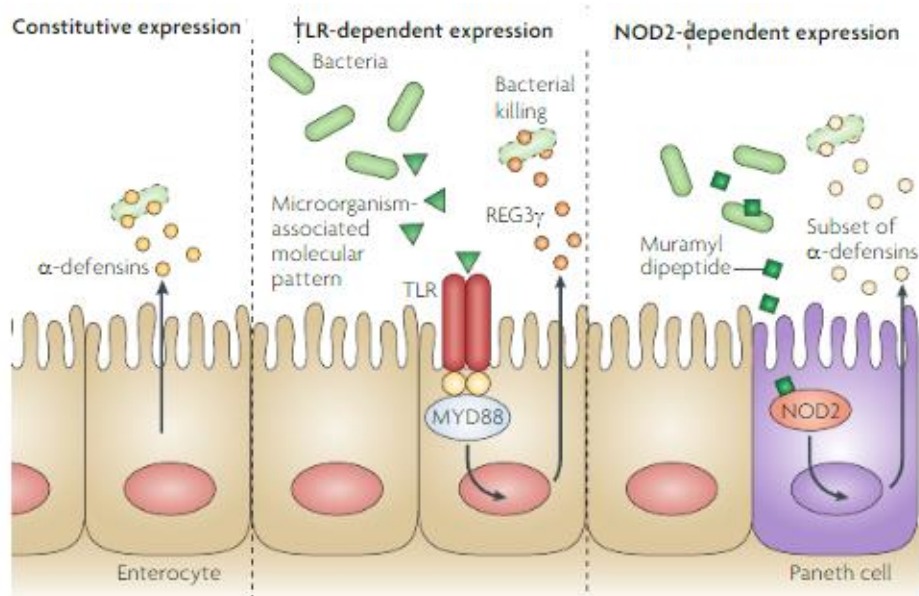


Figure 30 : Différentes voies de régulation de l'expression de peptides antimicrobiens (Hooper et Macpherson, 2010).

La production de PAM est possible en théorie par toutes les lignées cellulaires épithéliales. Ceux du groupe des α -défensines sont pour la plupart produits de manière constitutive par les entérocytes. D'autres dépendent de la proximité entre bactéries et muqueuse pour être produits : c'est le cas de la signalisation PAMP-TLR qui mène à la production de REG3 γ , ou de la signalisation par NOD2 dans les cellules de Paneth.

II.3.3 Aide à la production de mucus

Le MI favorise la production de *mucus* par les cellules caliciformes. Le *mucus*, sécrétion visqueuse produite par les muqueuses, est constitué de mucines, glycoprotéines, formant une famille de 18 molécules différentes (Liévin-Le Moal, 2006). Il recouvre et lubrifie la surface des épithéliums au niveau des appareils digestif, respiratoire et reproducteur. De manière générale, son rôle est de protéger la muqueuse des agressions physiques et infectieuses, renforçant ainsi le rôle de barrière physique joué par l'épithélium. Le *mucus* sert aussi de support à une flore microbienne diversifiée, particulièrement au niveau intestinal. Les bactéries adaptées à la présence de *mucus* stimulent les mécanismes menant à sa production. A titre d'exemple, *Lactobacillus spp.* augmente l'expression des

MUC2 et MUC3, mucines de haut poids moléculaire entrant dans la composition du *mucus* (Deplancke, 2001). Cela se traduit par une intensification de sa production et une inhibition du contact avec la paroi intestinale de bactéries étrangères au MI et potentiellement pathogènes, notamment certaines souches entérotoxiques d'*E. coli*.

Un autre exemple est celui de *Bacteroides thetaiotaomicron*, bactérie productrice d'acétate, qui est capable d'induire la différenciation de cellules caliciformes et l'expression de gènes associés à la production de *mucus* chez le rat mono-colonisé. Lorsque ces mêmes animaux sont colonisés par une deuxième bactérie, *F. prausnitzii*, consommatrice d'acétate et productrice de butyrate, on observe ces effets sont atténués (Wrzosek, 2013). Cela suggère que *B. thetaiotaomicron* facilite les mécanismes de *mucus* par la muqueuse, mais certaines bactéries pourraient atténuer cet effet, aidant ainsi à maintenir des niveaux corrects de *mucus* au niveau intestinal.

II.3.3.1 Ségrégation des micro-organismes pathogènes

L'un des moyens mis en œuvre par le TD pour assurer sa protection consiste à minimiser le contact entre les MO et la surface des cellules épithéliales afin de limiter la possibilité de translocation microbienne à travers l'épithélium et les réactions inflammatoires qui en découlent. Cette logique de ségrégation est rendue possible par plusieurs éléments : les cellules épithéliales et immunitaires, le *mucus*, les IgA et les PAM. Les cellules caliciformes produisent le *mucus* qui renforce la barrière digestive en emprisonnant bon nombre de bactéries dans ses mailles, évitant ainsi la translocation. (McGuckin, 2011). Les PAM exercent une action bactéricide directe en s'accumulant au niveau du *mucus*. Quant aux IgA, elles sont produites au niveau des sites effecteurs du GALT par les plasmocytes sensibilisés. Elles gagnent ensuite la lumière intestinale où une partie d'entre elles intègre le *mucus* (figure 31). La conjonction de ces facteurs permet d'obtenir, à l'interface entre le lumen et la muqueuse, une zone virtuelle quasiment dépourvue de bactéries que l'on nomme en termes triviaux « zone démilitarisée » (en anglais « *demilitarized zone* »). Des souris modifiées génétiquement pour ne pas produire la glycoprotéine MUC2 ne présentent pas cette zone démilitarisée et sont sujettes à des inflammations spontanées de la muqueuse du côlon (Van der Sluis, 2006).

Par ce phénomène de ségrégation, l'accès des bactéries aux tissus est limité qu'il s'agisse de bactéries exogènes ou commensales. En effet, les propres bactéries du MI pourraient devenir pathogènes s'il leur était possible d'atteindre l'épithélium et le traverser. Il est intéressant de noter que l'organisme eucaryote fournit à son microbiote les conditions nécessaires à sa survie et à son maintien, mais met en place des mécanismes de défense y compris contre ces mêmes bactéries. Enfin, le paradoxe réside dans le fait que ce sont les bactéries commensales elles-mêmes qui stimulent les éléments qui les maintiennent à l'écart de l'organisme hôte (*mucus*, IgA et jonctions cellulaires).

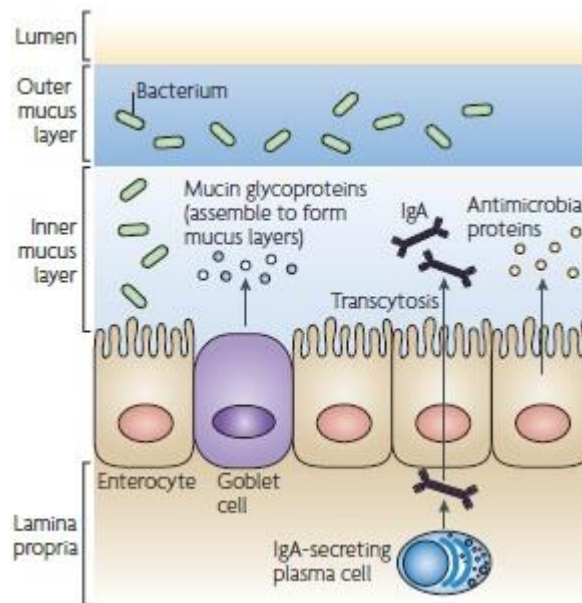


Figure 31 : Mécanismes immunitaires limitant le contact de bactéries avec la muqueuse intestinale (Hooper et Macpherson, 2010).

II.3.4 Actions du microbiote sur l'immunité mucoale

Les cellules épithéliales intestinales sont indirectement influencées par le MI. Celles-ci sont équipées d'un répertoire de récepteurs de l'immunité innée qui inclut les TLR et les récepteurs aux AGCC couplés aux protéines G. La transduction active d'un signal provoqué par la présence du MI est primordiale pour le maintien de l'homéostasie intestinale. Il a été démontré que l'inactivation spécifique de ces récepteurs conduit à des brèches au niveau de la barrière épithéliale et affaiblit l'interface entre les bactéries commensales et la lamina propria sous-jacente. L'absence de séparation entre les deux prédispose les tissus à des mécanismes inflammatoires spontanés (Thaiss, 2016).

La colonisation stimule en outre les cellules immunitaires innées et adaptatives de l'hôte qui produisent des cytokines, et cet environnement cytokinique est propice à la production de facteurs barrière : ainsi, la sécrétion de *mucus* par les cellules caliciformes, de PAM par les cellules épithéliales et d'IgA par les plasmocytes est augmentée lors de la colonisation (Thaiss et al., 2016). Ces réponses sont en partie déterminées par la capacité des cellules du SI à détecter les MO ou des produits dérivés de MO. Cela est possible grâce aux TLR, NLR et aux récepteurs aux AGCC (Rakoff-Nahoum, 2004).

II.3.4.1 Effet trophique sur l'épithélium et la muqueuse

Il a été démontré, en particulier grâce à l'étude histologique de souris axéniques, que le MI joue un rôle bénéfique sur tous les types cellulaires de l'épithélium intestinal (Sommer et Bäckhed, 2013). La présence d'un MI sain et diversifié permet en effet :

- Une accélération du renouvellement cellulaire.
- Une augmentation de la différenciation cellulaire.
- Un enrichissement de la micro-vascularisation de la muqueuse intestinale sous-jacente à l'épithélium.
- Le développement des entérocytes et des cellules de la *lamina propria*, avec pour conséquence une augmentation de la taille et du nombre des structures tridimensionnelles de l'épithélium (en particulier les villosités, et les cryptes intestinales qui sont le siège de la plupart des cellules souches).
- De récents travaux ont montré que le MI influence l'angiogenèse au niveau de la muqueuse. Cela est visible particulièrement au niveau des villosités intestinales où les vaisseaux sanguins sont plus abondants et leur remodelage plus intense (figure 32).

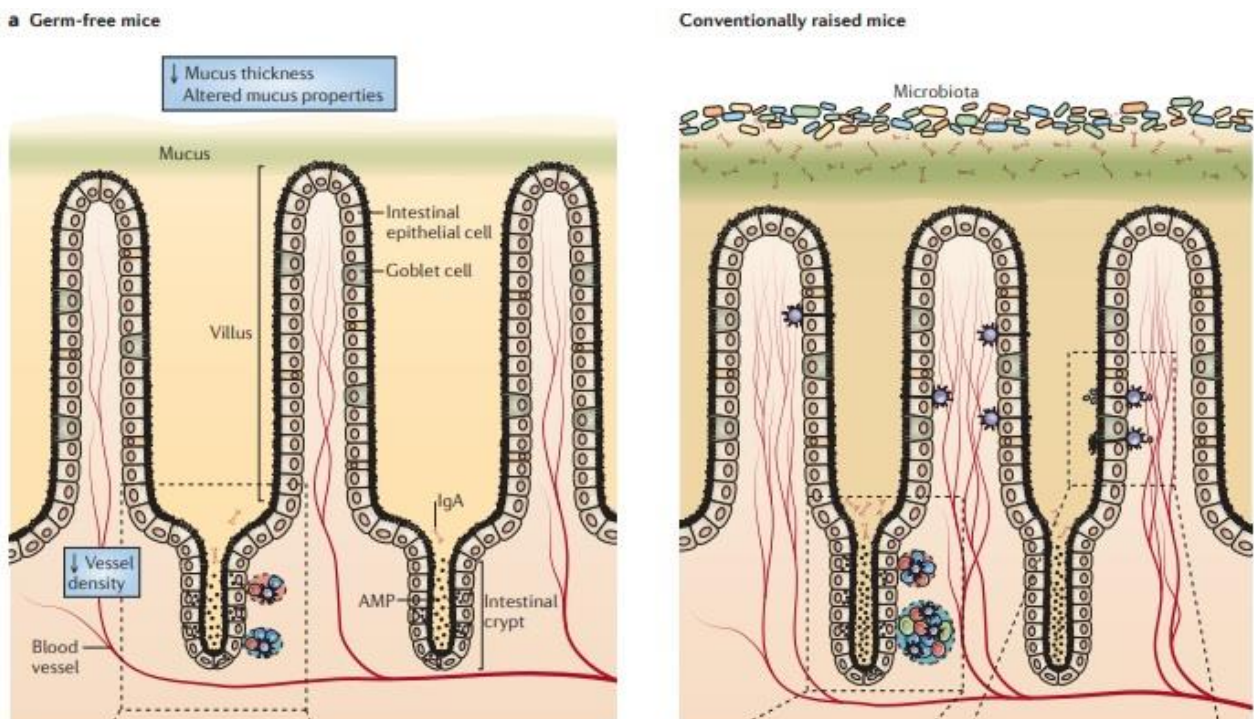


Figure 32 : Comparaison de la muqueuse intestinale d'une souris colonisée et d'une souris axénique (Sommer et Bäckhed, 2013).

La colonisation bactérienne intestinale provoque de remarquables changements dans la morphologie de la muqueuse intestinale. L'image de gauche (a) montre la muqueuse d'une souris axénique. On remarquera particulièrement la faible épaisseur de la couche de mucus et des villosités pauvres en vaisseaux sanguins. L'image de droite (b) montre chez la souris "conventionnelle" (colonisée), une couche de *mucus* abondante formant un biofilm qui unit bactéries commensales et IgA sécrétées par la muqueuse. Les villosités sont de plus grande taille et plus richement vascularisées. On note l'existence de PP plus grandes et une infiltration de l'épithélium par des cellules immunitaires. En outre, les cryptes intestinales sont plus développées et contiennent un plus grand nombre d'IgA sécrétoires.

II.3.4.2 Contribution à la maturation du système immunitaire intestinal

II.3.4.2.1 Le GALT des souris axéniques est moins développé

Le rôle fondamental de la colonisation bactérienne dans la maturation du SI associé à l'intestin a été mis en évidence chez les animaux axéniques et gnotoxéniques (dont la colonisation est contrôlée). Plusieurs études s'accordent à dire que le GALT des souris axéniques est moins développé que celui des souris colonisées, avec un nombre inférieur de PP et un développement incomplet de celles-ci.

L'analyse histologique du GALT de souris axéniques révèle une réduction du nombre et de la taille des centres germinatifs à l'origine de la maturation des lymphocytes (figure 33). En conséquence les souris axéniques montrent une teneur plus faible en cellules immunitaires compétentes, dont les LB matures, au niveau des PP et des Follicules Lymphoïdes Isolés (*Round et Mazmanian, 2009*). D'autres études pointent une diminution du nombre de LTreg producteurs d'IL-10 et de TGF β au niveau des MLN et des PP (*Ishikawa., 2008*), (*Macpherson et Harris, 2004*). En outre, l'épithélium qui recouvre les structures immunitaires secondaires contient moins de cellules M (*Yamanaka, 2003*). Au niveau de la *lamina propria*, le nombre en cellules effectrices de l'immunité est réduit chez les souris non colonisées. Il y a une teneur significativement moindre en plasmocytes à IgA et en plusieurs sous-populations de LTCD4+ producteurs d'IL-17, IL-10 et en TNF- α (*Macpherson, 2004*), (*Yanagibashi, 2013*), (*Niess, 2008*), (*Gaboriau-Routhiau, 2009*).

L'état axénique affecte aussi l'architecture et la composition en cellules de la muqueuse intestinale. Il ralentit le renouvellement cellulaire et limite leur différenciation. Chez les modèles murins axéniques, la muqueuse colique est hypoplasique (atrophiée) et plus pauvre en cellules : le nombre de cellules par crypte est diminué d'environ 20%. Les villosités de l'intestin grêle sont plus longues, mais plus fines et portent un réseau vasculaire moins dense. (*Sommer et Backhed, 2013*). Quant à la couche de *mucus*, elle est moins épaisse et ses propriétés physico-chimiques sont altérées. (*Falk, 1998*). Au niveau des MLN les souris axéniques ont un plus petit nombre de LT CD4+, ainsi que dans la rate. (*Mazmanian, 2005*) (*Hrncir, 2008*). L'altération fonctionnelle de relais lymphatiques extra-muqueux voire extra-intestinaux souligne la participation du MI dans le développement du SI dans son ensemble.

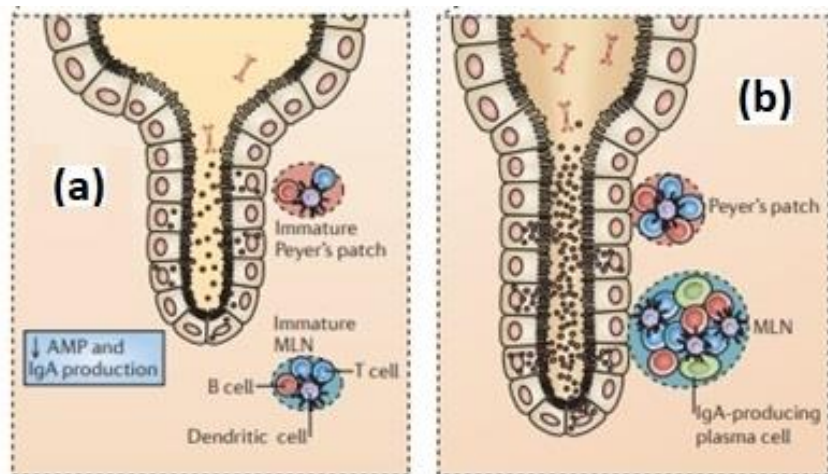


Figure 33 : Colonisation bactérienne et maturation du système immunitaire au niveau des cryptes intestinales (Sommer et Bäckhed, 2013).

Dans des conditions axéniques (a), les cryptes intestinales sont peu profondes et produisent peu d'IgA et de PAM. Les PP et les MLN sont immatures et portent des centres germinatifs plus petits que ceux de la souris colonisée. Chez la souris colonisée (b) le GALT porte un plus grand nombre de LT de LB et de CD.

II.3.5 Les composés issus du métabolisme bactérien influencent l'immunité

Certains métabolites d'origine bactérienne ont un rôle démontré sur le développement et la maturation morphologique du TD et le maintien de l'homéostasie intestinale. De récentes investigations ont fait la lumière sur le rôle des AGCC issus de la fermentation bactérienne anaérobie. Ceux-ci participeraient au renouvellement cellulaire et auraient un effet stimulant sur le SI.

II.3.5.1 Rôle des acides gras à courte chaîne (AGCC)

Les AGCC figurent parmi les métabolites bactériens les plus importants ayant une influence directe et indirecte sur le SI intestinal. La production d'AGCC s'observe lors de la fermentation de fibres (oligosaccharides indigestibles, amidons résistants et polysaccharides non amylacés) provenant de l'alimentation, par les bactéries résidentes du côlon. Les concentrations en AGCC dans le côlon sont très variables et dépendent directement de la composition du MI, du régime alimentaire (particulièrement de l'apport en fibres) et du temps de transit intestinal. Elles peuvent varier entre 20 et 140 mM dans le contenu intestinal (Cummings, 1987).

II.3.5.1.1 Les AGCC agissent sur l'environnement tissulaire local

Les AGCC participent à l'immunité mucoale de l'hôte en fortifiant la barrière épithéliale. Ces composés influencent la perméabilité des jonctions serrées des cellules épithéliales intestinales. De

hauts niveaux d'acétate produits par une souche de *Bifidobacterium longum* a permis à des modèles de souris d'être protégées contre la bactérie *E.coli* entéropathogène en fortifiant la barrière épithéliale et en diminuant par conséquent le passage paracellulaire de toxines de la lumière intestinale vers la circulation sanguine (Fukuda, 2012). Un effet similaire a été décrit chez le porc pour lequel une colonisation bactérienne *de novo* entraînait une modification de l'expression génique en faveur d'une barrière immunitaire plus efficace (renouvellement cellulaire, synthèse de *mucus*) limitant la translocation des antigènes (Chowdhury, 2007).

Les cellules caliciformes incluses parmi les cellules épithéliales augmentent leur production de mucus lorsqu'elles sont en contact avec des AGCC (Willemsen, 2003). En inoculant des souris axéniques avec des espèces capables de produire des AGCC (*Faecalibacterium prausnitzii* ou *Bacteroides thetaiotaomicron*), on a observé une induction de la différenciation de cellules souches en cellules caliciformes et un début de production de *mucus* par ces dernières (Wrzosek, 2013).

Les AGCC semblent par ailleurs jouer un rôle important dans le maintien d'un SI adaptatif efficace en déclenchant la différenciation des LT au niveau intestinal (notamment en LTh₁). Les mécanismes à l'origine de cette différenciation mettent en jeu notamment l'activation des récepteurs FFAR2 et FFAR3 qui ont pour ligands les AGCC (Le Bourgot, 2016).

II.3.5.1.2 Les AGCC orientent la réponse immunitaire vers un profil tolérogène

Deux phénomènes sont observables chez les souris déficitaires en récepteurs FFAR2 ou FFAR3. Le premier est une sous-expression de gènes associés aux Th1 comme IFN γ et T-bet (« *T-box-expressed-in-Tcells* ») qui est le reflet de l'amoindrissement de la prolifération de LT au niveau intestinal. La deuxième est une augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires : l'IL-6 (au niveau circulant et muqueux) et l'IL-12 (Le Bourgot, 2016).

L'immunomodulation par les AGCC a fait l'objet d'investigations dans le cadre de certaines pathologies inflammatoires en prenant pour modèles des souris. La mise en contact de cellules mononucléées circulantes avec des AGCC freine la production par les neutrophiles d'un facteur pro-inflammatoire, le *Nuclear Factor- κ B* (NF- κ B), et limite la production de TNF une cytokine également pro-inflammatoire (Vinolo, 2011). D'autres études ont également observé un effet anti-inflammatoire similaire des AGCC sur les cellules phagocytaires. Le butyrate et le propionate auraient la propriété d'empêcher la génération de CD par la moelle osseuse, or ces cellules sont en grande partie à l'origine de l'induction de l'inflammation (Singh, 2010), (Trompette, 2014).

II.3.5.1.2.1 Les AGCC Inhibent les HFACs (Histone Desacetylases)

Les AGCC sont des inhibiteurs d'un groupe d'enzymes, les Histones Désacétylases (HDAC). Les HDAC influencent l'expression de nombreux gènes en modulant l'expression de facteurs de transcription. Des études montrent que l'inhibition des HDAC provoquée par les AGCC mène à phénotype

tolérogène et anti-inflammatoire et que la présence d'un microbiote sain participe à ce profil en tant que régulateur épigénétique. L'apparition du phénotype tolérogène serait liée à l'influence des HDAC dans l'expansion et la différenciation de lignées cellulaires hématopoïétiques.

Il a été démontré que les AGCC, via leur récepteur GPR43, ont la possibilité de réguler la taille et la fonction du *pool* de LT_{reg} FOXP3+ qui aident à maintenir l'homéostasie intestinale par régulation de l'inflammation. Ceux-ci sont en effet capables de maintenir un état anti-inflammatoire par la production d'IL-10 et la limitation de la prolifération de LTCD4+ effecteurs (Smith, 2013).

L'inhibition *in vivo* d'HDAC9 chez des souris a permis d'atténuer les symptômes de la colite en augmentant l'expansion des LT_{reg} FOXP3+. La régulation peut aussi s'effectuer au niveau périphérique : l'inhibition d'HDAC9 a d'autre part entraîné des mécanismes Treg-dépendants de tolérance à la greffe (cardiaque et pancréatique) chez le receveur (Tao, 2007). L'étude de Singh et Al. évoque en outre que les mécanismes à l'origine de l'inhibition de la production de CD par le butyrate et le propionate mettent en jeu l'inhibition de d'histone-désacétylases (Singh, 2010).

II.3.5.1.2.2 Les AGCC modulent l'environnement cytokinique local

Les AGCC agissent sur l'environnement cytokinique local en stimulant la production de cytokines par les cellules immunitaires de l'hôte. Les bactéries commensales productrices d'AGCC sont donc en mesure de modifier indirectement l'environnement cytokinique par leur action sur les cellules immunitaires. Les effets régulateurs sont observables notamment sur l'IL-2, l'IL-4, l'IL-5, l'IL-6 et l'IL-10 produits par les lymphocytes (Chang, 2014).

La teneur d'un milieu en cytokines prédit à son tour la différenciation des LT en induisant leur différenciation préférentielle vers une sous-famille de LT (figure 29). Globalement, cette action sera anti-inflammatoire sur le côlon. Des études ont apporté la preuve que les bactéries du genre *Lactobacillus* favorisent le développement d'un profil tolérogène de type Th1 en stimulant la production d'une cytokine immunomodulatrice, l'IFN γ . Chez les souris déficitaires en récepteurs FFAR2 ou FFAR3, on observe une diminution de l'expression de gènes associés aux LTh1 (notamment l'IFN γ) et à l'induction d'IL-6 (au niveau local et systémique), et d'IL-12 qui sont des cytokines pro-inflammatoires, et à une réponse immunitaire globalement retardée (Kim, 2013). Des souris inactivées pour le gène FFAR2 (FFAR2 $-/-$) ont quant à elles montré un profil inflammatoire sévère dans des modèles de colite, mais aussi d'arthrite et d'asthme, pathologies inflammatoires liées au recrutement de cellules immunitaires et à une production accrue de médiateurs inflammatoires par ces dernières (Maslowski, 2009).

D'autres études viennent appuyer la thèse du profil tolérogène en montrant que l'utilisation d'acétate pour stimuler les récepteurs aux AGCC inhibe les symptômes de la colite et l'inflammation. La liaison des AGCC sur leurs récepteurs GPR43 et GPR109A au niveau du pôle apical des cellules épithéliales entraîne une augmentation d'une cytokine anti-inflammatoire, l'IL-18 (Macia, 2015) ce qui contribue à maintenir un environnement tolérogène bénéfique à l'hôte et prévient le phénotype colitogène chez la souris (Elinav, 2011).

Le butyrate semble être l'AGCC le plus influent sur l'environnement inflammatoire. L'activation du GPR109 par le butyrate permet de prévenir la colite et la carcinogénèse du côlon par le biais d'une augmentation de l'expression de composés anti-inflammatoires par les monocytes et de l'induction de la différenciation de LTreg productrices d'IL-10 à l'action anti-inflammatoire (Singh, 2014).

Les AGCC aident à prévenir le chimiotactisme (attraction de cellules par des substances libérées localement) de cellules immunitaires vers les sites inflammatoires, ce qui réduit l'infiltration tissulaire et la libération de médiateurs de l'inflammation au niveau local ou systémique.

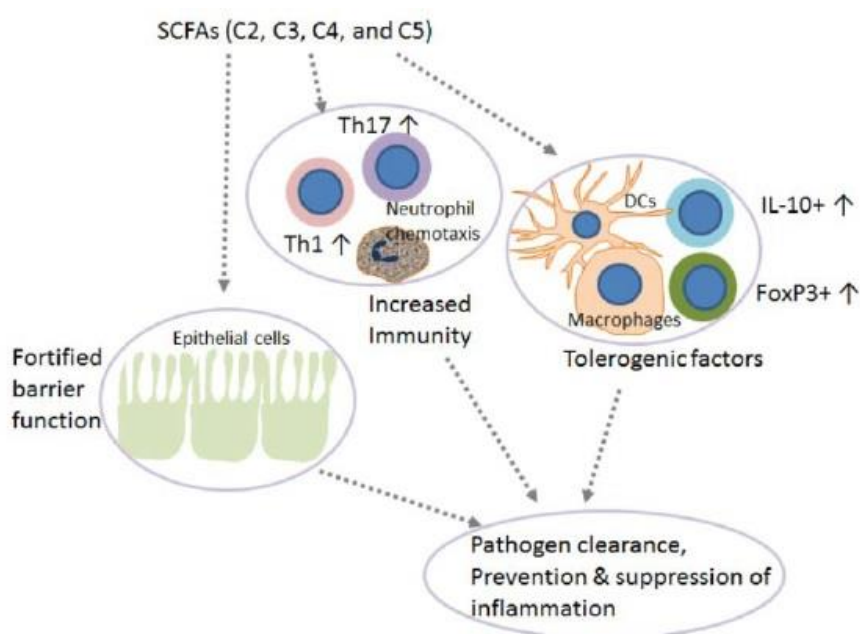


Figure 34 : Régulation de l'immunité et de l'inflammation par les AGCC (Kim, 2014)

Le rôle des AGCC est double : permettre un environnement anti-inflammatoire tolérogène tout en aidant à la protection contre les pathogènes. Les AGCC agissent de plusieurs manières :

- (1) Ils renforcent la barrière épithéliale en renforçant la cohésion des cellules épithéliales et en augmentant leur production de médiateurs de l'immunité innée.
- (2) Ils agissent directement sur les LT en conduisant à leur différenciation en cellules effectrices (TCD4) et régulatrices productrices d'IL-10 (Treg). Les AGCC attirent d'autre part des neutrophiles de la circulation sanguine durant la réponse immunitaire.
- (3) Ils agissent sur les CPA en limitant l'expression de molécules qui activent les LT, telles que les CMH de classe II, ce qui mène à la génération de LT tolérogènes.

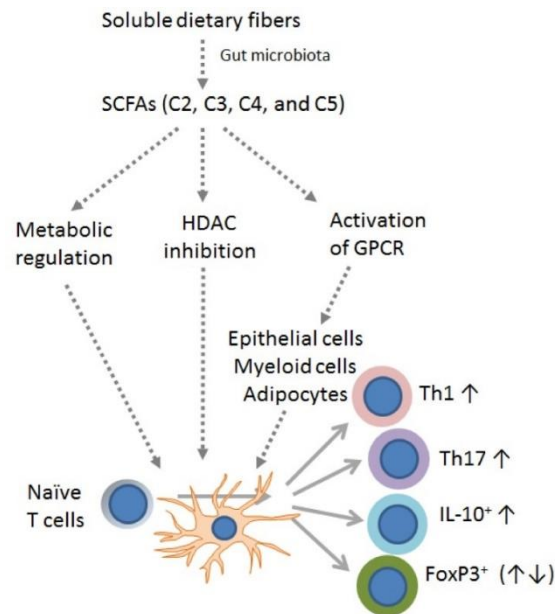


Figure 35 : Régulation des population de lymphocytes T par les AGCC (Kim, 2014)

Les AGCC entraînent la différenciation des LT par plusieurs moyens :

- (1) La regulation métabolique,
- (2) L'inhibition des HDAC,
- (3) L'activation des récepteurs aux AGCC (GPCR ou FFAR).

Les LT ainsi générés peuvent être effecteurs (pro-inflammatoires) dans certaines conditions : Th1 et Th17 sont utiles pour combattre les pathogènes. Mais la régulation peut aussi se faire vers un profil tolérogène : c'est le cas des LT régulateurs (FOXP3+). L'IL-10 ainsi produit limite l'intensité de la réaction inflammatoire. Les AGCC seraient aussi impliqués dans la génération de CD moins efficaces pour activer les LT effecteurs.

II.3.5.2 Rôle d'autres métabolites d'origine bactérienne

II.3.5.2.1 Les ligands de l'AhR

Le métabolisme de certaines bactéries commensales génère des molécules capables de se lier au récepteur d'Aryl Hydrocarbure (**AhR**, pour l'anglais « *Aryl hydrocarbon Receptor* »). AhR est un récepteur nucléaire exprimé par les cellules épithéliales et les cellules immunitaires de l'hôte. Lorsqu'il est activé, il joue un rôle dans la régulation de la composition du MI ainsi que des réponses immunitaires de la muqueuse intestinale (Rooks et Garrett, 2016). La stimulation d'AhR est sous l'influence directe du profil de MI porté par l'hôte mais aussi du régime alimentaire : les ligands d'AhR sont souvent produits de façon endogène à partir de substrats issus de l'alimentation. A titre d'exemple, quelques espèces bactériennes telles que *Lactobacilli* spp métabolisent le tryptophane contenu dans les aliments et produisent ces ligands (Zelante, 2013).

L'inactivation du gène AhR chez des modèles de souris (génotype AhR -/-) conduit à l'inexpression du récepteur Ah et se traduit par des perturbations de la composition du MI avec notamment des concentrations en bactéries plus élevées dans la lumière intestinale et un déséquilibre d'espèces avec une proportion de *Bacteroides* spp. très augmentée. Ont également été observées chez ces souris une baisse du renouvellement des cellules épithéliales du TD ainsi qu'une diminution du nombre de lymphocytes intraépithéliaux, ce qui les rend plus vulnérables aux infections intestinales (Li, 2011).

Des travaux réalisés en 2011 ont attribué un rôle au AhR dans le développement du SI en période post-natale. Il a été supposé que l'activation du récepteur Ah serait nécessaire à la mise en place des follicules lymphoïdes intestinaux du nourrisson et à l'expansion de certaines populations cellulaires lymphoïdes telles que les Cellules Lymphoïdes Innées (ILC, pour l'anglais « *Innate Lymphoid Cells* ») qui sont des lymphocytes sécréteurs de cytokines et dépourvus d'anticorps membranaires. Les ILC de type 3 sécrétrices d'IL-22, interleukine capable d'initier des réponses immunitaires, sont en mesure de lutter contre certaines bactéries pathogènes telles que *Citrobacter rodentium* chez le rongeur (Kiss, 2011).

L'AhR et ses ligands jouent donc un rôle certain dans la mise en place de l'immunité intestinale et le maintien d'une protection face à la colonisation par des MO pathogènes ou opportunistes. Zelante et al ont noté que la présence d'un microbiote sain génère des ligands qui stimulent via AhR l'expansion des ILC3 et la production d'IL-22 (Zelante, 2013). Le rôle protecteur de l'IL-22 face à l'inflammation de la muqueuse et à la colonisation par des pathogènes opportunistes tels que *Candida albicans* a été démontré. Le rôle des ligands de l'AhR s'ajoute à celui des AGCC fermentaires et vient conforter la relation mutualiste qu'entretient l'hôte avec son microbiote. L'importance de ce rôle reste cependant à déterminer : dépendante de l'apport alimentaire et de la proportion de bactéries génératrices de ligands, elle pourrait largement différer entre les individus.

II.3.5.2.2 Les polyamines

Les polyamines sont des molécules de nature polycationique retrouvées dans de très nombreux types cellulaires et participant à de nombreuses fonctions telles que la transcription de gènes, la croissance cellulaire et l'apoptose. Les cellules eucaryotes et les bactéries sont capables de synthétiser des polyamines et d'en faire varier les concentrations cellulaires en faisant intervenir des enzymes et des mécanismes d'efflux. Les bactéries utilisent des enzymes constitutives ou inductibles de type décarboxylase pour produire des polyamines (Di Martino, 2013). Certaines bactéries pathogènes sont sous la dépendance de polyamines pour leur survie dans l'organisme hôte et le maintien de leurs facteurs de virulence (citons *Helicobacter pylori*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, ou le genre *Shigella*) (Di Martino, 2013).

Les polyamines sont retrouvées en grandes quantités au niveau TD et proviennent à la fois de l'alimentation (dérivés) ou d'une production *de novo* par les cellules de l'hôte et les cellules du MIH. Leur rôle sur le milieu digestif est multiple (Chen, 2007) :

- Elles participent au renouvellement des cellules épithéliales intestinales.

- Elles favorisent l'adhésion des cellules épithéliales intestinales entre elles. Des modèles cellulaires *in vitro* ont montré que les polyamines stimulaient la production de protéines spécifiques des jonctions cellulaires, telles que les cadhérines et les occludines.

Les polyamines seraient aussi utiles au développement de l'immunité mucoale chez le jeune individu. Des études réalisées chez l'animal montrent que l'apport de polyamines à de très jeunes rats favorise la production de mucus et d'IgA au niveau de l'intestin grêle (*Buts, 1993*). De jeunes rats nourris au lait enrichi en polyamines affichent une maturation plus rapide de cellules immunitaires telles que les LTCD8+ intraépithéliaux et les LTCD4+ de la lamina propria. Au niveau systémique, dans la rate, siège de la maturation des LB, on observe en présence de polyamines une maturation plus rapide de LB (*Perez-Cano, 2010*). En revanche, un régime pauvre en substrats de polyamines mènerait à une hypoplasie de la muqueuse intestinale chez ces mêmes animaux (*Löser, 1999*).

Comme évoqué précédemment, les niveaux cellulaires de polyamines sont finement contrôlés par l'activité de certaines enzymes. L'une d'elles est l'arginase qui est stimulée par l'administration d'arginine, un acide aminé. L'administration chez la souris d'une combinaison d'arginine et d'une souche bactérienne, *Bifidobacterium animalis*, sous-espèce *lactis* LKM512 entraîne une augmentation de niveaux de polyamines intestinaux qui est corrélée à une diminution de la concentration de composés pro-inflammatoires : TNF α et IL-6 (*Kibe, 2014*). Le probiotique *Bifidobacterium animalis* a par ailleurs amélioré la résistance au stress oxydatif et augmenté la longévité d'un groupe de souris supplémentées durant une période de 11 mois. Ces améliorations ont été attribuées à la suppression d'une inflammation colique chronique de bas-grade, elle-même liée à de hauts niveaux de polyamines (*Matsumoto, 2011*).

D'autres études ont en outre fait le lien entre l'âge et la dérégulation du métabolisme des polyamines. Chez l'animal âgé, des altérations du métabolisme pourraient être à l'origine d'un terrain inflammatoire de bas-grade lié à la diminution de certains composés protecteurs. En 2011, une étude a démontré que les niveaux de polyamines sont plus bas chez les sujets âgés (*Minois, 2011*).

Grâce à ces observations, on peut émettre l'hypothèse selon laquelle la modulation du MI par l'alimentation ou l'apport extérieur de souches bactériennes peut influencer positivement le statut inflammatoire de l'hôte dans le cas de maladies inflammatoires chroniques par exemple.

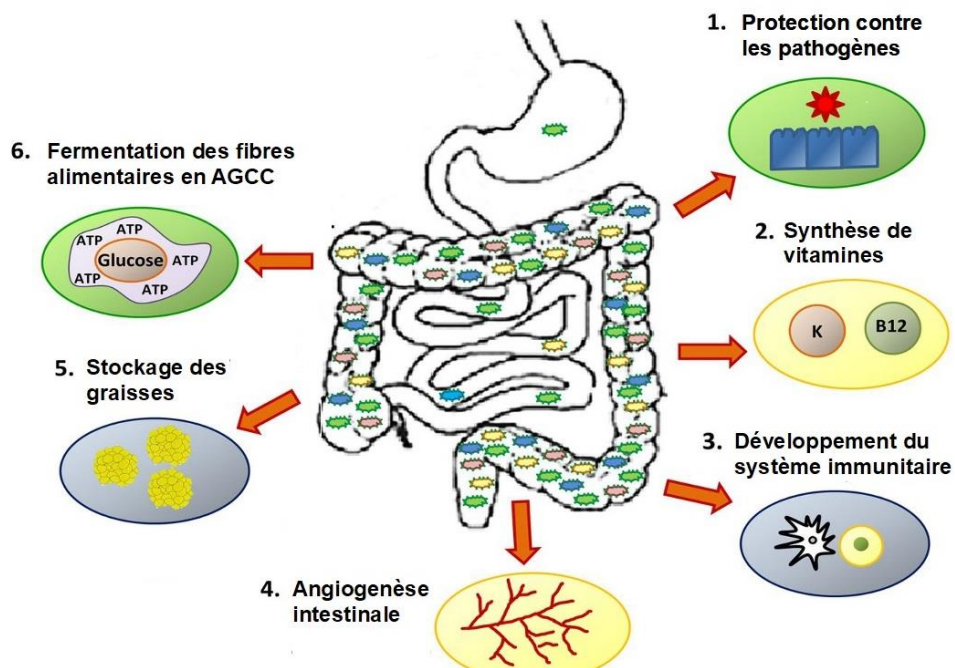


Figure 36 : Synthèse des multiples rôles du microbiote sur le milieu intestinal et l'organisme de l'hôte (Amon et Sanderson, 2017)

II.4 Le microbiote permet la tolérance « au soi » et la reconnaissance du « non soi »

Le commensalisme est un processus dynamique qui résulte d'une adaptation réciproque continue entre un hôte et son commensal. Ce processus passe par des mécanismes complexes de reconnaissance dont la finalité est la coexistence pacifique des deux parties. Au niveau du TD, les cellules de l'hôte sont en contact permanent avec des bactéries. D'un point de vue immunologique, l'organisme doit assurer en permanence la préservation de ces bactéries commensales tout en faisant la part entre bactéries inoffensives et bactéries pathogènes. Le nombre extrêmement grand de bactéries présentes en permanence dans le TD requiert des moyens sophistiqués de détection et d'action que seul un SI finement régulé est en mesure d'accomplir.

L'immunité intestinale assure cet équilibre par trois actions : la première est d'éliminer les MO pathogènes potentiels ou réels, la deuxième est de tolérer les bactéries exogènes auxquelles nous expose l'environnement, et la troisième est de contenir les constituants normaux de la flore afin qu'ils ne deviennent pas pathogènes.

II.4.1 Les IgA : généralités

Dans le cadre de ce travail, nous nous intéresserons aux IgA sécrétoires digestifs. Les IgA produits par le GALT sont une pièce maîtresse du contrôle des populations bactériennes au niveau de la muqueuse

digestive. Leur caractère extrêmement polymorphe ainsi que leur adaptabilité permet la détection d'antigènes multiples et leur confère le rôle de messagers de l'immunité.

II.4.1.1 Structure et fonction des IgA

Les immunoglobulines A (IgA) sont une classe d'anticorps retrouvés dans l'organisme. Il s'agit de l'un des 5 isotypes d'anticorps avec les Immunoglobulines G, E, M, et D. Ce sont des composants acellulaires, protéiques, produits par certaines cellules de l'immunité. Ils constituent un maillon essentiel de l'immunité mucoale et ont une action protectrice sur les tissus environnants. Leur production est la conséquence d'une réponse immunitaire dite « humorale ».

Les IgA peuvent aussi être distinguées selon le compartiment dans lequel on les retrouve. On a :

- Les IgA sécrétoires, retrouvées au niveau des muqueuses où elles constituent l'isotype le plus abondant.
- Les IgA sériques, retrouvées dans le courant sanguin. Les IgA sériques sont le deuxième isotype le plus abondant après les IgG.

Structurellement, l'IgA est une protéine de masse moléculaire d'environ 170 kDa, composée de plusieurs chaînes polypeptidiques (deux chaînes légères nommées chaînes L pour « *light chain* » et deux chaînes lourdes nommées chaînes H pour « *heavy* ». Les chaînes L et H sont liées entre elles par des liaisons hydrogène, et l'IgA a grossièrement une forme en « Y » dont les deux extrémités supérieures portent le fragment Fab, qui est l'association entre une chaîne légère et une portion de chaîne lourde. Le fragment Fab porte les sites à l'origine de la reconnaissance de déterminants antigéniques et de la liaison à ceux-ci. Ces zones de reconnaissance sont qualifiées de variables car leur séquence en acide aminés détermine quel épitope l'IgA est capable de reconnaître. La haute variabilité des régions Fab permet une grande diversité de paratopes et est garante de la protection des muqueuses.

Les IgA ont la particularité de pouvoir se multimériser, c'est-à-dire de se lier, par liaison covalente, à une autre immunoglobuline du même type. Ainsi, les IgA sécrétoires sont toujours synthétisées sous forme de dimères au niveau des muqueuses intestinales alors que les IgA sériques sont toujours monomériques. La dimérisation est rendue possible par une structure, la chaîne J, qui est un peptide de 137 acides aminés produit par les plasmocytes servant à faire le lien entre deux Ig d'un même isotype (Fadlallah, 2016).

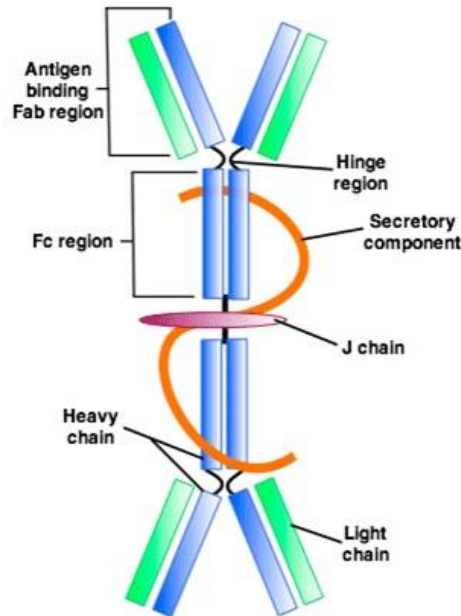


Figure 37 : Structure schématique d'un dimère d'IgA sécrétoire (<https://microbenotes.com>)

II.4.1.2 Lieux de sécrétion des IgA

Les principaux lieux de sécrétion des IgA incluent le MALT au niveau systémique et le GALT au niveau digestif. Les muqueuses sont des zones privilégiées d'induction des IgA sécrétoires en ce sens qu'elles constituent l'interface entre l'organisme et le milieu extérieur et une zone de contact permanent entre antigènes et effecteurs de l'immunité. Au niveau du GALT, trois entités fonctionnelles assurent les réponses humorales : les plaques de Peyer, les MLN (dans les couches externes de la muqueuse) et les ganglions lymphoïdes isolés dispersés dans la *lamina propria*. Ces structures contiennent un grand nombre de plasmocytes sécréteurs d'IgA. Les plasmocytes et les LB sont présents de manière plus diffuse, au niveau de la lamina propria (Fadlallah, 2016).

Certains constituants stimulent la production d'anticorps par les LB de la muqueuse. C'est le cas des facteurs solubles fabriqués par certaines cellules immunitaires à l'état basal ou après stimulation. Les facteurs solubles sont souvent des cytokines produites à l'état basal par des CD résidentes du GALT, ce qui crée un micro-milieu favorable à l'induction des réponses humorales IgA. (Fadlallah, 2016). Il s'agit entre autres du TGF β (*Tissue Growth Factor β*) (Shi, 1998) et de l'IL-21 (Borte, 2009) qui favorisent en outre la commutation isotypique des Ig vers l'isotype A au niveau des centres germinatifs. Le rôle de ces facteurs a été mis en évidence chez la souris pour lesquelles on a provoqué une déficience en IgA par des modèles génétiques inactivés « *knock-out* ». Un autre facteur est l'IL-10 pour lequel on a observé une restauration de la sécrétion d'IgA en mettant en contact des LB humains de patients déficitaires (Briere, 1994).

Une fois produits, les dimères IgA sont sécrétés vers la lumière intestinale qui est leur principal lieu d'action. Le franchissement des entérocytes de l'épithélium par les IgA fonctionnelles répond au phénomène général de transcytose. La sécrétion de la *lamina propria* vers la lumière intestinale se fait en plusieurs étapes schématisées sur la figure 38.

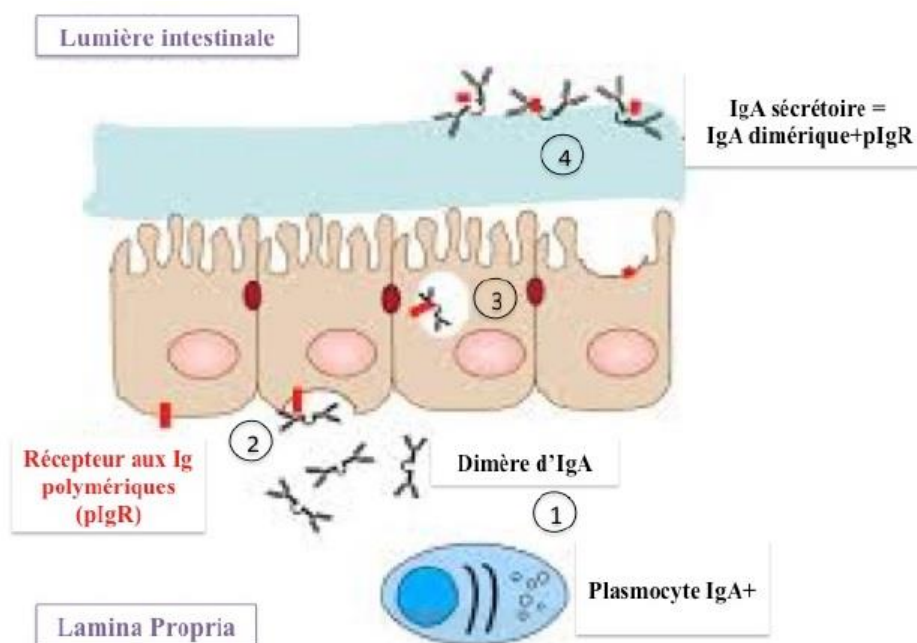


Figure 38 : Étapes de la sécrétion des IgA de la lamina propria vers la lumière intestinale (Fadlallah, 2016).

(1) Les IgA produites par les plasmocytes à IgA des centres germinatifs ou de la lamina propria sont libérées sous forme de dimère relié par la chaîne J. (2) Le dimère se dirige vers le pôle basal de l'entérocyte et se lie à un récepteur aux Ig membranaire (pIgR) par l'intermédiaire de sa chaîne J. (3) Le dimère est endocyté par l'entérocyte et le complexe migre vers le pôle apical. (4) Le complexe est sécrété du côté apical de l'entérocyte par exocytose et se retrouve dans le lumen.

II.4.1.3 Mode d'action des IgA au niveau intestinal

II.4.1.3.1 Les IgA séquestrent puis éliminent les antigènes du Tube Digestif

Les Ig quelle que soit leur classe, se lient à un déterminant antigénique spécifique. La capacité de liaison est la première fonction des anticorps et c'est par ce moyen qu'ils assurent la protection de l'organisme. Le nombre de déterminants antigéniques que chaque anticorps peut lier à la fois est nommé valence. La valence de tous les anticorps est toujours au moins égale à deux mais peut être supérieure.

La réponse immunitaire humorale digestive a pour but de neutraliser puis d'éliminer les antigènes au niveau de la lumière intestinale ou de la muqueuse. C'est en tapissant la surface des muqueuses que les IgA produites s'opposent à l'entrée des MO et de leurs toxines dans le tissu sous-jacent. Elles empêchent ainsi que ces antigènes ne franchissent les tissus et se retrouvent dans la circulation générale. Leur grande taille et leurs quatre fragments Fab facilitent la reconnaissance et la liaison aux antigènes pour constituer de volumineux complexes immuns qui facilitent les mécanismes d'élimination. La taille des complexes leur permet d'être endocytés par les cellules M des PP, ce qui rallonge le temps de contact du SI avec l'antigène et favorise un relais immunitaire par le GALT (<http://aipu2010rabat.refer.org>). Le principal mécanisme d'action décrit est celui de **l'exclusion immunologique**, dont la finalité est de confiner les MO et leurs produits de sécrétion toxiques (toxines) au niveau de la lumière intestinale. Ce rôle est rendu possible par le captage d'antigènes à plusieurs niveaux. Lorsque les complexes immuns sont formés dans la lumière intestinale, cela limite leur adhérence à l'épithélium. Enfin, les IgA, grâce leur forte affinité pour la mucine, viennent renforcer la couche de *mucus* en formant d'épais biofilms. Il existe 3 principaux mécanismes d'exclusion d'antigènes par les IgA (figure 39) :

- L'antigène est situé au niveau de la lumière intestinale. Plusieurs IgA vont reconnaître puis se lier à l'antigène, formant un complexe Ag-Ac qui le recouvre et l'isole : c'est l'opsonisation. Ce mécanisme facilite l'élimination du complexe par des cellules phagocytaires dotées de récepteurs aux opsonines (les IgA dans ce cas).
- L'antigène est intracellulaire (exemple des *virus*). Les IgA sont capables de reconnaître le pathogène durant le phénomène de transcytose et de former un complexe immun intracellulaire qui sera sécrété de la même manière puis éliminé au niveau de la lumière intestinale.
- L'antigène se trouve au niveau de la *lamina propria*. Ce cas se présente lorsque l'antigène a réussi à traverser l'épithélium. Une fois de plus, le complexe Ag-Ac intra muqueux subit une transcytose et est éliminé de la même manière que dans le cas 2.

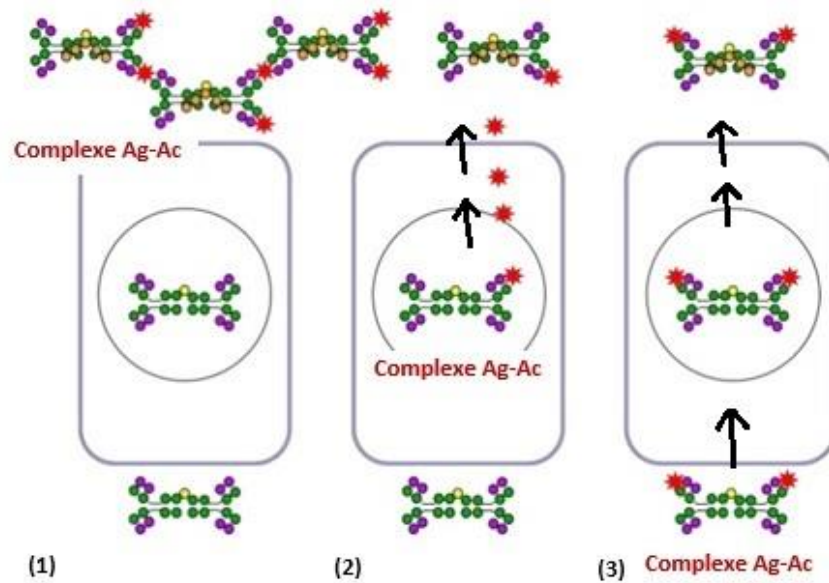


Figure 39 : Différentes voies d'élimination d'un pathogène par les IgA au niveau de la muqueuse intestinale (<http://aipu2010rabat.refer.org>)

Cas 1 : Les IgA dimérisées capturent l'antigène par leurs fragments Fab et s'associent pour former de volumineux complexes Ag-Ac . Les antigènes sont ainsi éliminés par le phénomène d'opsonisation.

Cas 2 : L'antigène situé dans une cellule épithéliale est capturé durant le phénomène de transcytose de l'IgA puis le complexe Ag-Ac est sécrété vers la lumière du TD pour être éliminé.

Cas 3 : L'antigène est situé dans la lamina propria et le complexe immunitaire est formé dans la muqueuse avant d'être endocyté et sécrété vers la lumière du TD pour être éliminé.

II.4.1.3.2 L' IgA soutient la relation entre le microbiote et son hôte

Chez le nouveau-né, il existe au niveau de la muqueuse digestive quelques foyers de LT et de petits foyers de LB à IgM de membrane, mais les organes lymphoïdes muqueux ne sont pas encore fonctionnels et les zones d'induction du GALT se trouvent à l'état immature. Les premières IgA infantiles ne sont détectables dans les sécrétions qu'à 3 semaines de vie (<http://aipu2010rabat.refer.org>). Pendant cette période de transition, l'immunité muqueuse est assurée de manière passive par les IgA contenues dans le lait maternel et transmises au nourrisson par l'alimentation. Au cours de sa vie, l'individu développe un répertoire d'IgA qui lui est propre, sous la dépendance directe des MO auxquels il est exposé. Cela inclut naturellement les bactéries du MI cutané de ses proches, mais aussi les bactéries de l'environnement, pathogènes ou non. La maturation du MALT se fait à la suite de contacts répétés entre l'enfant et son environnement, et le répertoire des IgA acquis durant les premières années de vie est à l'image de l'éducation immunitaire reçue par l'enfant. Il participera par la suite à la relation entre le MI et son organisme hôte en assurant la stabilité et la résilience de la flore, tout en étant en mesure de s'adapter à des modifications discrètes (modification spontanée d'un épitope bactérien, maturation d'affinité) ou brutales

(invasion par un pathogène ou développement d'un pathobionte) (Fadlallah, 2016). Ainsi, la reconnaissance de l'antigène et la réaction immunitaire que s'ensuit pourra avoir plusieurs conséquences : l'élimination de l'antigène reconnu ou la tolérance vis-à-vis celui-ci.

II.4.1.3.3 Le maintien d'une flore commensale bénéfique

La production d'IgA est l'une des stratégies les plus notables qu'utilise le SI pour faire la part entre bactéries commensales et bactéries pathogènes. Leur structure tridimensionnelle en T, leur forme dimérique et leur capacité d'agglutination les rend particulièrement efficaces pour le traitement des antigènes.

Des expériences ont montré que les IgA sont capables *in vitro* d'inhiber la croissance de certaines souches bactériennes, les maintenant à un niveau « non pathogène ». Un isolat d'anticorps monoclonaux issu de l'intestin de souris, nommé IgA W27, de haute affinité pour de nombreuses espèces bactériennes mais pas pour certaines souches bénéfiques telles que *Lactobacillus casei*, a inhibé *in vitro* la croissance d'*E.coli* entéropathogène. L'administration par voie orale d'IgA W27 à des souris malades a montré un effet thérapeutique sur des modèles inflammatoires (colite) et certaines maladies lymphoprolifératives (Okai, 2016).

Les IgA sont capables de moduler l'expression de certains antigènes à la surface des bactéries, ce qui réduit la réponse immunitaire envers elles. Pour le montrer, une étude a utilisé un modèle murin gnotoxénique colonisé par une seule espèce (*Bacteroides theatomicon*). La monocolonisation de souris possédant un hybridome sécrétant d'IgA spécifique d'un polysaccharide capsulaire de *B. theatomicon* a montré que la sécrétion d'IgA inhibait l'expression de cet antigène de surface. D'autre part, les souris dépourvues d'IgA développaient une réaction immunitaire plus forte vis-à-vis de la bactérie, et la bactérie réagissait en provoquant la surexpression de gènes impliqués dans le stress oxydatif, à l'origine d'une inflammation colique. Ces effets étaient réversibles par l'apport d'IgA (Peterson, 2007).

De façon paradoxale, la présence d'IgA est nécessaire au maintien d'une flore saine et variée, essentielle au bon déroulement des fonctions physiologiques de l'hôte. Plusieurs articles suggèrent que l'absence d'IgA ou la réduction de la diversité du répertoire est un facteur de risque d'apparition de phénotypes délétères et de pathologies notamment inflammatoires (Okai, 2017).

II.4.1.3.4 Un « dialogue » entre la flore commensale et immunité

L'IgA est une pièce maîtresse du dialogue immunologique entre le MI et le SI. Les complexes immuns sont reconnus par des récepteurs spécifiques des cellules M des PP et internalisés par transcytose vers la muqueuse où elles rencontrent des cellules de l'immunité innée telles que les CD au profil tolérogène (CD11c+, CD11b+, CD8-) productrices d'IL 10 (IL-10) (Alexander, 2014).

La présentation répétée des composants du MI génère des IgA spécifiques qui favorise une tolérance vis-à-vis d'une population bactérienne considérée comme inhérente à l'organisme. De plus, ces IgA ne passent pas dans la circulation sanguine : leur spectre d'action se limite à la muqueuse digestive. L'échantillonnage d'antigènes commensaux et leur présentation sélective aux cellules de l'immunité limite fortement l'inflammation qui résulterait de l'immense charge bactérienne du *lumen*. Par le biais d'un essai utilisant un système réversible de colonisation sur des souris axéniques, il a été démontré que les réponses IgA dirigées contre le MI sont remarquablement spécifiques et stables, y compris après traitement antibiotique, mais qu'elles ont tendance à perdre en efficacité au cours du temps (*Hapfelmeier, 2010*) D'où la nécessité d'un dialogue permanent pour maintenir « à jour » le répertoire des IgA.

Les LB à mémoire recirculent dans les centres germinatifs pour adapter l'affinité de leurs anticorps aux *stimuli* antigéniques mis à disposition par les MO commensaux et exogènes. La réponse IgA étant additive par nature, les fractions Fab des anticorps sont susceptibles de subir des modifications au cours du temps. L'adaptation de l'affinité est le résultat de réorganisations géniques au niveau du lymphocyte B qui se modifie discrètement par mutations somatiques successives afin de sécréter des IgA toujours plus adaptées à l'environnement antigénique (*Lindner, 2015*), (*Fadlallah, 2016*). Les CD ont par ailleurs la capacité d'induire la commutation isotypique des Ig vers un profil IgA au niveau des PP ce qui entretient la boucle immunitaire. La production d'IgA particulières est donc dépendante de la composition du TD en bactéries à un instant donné. Le répertoire immunitaire de l'hôte s'adapte aux changements de composition et aux possibles mutations subies par ses propres bactéries.

II.4.2 Le microbiote maintient une réponse immune efficace mais contrôlée

II.4.2.1 Le seuil d'activation de l'immunité contre le microbiote est élevé

Dans l'intestin, les sites inducteurs d'IgA produisent des IgA spécifiques de manière constante. La mise en jeu des réponses immunitaires muqueuses oblige à une adaptation constante à l'environnement antigénique. De ce fait, ces réponses génèrent un état de tolérance particulier nécessaire au maintien de l'homéostasie. Elles ont un caractère non inflammatoire et les IgA associées à ces réponses n'activent pas le complément. Elles ont essentiellement pour rôle de neutraliser localement les antigènes en les empêchant de gagner l'immunité systémique (<http://aipu2010rabat.refer.org>). En prévenant la colonisation systémique par ces espèces, la reconnaissance d'épitopes bactériens par les IgA élimine le potentiel inflammatoire des réponses (*Alexander, 2014*).

Les réponses IgA dirigées contre les bactéries du TD ont un seuil d'activation très élevé, c'est-à-dire qu'elles nécessitent une très grande concentration d'épitopes bactériens pour pouvoir avoir lieu (environ 10^9 bactéries). De plus, la demi-vie de ce type d'anticorps une fois produit est assez longue (environ 16 semaines au niveau de la muqueuse digestive) (*Alexander, 2014*) ce qui illustre bien le phénomène de « mémoire immunitaire » à ce niveau. Ces caractéristiques nous permettent d'affirmer que l'IgA favorise le mutualisme entre les procaryotes et leur hôte.

II.4.2.2 Le microbiote influence les populations de lymphocytes T

On note de façon intéressante que les LT spécifiques de bactéries du MI ne prolifèrent pas dans les organes lymphoïdes extra-intestinaux tels que la rate ou les MLN, ce qui limite fortement la réaction inflammatoire qui surviendrait dans le cas contraire ; ce phénomène est attribuable aux IgA endogènes qui par leur action empêchent le contact des antigènes avec les CD des nœuds mésentériques, comme cela a été suggéré par une étude qui a observé l'action des IgA sur la souris après mise en contact avec la flagelline. Chez les souris déficientes en IgA, le test à l'antigène a pour conséquence une prolifération rapide des LT au niveau systémique (Cong, 2009).

L'avancée de nos connaissances sur la relation MI-hôte semble montrer que des groupes définis de bactéries influencent de manière dominante le SI dans des conditions normales d'homéostasie. En termes biologiques d'écosystème ces MO sont qualifiés en anglais d'espèces « clef de voûte » « *keystone species* ». Une étude récente a cherché à déterminer l'influence du MI sur les populations lymphocytaires et a démontré que l'espèce *Bifidobacterium adolescentis* était en mesure de promouvoir la production de LTh17 et leur accumulation au niveau intestinal chez des souris monocolonisées. L'expansion de LTh17 est généralement associée à une forte activité inflammatoire, particulièrement contre les pathogènes extracellulaires. Cependant, et de façon étonnante, la même étude a souligné que la stimulation de LTh17 par *B. adolescentis* ne générât pas de réaction inflammatoire intestinale ou systémique chez l'hôte (Tan, 2016), (Ivanov, 2009).

De même, il apparaît que la présence de l'espèce *Bacteroides fragilis* dans le TD stimule l'expansion de LTreg CD4+, CD25+ et FOXP3+ qui en inhibant les réponses immunitaires ont une action globalement anti-inflammatoire. Ce phénomène est rendu possible par les CD de la *lamina propria* qui prélèvent directement le MO grâce à leurs dendrites et échantillonnent le Polysaccharide A (PSA) avant de le présenter aux LT environnants (Sommer et Bäckhed, 2013) (figure 40)

II.4.2.2.1 Les Bactéries Filamenteuses Segmentées

Les Bactéries Filamenteuses Segmentées (SFB) sont un exemple d'espèce clef de voûte du TD. Elles colonisent le TD des rongeurs, des poulets et des poissons. Ces bactéries Gram-positives, anaérobies et sporulées appartiennent au genre *Clostridium* spp., inclus dans la famille des *Clostridiaceae* du phylum des *Firmicutes*. Au niveau de l'iléon terminal des souris, leur présence a été associée à la stimulation de l'immunité intestinale avec un effet prépondérant sur la promotion et l'accumulation de lymphocytes helper Th17 et Th1 dans l'intestin grêle, ainsi que sur la production d'IgA protectrices. (Gaboriau-Routhiau, 2009), (Ivanov, 2009), (Umesaki, 1999). Cette puissante réponse Th17 a été associée à la capacité de l'hôte à se défendre contre certains pathogènes intestinaux (Ivanov, 2009), mais aussi à une influence sur les effets systémiques de l'inflammation (Lee, 2011), (Yang, 2014). L'expérience montre que des souris colonisées uniquement avec des SFB développent une réaction immunitaire neurologique plus forte que les souris axéniques après induction d'une encéphalopathie auto-immune en laboratoire. Cela serait lié à une production accrue de LTh17, producteurs d'IL-17, au niveau du système nerveux (Lee, 2011).

A la différence de la plupart des bactéries commensales qui résident à l'extérieur de la « zone démilitarisée », les SFB sont proches de la muqueuse intestinale et adhèrent aux cellules épithéliales et aux Plaques de Peyer. Cette association induit une réorganisation du cytosquelette au niveau des sites de *contact* (Sczesnak, 2011). C'est ce contact étroit qui permettrait à certains MO de mieux stimuler l'immunité. (Atarashi, 2015) ; (Ivanov, 2009).

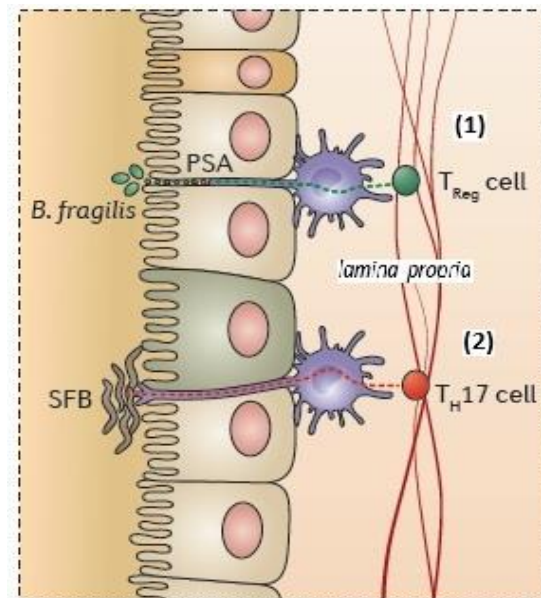


Figure 40 : Action de deux types de bactéries « clef de voûte » sur l'immunité intestinale (Sommer et Bäckhed, 2013)

Au niveau de la lumière intestinale (à gauche), les CD de la *lamina propria* (à droite) échantillonnent les antigènes bactériens et les présentent aux LT provoquant ainsi leur expansion : *Bacteroides fragilis* (1) par le biais du PSA induit l'expansion de LTreg aux propriétés anti-inflammatoires. Les SFB (2) induisent l'expansion des LTh17 qui sont pro-inflammatoires.

II.4.2.3 Les réponses anti-flagelline chez la souris

Les CD ainsi que des cellules épithéliales intestinales au niveau basolatéral sont pourvues de récepteurs de type Toll-Like, dont le TLR5 qui détecte la flagelline, protéine exprimée par les bactéries flagellées (Gewirtz, 2001), (Feng, 2012).

La présence de flagelline active les récepteurs TLR5 pour moduler l'expression de cytokines et autres molécules de signalisation. L'administration de flagelline stimule de manière considérable la production d'IL-23, cytokine pro-inflammatoire essentielle au contrôle de l'inflammation au niveau intestinal (Kinnebrew, 2012). Il est intéressant de noter que seule la flagelline présente au niveau basal de cellules épithéliales est susceptible de déclencher une réaction inflammatoire, la flagelline

au niveau apical n'ayant aucun effet. Les bactéries commensales de la lumière intestinale ne sont donc pas affectées par ce contrôle, seules les bactéries ayant traversé l'épithélium le sont.

Les souris déficientes en TLR5 (TLR5^{-/-}) ont des niveaux élevés de cytokines pro-inflammatoires par rapport aux souris sauvages et une susceptibilité plus élevée aux colites induites par IL-1 (Carvalho, 2012). De plus, elles présentent un MI altéré avec une proportion plus élevée de *Proteobacteria*, en particulier d'espèces de l'ordre des Entérobactéries (Carvalho, Koren, 2012), (Alexander, 2014). Par ailleurs, de nombreux composés microbiens, tels que le lipopolysaccharide (LPS, composant majeur des bactéries Gram négatives) inhibent l'expression de TLR5 au niveau des CD (Gewirtz, 2001).

Ces informations plaident en faveur d'une interaction étroite entre l'hôte et son microbiote durant laquelle l'organisme fait preuve de sensibilité vis-à-vis des bactéries commensales en tolérant les bactéries luminales et en déclenchant les mécanismes de l'immunité si ces mêmes bactéries traversent l'épithélium. L'absence de mécanismes de contrôle entraîne quant à lui une exacerbation de l'immunité innée inflammatoire et une faiblesse dans le contrôle des populations bactériennes comme le montrent les modèles de souris déficientes en TLR5 (TLR5^{-/-}).

III. Déséquilibre du microbiote et terrain pathologique

III.1 Notion de dysbiose

Par opposition à la « normobiose » évoquée précédemment, qui correspond à l'établissement et au maintien d'une flore bénéfique sur le long terme, il existe des situations au cours desquelles le profil d'espèces du MI subit des perturbations. La dérégulation du microbiome intestinal, désignée par le terme général de « dysbiose » peut revêtir plusieurs aspects. Dans tous les cas, elle est la conséquence d'une importante modification du nombre de certaines espèces habituellement retrouvées dans le TD. Lorsque ces perturbations s'installent sur le long terme, elles deviennent potentiellement pathologiques pour l'hôte.

Dans une situation de dysbiose, certains MO bénéfiques du *tractus* digestif peuvent voir leur nombre diminuer drastiquement. A l'opposé, d'autres populations normalement maintenues par le SI à l'état d'espèces « minoritaires » peuvent trouver des conditions favorables à leur développement, coloniser de nouvelles niches écologiques et ainsi augmenter en nombre. Au cours d'une dysbiose, on peut aussi assister à l'implantation d'espèces qui ne font pas partie de la flore commensale normale. La prolifération de celles-ci peut conduire à des pathologies aiguës ou chroniques du TD. Il est à noter que certaines espèces commensales en petit nombre peuvent devenir pathogènes en grand nombre : on parle de « pathobiontes ».

III.1.1 Les causes possibles d'une dysbiose

Bien que la stabilité du MI mature soit relativement grande, plusieurs événements peuvent être à l'origine d'une dysbiose à court ou long terme. Il s'agit le plus souvent des facteurs environnementaux délétères pour les MO commensaux. Au cours de sa vie, l'individu est plus particulièrement sensible à ces facteurs lors de la fenêtre d'implantation du MI qui a lieu durant la petite enfance.

III.1.1.1 La dysbiose aiguë ou « rupture de l'eubiose »

La dysbiose aiguë fait suite à un événement perturbateur qui vient rompre l'équilibre microbiote-hôte. Ce phénomène, qualifié de « rupture aiguë de l'eubiose », est provoqué par deux principaux mécanismes : une infection gastro-intestinale aiguë (IGA) ou un traitement médicamenteux (initié dans le cadre d'une affection intestinale ou extra-intestinale) (*Rahmouni, 2016*).

III.1.1.1.1 L'infection gastro-intestinale aiguë

Lors d'une infection bactérienne ou virale, le MI d'un individu subit des perturbations. L'agent infectieux trouve dans le TD les conditions favorables à sa multiplication et s'y implante transitoirement. Le rapport de force entre les espèces présentes est ainsi modifié et certaines espèces bénéfiques diminuent au profit de l'agent infectieux. L'inflammation aiguë ou l'action de toxines infectieuses sécrétées par le pathogène peut conduire à la modification topographique du milieu intestinal (altération de l'épithélium, surproduction de *mucus*), phénomènes également délétères pour le MI.

La plupart des IGA, en particulier celles rencontrées durant l'enfance, sont bénignes et guérissent spontanément. Après élimination du pathogène par le SI, le MI retourne spontanément à un état d'équilibre. Il existe cependant des cas où l'équilibre rompu ne parvient pas à se corriger. S'installe alors un déséquilibre de composition du MI et ce même après l'élimination de l'agent infectieux. La période durant laquelle le MI est déséquilibré est une période sensible car l'état aigu de dysbiose favorise potentiellement l'apparition d'états pathologiques autres. Il semblerait à titre d'exemple que l'exposition précoce et répétée du TD à des agents infectieux favorise par la suite un terrain pour l'inflammation et les maladies chroniques. Des observations ont montré que les personnes ayant présenté une IGA à type de gastro-entérite avaient plus de chances de développer des affections intestinales chroniques par la suite (*Gradel, 2009*).

Une étude menée au Royaume-Uni a cherché à mettre en évidence ce lien grâce au suivi de deux cohortes : un 1er groupe de 43.013 individus ayant connu un épisode d'IGA bactérienne à *Salmonella* spp. ou *Campylobacter* spp. ou *Shigella* spp. ou autre, et un 2ème groupe de 50.000 individus non atteints. Il a été conclu que le risque de développer un état inflammatoire chronique était augmenté à la suite d'une IGA. Le suivi des cohortes pendant une durée moyenne de 3,5 ans a permis de calculer une incidence de 68,4/100.000 année-personne après une IGA contre 29,7/100.000 année-personne pour la population contrôle (*García Rodríguez, 2006*). Cette étude s'est également penchée sur l'incidence de l'apparition de la Maladie de Crohn post-infectieuse et a démontré que le risque relatif de développer la maladie était plus grand après une épisode infectieux, spécialement durant la première année suivant l'infection.

Une autre étude réalisée au Danemark, en faisant le rapport de l'incidence des Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) observées entre un groupe de sujets infectés et un groupe contrôle, a calculé des ratios d'incidence de maladies inflammatoires intestinales à la suite d'infections par des bactéries du genre *Campylobacter* ou *Salmonella*. Ces ratios allaient de 5,4 à 9,8 l'année suivant l'IGA, puis allaient en décroissant (de 1,6 à 2,2 de la deuxième à la dixième année). Après 10 ans, l'incidence était de nouveau la même pour les deux groupes (ratio de 0,8 à 1,8). Au total, de 5 à 30% des patients ayant connu un épisode aigu de GEI finissaient par développer des symptômes chroniques gastro-intestinaux (*Jess, 2011*).

Ces observations semblent montrer que les pathogènes entériques dérégulent l'homéostasie intestinale à distance de l'épisode infectieux, même lorsque l'immunité du sujet a déjà permis leur élimination. Il a été suggéré que les anticorps produits durant l'IGA contre certains genres bactériens

(*Campylobacter* sp. ou *Salmonella* sp.) seraient à l'origine de l'initiation de processus conduisant à l'état inflammatoire chronique (Jess, 2011).

III.1.1.1.2 Rupture de l'eubiose par traitement médicamenteux

III.1.1.1.2.1 Les antibiotiques

Les antibiotiques (ATB) (du grec *anti-* « contre », et *bios* « la vie ») sont des substances, d'origine naturelle ou synthétique, dont l'action est de tuer des bactéries ou d'empêcher leur croissance. Dans le premier cas, on parle d'une action bactéricide, dans le deuxième d'une action bactériostatique. Les ATB interfèrent sur un élément essentiel à la survie des bactéries. Il peut s'agir de :

- La **paroi** bactérienne. Les β -lactamines bloquent la synthèse d'un composé essentiel à la paroi, le peptidoglycane.
- La **membrane cellulaire**.
- L'**ARN** bactérien, en empêchant la production de celui-ci ou sa traduction en protéines.
- L'**ADN** bactérien en inhibant la synthèse des acides nucléiques ou leur métabolisme.

Ils n'ont pas d'effet direct sur les cellules eucaryotes, car ils ciblent des axes métaboliques propres aux cellules procaryotes. Il existe plusieurs classes d'antibiotiques, caractérisée chacune par une structure, un mécanisme d'action et un spectre d'activité sur les MO (Tableau 2).

Après la Seconde Guerre Mondiale, l'utilisation généralisée des ATB a constitué l'un des progrès thérapeutiques les plus importants du XXI^e siècle. Aujourd'hui, ce sont toujours de précieuses molécules et leur bénéfice thérapeutique est important en santé publique. L'apparition successive de plusieurs classes d'ATB a permis de lutter contre un grand nombre de bactéries pathogènes, et le développement de générations au sein d'une même classe a permis d'adapter chaque fois plus finement le spectre d'action.

L'efficacité des ATB n'est pas sans contrepartie toutefois : chez le sujet traité, l'antibiotique exerce son action non seulement sur les germes à traiter, mais aussi sur l'ensemble de ses microbiomes bactériens qui hébergent des germes sensibles. En particulier, ils ont tendance à déstabiliser l'équilibre de la flore digestive, car les communautés bactériennes y sont très importantes, et les ATB souvent en contact avec le TD car souvent administrés par voie orale. Lors d'un traitement, on observe une réduction significative des organismes pathogènes mais aussi celle des bactéries sensibles du MI, avec pour résultat la réduction de leur nombre et un remodelage d'espèces. Le risque de rupture de l'eubiose est d'autant plus grand que le traitement est long, que le spectre d'action de l'ATB est grand et que le dosage est fort. Il arrive que plusieurs ATB soient utilisés en même temps, ce qui augmente davantage le risque. La diminution de certaines populations bactériennes protectrices telles que les *Bifidobactéries* et les *Lactobacilles* serait en cause dans la plupart des cas (Hamouch, 2018). Les niches écologiques laissées vacantes, associées à une diminution de l'effet barrière, sont autant de possibilités pour les bactéries environnementales de s'implanter. Un enfant exposé précocement à des ATB serait encore plus sensible à leur effet délétère car cela

nuirait aux mécanismes d'établissement du MI adulte sain durant une période critique de développement. Ainsi, cela interférerait avec les mécanismes de tolérance au soi acquis avec la constitution d'un répertoire d'IgA, alors même que toutes les populations bactériennes ne sont pas encore implantées.

Familles	Mode d'action	Effets secondaires	Action sur bactéries à Gram + et/ou -
Les BETALACTAMINES	Action bactéricide	Diarrhée, allergie, toxicité digestive, rénal...	GRAM +/-
Les AMINOSIDES	Action bactéricide	Toxicité au niveau de l'audition et rénale.	GRAM +/-
Les MACROLIDES	Action bactériostatique	Allergie, troubles digestifs, toxicité hépatique...	GRAM +
Les LINCOSAMIDES	Action bactériostatique	Allergie, troubles digestifs, toxicité hépatique...	GRAM +/-
Les SYNERGISTINES	Action bactériostatique	Allergie, troubles digestifs, toxicité hépatique...	GRAM +/-
Les TETRACYCLINES	Action bactériostatique	Allergie, toxicité digestive, rénale, au niveau neuronal...	GRAM +/-
Les QUINOLONES	Action bactéricide	Réaction allergique, toxicité auditive, tendinite ...	GRAM -
Les SULFAMIDES	Action bactériostatique	Allergie, toxicité sanguine, rénale...	GRAM -
Les GLYCOPEPTIDES	Action bactéricide	Réaction allergique	GRAM +
Les IMDAZOLES	Action bactéricide	Réaction allergique	GRAM +/-
Les POLYMYXINES	Action bactéricide	Réaction allergique	GRAM -
AUTRES	En fonction de l'antibiotique	Divers en fonction de l'antibiotique.	GRAM +/-

Tableau 2 : Quelques familles d'antibiotiques couramment utilisées en thérapeutique et leurs caractéristiques (<http://antibiotiques-tpe-by-eca.e-monsite.com>)

III.1.1.2 La dysbiose induite par l'hygiène de vie

Il n'existe pas une cause mais plusieurs causes liées à l'apparition de la dysbiose. L'hygiène de vie tient un rôle prépondérant sur la composition du MI. Les activités du quotidien ayant un impact négatif sur la flore peuvent être : une mauvaise alimentation, le sport lorsqu'il est pratiqué en excès, mais aussi le stress chronique, la pollution environnementale, l'âge ou encore des modifications hormonales (Figure 41). Tous ces paramètres sont autant de paramètres qui peuvent promouvoir le développement de pathobiontes au détriment des symbiontes.



Figure 41 : Les causes de la dysbiose intestinale sont multiples (<http://vanaroms47.canalblog.com>)

III.1.1.2.1 Un régime alimentaire néfaste est délétère

Il existe une relation étroite entre l'alimentation et MI. Les entérotypes bactériens sont sous l'influence des habitudes alimentaires de l'hôte. Le MI s'adapte rapidement aux changements d'alimentation en se modifiant : les espèces majoritaires sont toujours celles qui sont le mieux adaptées à la métabolisation des substrats alimentaires mis à disposition par l'hôte. La mise en place régime riche en graisses et en sucres, qualifié de « régime occidental » chez des souris provoque de profonds changements dans la composition du MI de ces animaux, avec notamment l'augmentation de l'abondance relative des *Firmicutes* et la diminution des *Bacteroidetes*. Des analyses métagénomiques et biochimiques ont révélé que le potentiel métabolique du MI était modifié au cours d'un tel régime, avec un enrichissement en espèces plus aptes à l'extraction énergétique des aliments (Turnbaugh, 2006). Le même auteur montrait deux ans plus tard que ces modifications étaient réversibles et s'estompaient à la suite de la reprise d'un régime limitant la prise de poids (Turnbaugh, 2008).

Des travaux ont caractérisé plus précisément la modulation du MI induite par l'alimentation. Il en est ressorti qu'un régime hyper énergétique avec abondance de lipides provoquait chez la souris une diminution de populations bactériennes telles que les genres *Bifidobacterium* et *Bacteroides*, ou les espèces *Clostridium coccoides* et *Eubacterium rectale*. Les Bifidobactéries, comme évoqué plus tôt, ont un rôle protecteur grâce à leur action anti-inflammatoire et tolérogène et à leur influence sur le SI intestinal, lié à la production d'AGCC. Leur diminution a été corrélée non seulement à l'augmentation du poids corporel et de la masse grasse, mais aussi avec l'insulinorésistance et l'inflammation de bas-grade (Cani, 2007).

Quelques observations similaires ont pu être faites chez l'Homme où l'obésité est associée à une diminution de *Bifidobacterium* sp. et du sous-groupe *Clostridium leptum* (Schwiertz, 2010) or la

réduction du groupe *Clostridium leptum* au sein du MF a été observée chez de nombreux patients atteints de maladies inflammatoires intestinales.

Des travaux plus récents ont démontré l'existence d'un MI « typique » de l'individu obèse et ont supposé que celui-ci était transmissible. Le MI d'hommes minces ou obèses a été transplanté à des souris axéniques dont on a observé l'évolution. La première observation était la suivante : la cohabitation entre les souris porteuses du MI du type « mince » et celles porteuses du MI « obèse » rend possible le transfert de bactéries « minces » vers les individus « obèses », limitant l'adiposité chez ces dernières. La deuxième observation était que la colonisation efficace par le microbiote de souris « minces » dépendait du type d'alimentation reçu par les souris. En effet, celle-ci ne pouvait avoir lieu de manière efficace que lorsque les souris obèses recevaient une alimentation normo calorique, faible en lipides et riche en fibres. Une alimentation hypercalorique, pauvre en fibres et riche en AG saturés ne permettait pas le transfert. Par ailleurs, l'analyse plus approfondie des communautés bactériennes a montré que le transfert concernait de nombreuses bactéries du genre *Bacteroides*, ce qui leur suggère un rôle protecteur vis-à-vis de l'obésité (Ridaura, 2013).

III.1.1.2.2 Alcoolisme et microbiote intestinal

Une consommation excessive de boissons alcoolisées provoque des modifications quantitatives et qualitatives du MI. D'un point de vue quantitatif, l'alcool augmente le nombre de bactéries présentes dans l'intestin grêle, phénomène nommé pullulation bactérienne de l'intestin grêle. Ce phénomène a été observé au bout de 3 semaines chez des souris soumises à un gavage à l'alcool (Yan, 2011).

D'un point de vue qualitatif, on observe une diminution considérable de nombreux genres bactériens des *Firmicutes*, tels que les bactéries lactiques (*Lactobacillus* spp. et *Lactococcus* spp.) ou *Faecalibacterium prausnitzii* (Leclercq, 2014) et une hausse du phylum *Bacteroidetes* (dont *Bacteroides* spp) tel que cela a été observé chez ces mêmes souris au bout de 3 semaines (Yan, 2011).

D'autres observations indiquent que les Entérobactéries sont celles qui augmentent le plus en cas d'alcoolisme. Les patients cirrhotiques présentent des perturbations considérables de leur MI avec une PBIC de grande ampleur au niveau intestinal et fécale et la prolifération d'espèces potentiellement pathogènes telles que *E.coli* ou le genre *Staphylococcus* (Liu, 2004).

Sur la barrière intestinale, l'éthanol a un effet direct et indirect (par le biais de son métabolite, l'acétaldéhyde) sur les jonctions serrées des cellules épithéliales. En particulier, il entraîne une déplétion en occludines, protéine transmembranaire, au niveau du côlon (Mir, 2016). L'alcoolisme fragilise la barrière épithéliale, ce qui augmente la perméabilité de l'intestin et favorise le passage de bactéries, responsable en grande partie l'apparition de lésions tissulaires. Quant à la dysbiose liée à l'alcoolisme, elle serait provoquée par l'augmentation de la perméabilité intestinale (Leclercq, 2014).

L'équipe de Yan et Al, a démontré une augmentation de la translocation bactérienne chez les souris après 1 semaine d'exposition à l'éthanol grâce à des cultures sanguines positives. La même équipe a

également établi un lien entre la translocation de bactéries et de produits bactériens et l'apparition d'hépatopathies alcooliques (Yan, 2011).

III.2 Dysbiose et désordres inflammatoires intestinaux

La dysbiose entraîne le plus souvent la perte du phénotype mutualiste du MI observé chez l'individu en bonne santé. Un état de dysbiose installé durablement constitue une porte d'entrée pour plusieurs pathologies inflammatoires, favorisées par une barrière intestinale fragilisée et la rupture et des mécanismes de contrôle des populations bactériennes.

III.2.1 Dysbiose et MICI

Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) ou IBD pour l'anglais « *Inflammatory Bowel Diseases* » regroupent deux maladies qui sont la Maladie de Crohn (MC) et la Rectocolite Hémorragique (RCH). Toutes deux ont en commun l'inflammation d'une partie plus ou moins étendue de l'intestin causée par une hyperactivité du SI et se caractérisent par un état de dysbiose. On estime qu'en France, plus de 250 000 personnes sont atteintes d'une MICI et 3 millions en Europe. Les MICI sont le plus souvent diagnostiquées chez des sujets jeunes âgés de 20 à 30 ans mais peuvent survenir à tout âge ; en effet, 20 % des cas concernent des enfants (<https://afa.asso.fr>).

Il n'existe pas actuellement de traitement curatif pour ces affections qui peuvent être extrêmement invalidantes du fait de leur symptomatologie. Leur prise en charge est essentiellement symptomatique et consiste à soulager l'inconfort lié à l'inflammation chronique, notamment lors des poussées inflammatoires. Des voies de recherche sont cependant en cours pour améliorer la prise en charge et développer de nouveaux traitements.

III.2.1.1 La Maladie de Crohn

La MC fut décrite pour la première fois en 1932 par le gastro-entérologue new-yorkais Burril B. Crohn, qui lui laissa son nom. Il s'agit d'une maladie inflammatoire chronique et systémique, qui affecte principalement le *tractus* gastro-intestinal bien qu'elle se caractérise aussi par des manifestations extra-intestinales. La MC peut concerner tous les segments du TD, de la bouche à la partie distale.

III.2.1.1.1 Physiopathologie de la Maladie de Crohn

Cette maladie chronique comporte des phases d'activité (ou « poussées ») d'intensité variable alternant avec des phases de rémission plus ou moins complètes et prolongées. Au cours de la MC, l'architecture de la muqueuse est profondément et durablement perturbée. Les lésions inflammatoires de la muqueuse digestive sont nommées lésions et leur apparence est comparable à la marque d'un objet métallique brûlant sur la paroi (<https://afa.asso.fr>).

Le caractère chronique de l'inflammation mène à une destruction progressive de la paroi intestinale avec une altération de l'architecture des muqueuses et une perte des fonctions physiologiques qui lui sont associées. En se creusant, les lésions inflammatoires du TB peuvent se transformer en fistules, perforations de la paroi digestive avec infiltration de cellules immunitaires). En outre, les processus de cicatrisation provoquent à certains endroits des épaissements de la paroi à l'origine de sténoses, rétrécissements localisés du diamètre intestinal (*Hamouche, 2018*).

Ces formes pathologies sont appelées respectivement MC pénétrante et MC sténosante. A terme, le risque de développer un cancer digestif est nettement accru chez les individus atteints. Cela est particulièrement vrai pour le cancer colorectal, mais s'observe aussi pour d'autres types de tumeurs comme l'adénocarcinome de l'intestin grêle ou le lymphome (*Dray, 2008*).

Au cours de la MC, les MI est profondément perturbé. L'état de dysbiose est lié à la perte de l'architecture des muqueuses qui est le socle de la croissance bactérienne et à une baisse de la tolérance du SI vis-à-vis de nombreuses bactéries commensales. Cela a pour conséquence la réduction du nombre de bactéries, la perte de la diversité d'espèces et la moindre efficacité des mécanismes de protection.

L'affection touche les différents segments du TD avec des fréquences variées (*Lichtenstein, 2009*) :

- Dans 45% des cas, les lésions concernent l'iléon et le côlon (iléocolite), avec une prédilection pour le côlon droit.
- Dans 35% des cas, les lésions concernent l'iléon seul (iléite).
- Dans 20% des cas, les lésions concernent le côlon seul (colite granulomateuse).

D'autres sources présentent des chiffres différents. Dans une étude prospective réalisée sur une population de 306 individus malades, il a été montré que dans 45% des cas, la MC touchait la partie terminale de l'iléum (L1 dans la classification de Montréal). Le côlon était concerné dans 32% des cas (L2 de la classification), alors que l'iléo-colon ensemble (L3) ainsi que la partie supérieure du TD (bouche, œsophage et estomac) (L4) étaient moins touchés avec des fréquences respectives de 19% et 4% (*Thia, 2010*).

III.2.1.1.1.1 La classification de Montréal

La symptomatologie des patients permet de classer ceux-ci en différents groupes selon la localisation des lésions intestinales et l'apparition de troubles systémiques (*Baumgart et Sandborn, 2012*). La classification communément admise est la classification de Montréal, bien que d'autres existent. Celle-ci tient compte de l'âge et du phénotype clinique (type de lésions et leur localisation). Elle permet aussi de classer les patients selon leurs caractéristiques (Tableau 3) et la gravité de leurs symptômes (Figure 42), (Tableau 4).

Grâce aux caractéristiques de la maladie, on obtient un code composé de lettres et de chiffres qui est un raccourci pour se référer à l'état d'un patient. Exemple : $A_3L_2B_2$ (patient âgé de plus de 40 ans, présentant des lésions ulcératives au niveau du côlon, à type de lésions sténosantes).

On remarque souvent que la localisation de la maladie demeure assez stable au cours de temps pour un patient donné (Peyrin-Biroulet, 2010), alors que le degré de pathogénicité ainsi que le type de lésions observées sont susceptibles de varier au cours de la maladie (Thia, 2010). On remarque par ailleurs que les zones touchées sont clairement séparables des zones saines lors d'explorations.

Une cohorte d'individus nouvellement diagnostiqués âgés de 17 à 40 ans a été suivie sur une longue durée (20 ans). En début d'étude, la plupart des individus (81%) présentaient un phénotype non pénétrant et non sténosant (B1). Quatorze % avaient un phénotype pénétrant (B3 ou B3p) et 5% d'entre eux un phénotype sténosant (B2). À 90 jours, 19% de ces patients ont vu leur phénotype évoluer avec l'apparition d'une symptomatologie plus agressive. Au bout de 20 ans, cela concernait 51% d'entre eux. L'aggravation du phénotype clinique était plus fréquente lorsque la maladie était associée à des fistules iléales et péri-anales au moment du diagnostic (Thia, 2010).

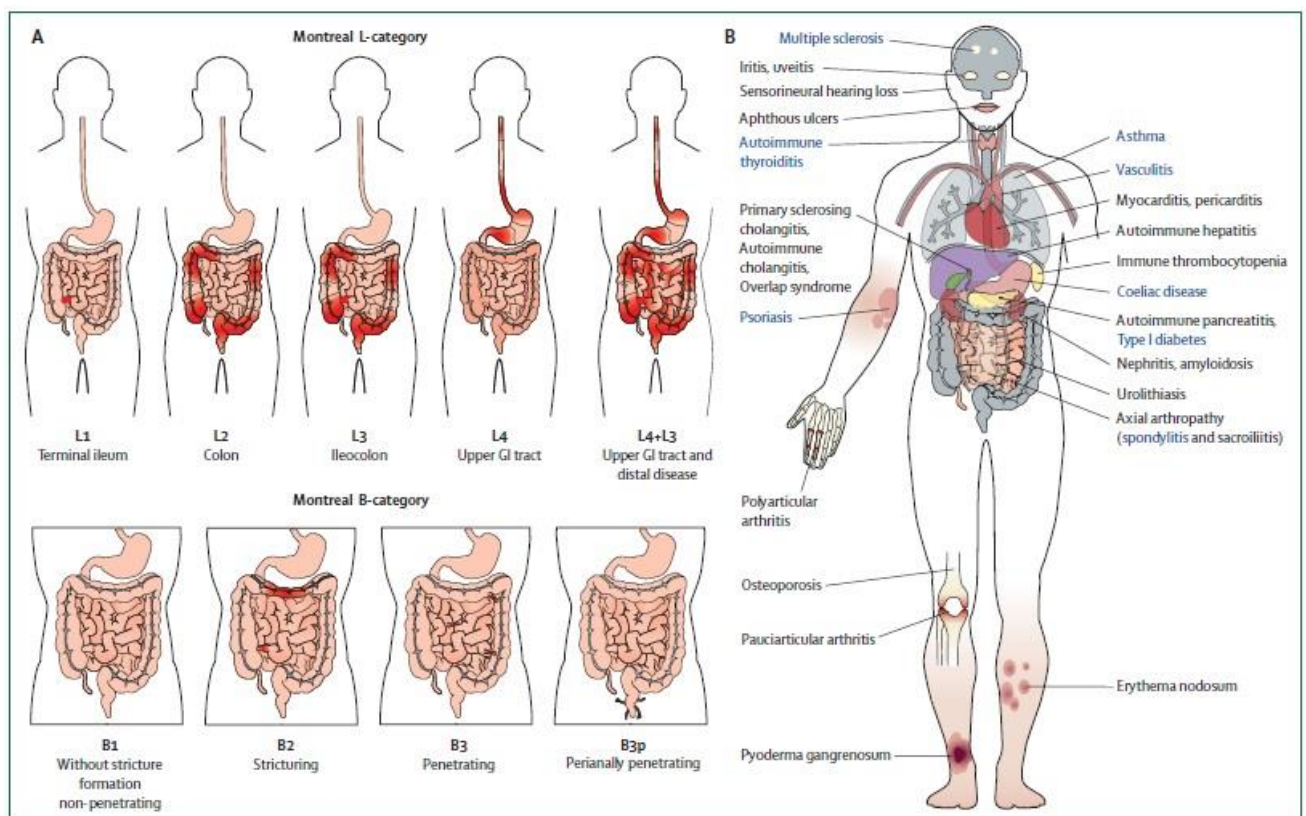


Figure 42 : Classification de Montréal de la MC (Baumgart et Sandborn, 2012).

Tableau A : Localisations digestives et types de lésions associées à la MC

L1 – L5 : Localisation des lésions

B1 – B3p : Types de lésions intestinales. P : atteinte péri-anales

B1 : Sans formation de sténoses et non pénétrant

B2 : Sténosante

B3 : Pénétrante

B3p : Pénétrante dans la zone péri-anale

Image B : Manifestations extra-intestinales et affections auto-immunes fréquemment associées à la MC.

Âge	≤ 16 ans	≥ 17 ans et ≤ 40 ans	≥ 40 ans
A _x	A1	A2	A3

Tableau 3 : Répartition des patients en fonction de l'âge selon la classification de Montréal

III.2.1.1.2 Symptomatologie de la Maladie de Crohn

La particularité de la MC est d'être ponctuée par des poussées, faisant suite à des périodes de « silence symptomatologique » relatif. Les symptômes associés à ces poussées sont fréquemment des douleurs abdominales, de la fièvre, ainsi que des signes cliniques d'obstruction intestinale ou des épisodes diarrhéiques avec présence possible de sang et/ou mucus dans les selles. Certaines constantes vitales peuvent être altérées de façon plus ou moins fréquente selon les stades : on cite une augmentation de la température corporelle ou une accélération du pouls (Tableau 4).

La fatigue associée et l'existence d'épisodes diarrhéiques fréquents peuvent altérer profondément la qualité de vie des malades en rendant difficile voire impossible l'exercice d'une activité professionnelle et en occasionnant des difficultés au quotidien. Sont également observées de manière courante des carences vitaminiques et/ou nutritionnelles liées au phénomène de malabsorption chronique des nutriments. Lorsque la MC se déclare chez l'enfant, la malabsorption peut être la cause de graves retards de croissance. Au cours des poussées, on peut observer des pertes de poids liées à la malabsorption et possiblement à la diminution de l'apport alimentaire, et les anorexies sur le long terme sont fréquentes.

Peuvent s'ajouter à ceci de graves complications à long terme. La chronicité de l'inflammation oblige à un renouvellement cellulaire accéléré pouvant aboutir à des aberrations génétiques et à des phénomènes de cancérisation. À terme, un patient atteint présente un risque plus élevé d'évolution vers un cancer colorectal (Dray, 2008).

	S0 : rémission	S1 : légère	S2 : modérée	S3 : sévère
Selles / jour	Absence de diarrhée	≤ 4	≥ 4	≥ 6
Présence de sang	Non	Parfois	Oui	Oui
Pouls	Normal	Normal	Normal	> 90 bpm
Température	Normale	Normale	Normale ou ≤ 37,5°C	> 37,5°C
Hémoglobine	Normale	Normale	Normale	< 10 g/dL

Tableau 4 : Répartition des patients en fonction des symptômes selon la classification de Montréal

Il existe la catégorie S4 (non représentée sur le tableau) qui correspond à des formes pancoliques très sévères.

III.2.1.1.3 Etiologies probables de la Maladie de Crohn

Dans les années 30, Burril B. Crohn et son équipe tentèrent de démontrer que l'affection qui touchait l'intestin de leurs patients et qu'ils nommèrent d'abord *Terminal ileitis* était causée par un MO pathogène, *Mycobacterium paratuberculosis*. Ils ne purent toutefois isoler la bactérie, presque indétectable au microscope optique (<https://fr.wikipedia.org>). Aujourd'hui, l'étiologie précise de la MC n'est que partiellement élucidée mais nos connaissances nous permettent de penser que celle-ci serait causée par un ou plusieurs facteurs environnementaux déclenchants, qui s'ajouteraient à une susceptibilité innée au développement de l'affection, probablement d'origine génétique.

Cette maladie touche autant les hommes que les femmes et se déclare le plus souvent chez les adolescents ou les jeunes adultes (*Hamouche, 2018*). L'étude de Thia, qui s'appuyait sur une population de 306 individus, montrait que plus de la moitié étaient diagnostiqués entre 17 et 40 ans (*Thia, 2010*). La MC, du fait de l'augmentation de son incidence et de sa prévalence, et de la présence fréquente de symptômes extra-intestinaux, intéresse des praticiens de plus en plus variés.

III.2.1.1.3.1 Le terrain génétique est à l'origine d'une susceptibilité

L'hypothèse d'une susceptibilité génétique à la maladie est assez ancienne. Il existerait des zones au niveau de certains gènes, les « *loci* » qui seraient en mesure, par leur action isolée ou conjointe, de favoriser le développement de la maladie à un âge donné de la vie.

L'existence de groupes de sensibilité au sein d'une même famille a été évoqué. en Allemagne, une étude nationale portant sur 189 jumeaux (68 monozygotes et 121 hétérozygotes) a montré que 35% de jumeaux monozygotes étaient concordants pour la MC (présentaient tous deux la pathologie), alors que seulement 3% de jumeaux dizygotiques étaient concordants (*Spehlmann, 2008*). Il existe aussi une importante concordance génotype-phénotype chez des vrais jumeaux atteints tous les deux : l'âge du diagnostic, la localisation des lésions ainsi que l'évolution de la pathologie sont souvent les mêmes.

Par ailleurs, certains groupes ethniques semblent davantage prédisposés que d'autres à développer la MC : ainsi, la prévalence de la maladie semble plus élevée chez les populations juives ashkénazes que chez n'importe quel groupe ethnique et le fait d'être de descendance juive ashkénaze semble constituer un facteur de risque indépendant pour la maladie (*Baumgart et Sandborn, 2012*). D'autres groupes ethniques semblent à l'inverse moins touchés, c'est le cas par exemple des individus d'origine africaine ou est-asiatique (*Hou, 2009*), (*Nguyen, 2006*).

L'étude de zones de susceptibilité génique, plus récente, nous a fourni d'importants indices sur les voies de dérégulation du SI intestinal. De vastes études d'association pangénomiques (analyse de variations génétiques au sein de groupes d'individus afin de rechercher des liens entre ces variations et les phénotypes) ont identifié et confirmé 71 zones de susceptibilité pour la MC, et ces *loci* étaient présents sur 17 chromosomes (*Baumgart et Sandborn, 2012*). Les *loci* supposément à l'origine d'une dérégulation du SI intestinal pourraient aussi être à l'origine d'autres affections intestinales immunitaires. Certains d'entre eux ont pu être reliés à l'incidence de la RCH. D'autre part, de larges études de groupes familiaux ont identifié 47 *loci* à l'origine de la RCH et ont observé que 17 d'entre eux étaient communs aux loci à l'origine de la MC (*Anderson, 2011*).

Les affections auto-immunes classiquement associées à la MC (asthme, diabète de type 1, maladie cœliaque...), auraient elles aussi des *loci* de susceptibilité, ce qui pourrait expliquer les différences ethniques de distribution de ces affections chez les patients atteints (*Baumgart et Sandborn, 2012*).

Cependant, d'autres événements ont probablement une influence sur l'apparition de la MC chez un sujet génétiquement prédisposé. Au-delà de la nature du matériel génétique, les interactions entre les gènes, ainsi que l'épigénétique (ensemble des caractères transmissibles modifiant l'expression génique sans modifier la séquence de nucléotides) jouent probablement un rôle dans l'étiologie de la maladie mais sont peu caractérisées. Enfin, la composante génétique à elle seule n'est pas décisive, en témoigne le taux relativement bas de concordance entre les jumeaux monozygotes. Cela nous pousse à nous interroger sur l'influence de l'environnement.

III.2.1.1.3.2 Le rôle de l'environnement dans l'étiologie de la maladie

III.2.1.1.3.2.1 La fréquence est dépendante de la géographie

Les données épidémiologiques montrent une importante disparité au regard de la prévalence de la MC dans le monde. Il existe un gradient Nord-Sud au sein du globe, et cette disparité est constatée en particulier entre les pays développés et les pays du Tiers-Monde. Les pays de l'Hémisphère Nord, en majorité plus développés, ont une proportion plus grande d'individus atteints que les pays du Sud, considérés comme pays en voie de développement ou émergents (figures 43 et 44).

Sur le continent américain, la prévalence de la MC aux Etats-Unis calculée en 2008 était d'environ 758.000 individus, ce qui représentait 0,17% de la population. Au Brésil, les chiffres recueillis d'après une étude de 2005 évoquaient un nombre de 10.500 malades, soit une proportion beaucoup plus

faible au regard de la population du pays (0,056%). La différence entre pays industrialisés et pays en voie de développement se retrouve aussi en Asie où la prévalence est la plus forte au Japon (Hamouche, 2018).

Il existe aussi, au sein des pays de l'hémisphère nord, un gradient Nord-Sud pour la prévalence. En France, la comparaison de la prévalence entre les régions nous montre que les régions les plus touchées font toutes partie des plus septentrionales du pays. Le pays a une prévalence globale assez élevée avec environ 8,2 cas pour 1000 habitants au début des années 2010 (<http://hepatoweb.com>). La maladie est en progression constante depuis 2008 et en 8 ans le nombre de cas a augmenté de 50%. Les départements les plus touchés font tous partie de l'extrême-nord : Pas de Calais, Ardennes, Somme, Aisne (<http://observatoire-crohn-rch.fr>).

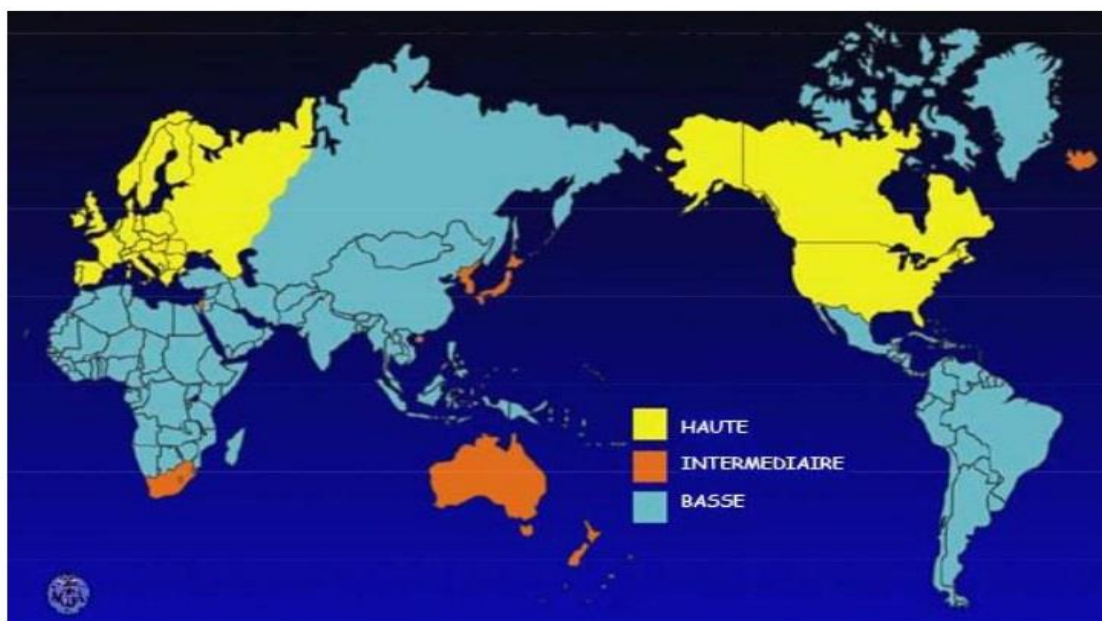


Figure 43 : Prévalence des MICI dans le monde et gradient Nord-Sud de prévalence (<http://hepatoweb.com>).

Les pays du monde les plus touchés par les MICI (dont fait partie la MC) sont les pays de l'hémisphère nord à plus haut niveau de vie : Amérique du Nord dans sa globalité et l'Europe jusqu'aux frontières de l'Oural.

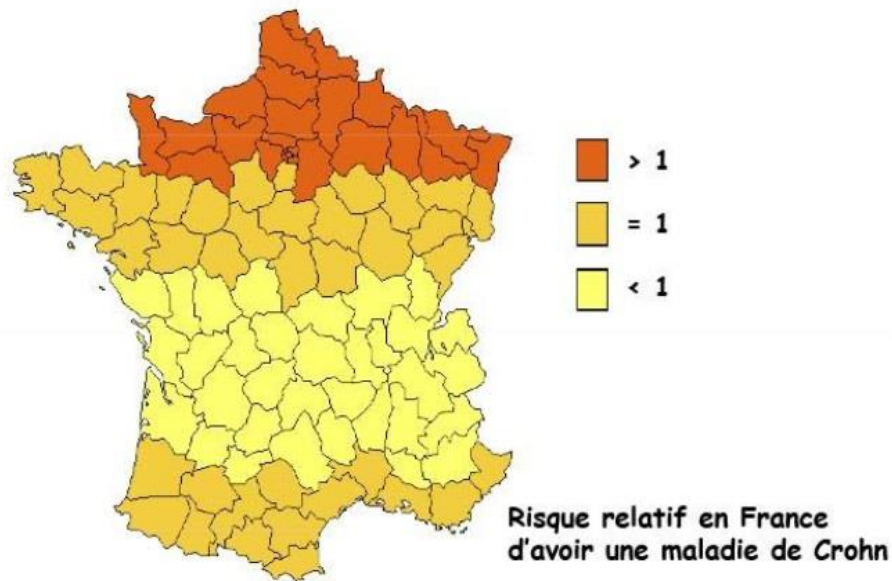


Figure 44 : Risque relatif de développer une MC en France selon la localisation (<http://hepatoweb.com>).

Le gradient nord-sud de prévalence de la MC est bien visible avec un risque relatif supérieur à 1 dans l'ensemble des départements de l'extrême nord du pays. Le risque oscille autour de 1 dans la bande nord ainsi que dans le sud-ouest et le pourtour méditerranéen, alors qu'il est globalement plus faible (< 1) dans les départements du centre – centre-sud.

III.2.1.1.3.2.2 Incrimination du mode de vie « à l'occidentale »

L'influence environnementale sur l'apparition de la maladie peut être évoquée dans plusieurs cas. Au sein de la population des Etats-Unis par exemple, on observé une augmentation du nombre de cas pour des groupes ethniques habituellement moins touchés (Asiatiques et Hispaniques) (*Hou, 2009*), (*Nguyen, 2006*). Aussi, il est fréquent d'observer que des individus émigrant d'une zone géographique peu touchée vers une zone plus concernée finissent par avoir un risque similaire aux populations de la deuxième zone. (*Joossens, 2007*) ou même significativement plus élevé comme cela a été démontré par une étude longitudinale d'une population d'Asiatiques (Inde, Pakistan, Bangladesh) de 26 ans d'âge moyen, étant nés et ayant grandi en Angleterre (*Montgomery, 1999*).

Les données épidémiologiques et notamment l'existence d'un gradient nord-sud nous font nous questionner sur l'influence du mode de vie sur l'incidence de MICI. Il semblerait que les pays développés, par leur fort taux d'urbanisation, aient plus de risques liés à la pollution (atmosphérique et aquatique) en particulier dans les grandes métropoles. Le régime alimentaire des populations « riches » est fondamentalement différent de celui des populations pauvres avec par exemple un plus grand nombre d'aliments ultra-transformés contenant plus d'additifs, et une généralisation de produits importés, et conservés, au détriment d'aliments frais et locaux. Les populations plus pauvres

ont davantage tendance à consommer plus de céréales, tubercules et végétaux, par ailleurs riches en fibres (*De Filippo, 2010*).

Ainsi, l'industrialisation de nos sociétés est un phénomène souvent incriminé. En modifiant les modes de vies initialement traditionnels et ruraux, elle a entraîné des changements dont certains sont aujourd'hui considérés comme des facteurs de risque pour les maladies inflammatoires et immunitaires et plus généralement pour la santé du MI. Particulièrement, l'adoption d'un mode de vie sédentaire et moins communautaire, l'exposition aux polluants aériens et aquatiques, l'amélioration de l'hygiène domestique et médicale ont caractérisé ce changement. Nos habitudes alimentaires se sont aussi modifiées avec la généralisation du régime occidental (avec souvent des sucres et graisses polyinsaturées en excès), l'arrivée en masse des plats préparés et la diminution de l'allaitement maternel.

III.2.1.1.3.2.2.1 Le tabagisme

Certaines habitudes délétères sont aujourd'hui très fréquentes dans nos sociétés, comme la consommation d'alcool et de tabac. Le tabagisme est actuellement la donnée la plus étudiée en tant que facteur de risque d'apparition de la MC. Nous savons aujourd'hui que fumer augmente de manière significative le risque de développer une MC, surtout lorsque le tabagisme débute à un âge précoce (*Baumgart et Sandborn, 2012*). Les mécanismes mettant en lien le tabagisme avec l'apparition de la MC sont probablement divers et pas entièrement élucidés, mais l'expérience montre qu'il existe une relation dose-réponse entre les deux, à tout âge de la vie et de manière identique entre les sexes (*Hamouche, 2018*). Les composés nocifs du tabac irritent de façon répétée la paroi et les muqueuses du TD et altèrent certaines populations cellulaires comme les LT. Est alors déclenchée une production de cytokines pro-inflammatoires (dont le TNF α) qui déstabilise l'immunité locale (*Eliakim, 2002*).

Les effets de la nicotine sur le SI sont paradoxaux : le tabagisme ponctuel stimule la réaction immunitaire alors que le tabagisme chronique a tendance à l'inhiber. Les récepteurs muscariniques à la nicotine des fibres musculaires lisses de l'intestin sont également présents à la surface des LT, ce qui suggère une action directe de la nicotine sur les populations cellulaires de l'immunité (*Razani, 2007*). Sur le MI, l'influence du tabagisme est difficile à évaluer du fait du grand nombre de composants de la cigarette qui par ailleurs pourraient agir en synergie. Nous savons toutefois que le tabagisme même passif est en mesure de réduire la diversité d'espèces comme l'a démontré l'étude de Tomoda et Al. L'exposition d'une population de rats à la fumée de cigarette pendant 4 semaines a entraîné une diminution des Bifidobactéries et des niveaux d'AGCC dans le *caecum* de ces animaux (*Tomoda, 2011*). D'autres observations indiquent que *Lactococci* sp, et *Ruminococcus* sp. diminuent chez la souris exposée, alors que *Clostridium* sp. augmente (*Wang, 2010*). Le tabagisme pourrait donc contribuer à fragiliser l'équilibre hôte-microbiote en modifiant le profil bactérien et le métabolisme du MI.

III.2.1.1.3.2.3 Un facteur déclenchant de la maladie

Au cours de sa vie, un individu génétiquement prédisposé ne développera pas nécessairement la MC. Le plus souvent, l'existence d'un ou plusieurs facteurs, dits « facteurs déclenchants » signeront l'apparition des premiers symptômes de la maladie et son irréversibilité. Bien souvent, le facteur déclenchant aura été responsable d'une dysbiose aiguë ou chronique qui ne sera pas rééquilibrée par la suite. De mauvaises habitudes alimentaires, l'adoption d'un mode de vie délétère (sédentarité, tabagisme, alcool) sont des facteurs reconnus comme favorisant la dysbiose, mais d'autres causes peuvent être incriminées, comme IGA ou la prise d'antibiotiques durant l'enfance ou à l'âge adulte.

L'exposition aux ATB au début de la vie d'un individu induit des effets durables sur son MI et il a été démontré que l'utilisation précoce des ATB chez les enfants les prédispose à un risque de développer la MC (Ungaro, 2014). La comparaison d'une population atteinte d'une MICI (MC ou RCH) et d'une population témoin saine, a permis de conclure, dans le cadre d'une analyse cas-témoin, que l'utilisation d'ATB était significativement associée à un risque plus élevé de développer ces maladies lorsque l'ATB était pris deux à cinq ans avant le début de la maladie (Hamouche, 2018).

III.2.1.1.4 Maladie de Crohn, immunité et dysbiose

III.2.1.1.4.1 Dérégulation de l'immunité innée

La MC est généralement associée à des désordres immunitaires. De vastes études réalisées sur le génome des individus touchés ont identifié plusieurs *loci* (zones d'ADN) à l'origine d'une susceptibilité génétique qui, encouragée par des facteurs environnementaux, aurait pour conséquence un dérèglement de l'immunité innée intestinale (barrière épithéliale altérée, dysfonction des cellules de Paneth, dérégulation des récepteurs protéiques des LT régulateurs et des CD qui entraîne une mauvaise reconnaissance des MO intestinaux). L'immunité adaptative serait également concernée avec principalement un déséquilibre entre les populations de LT et d'un environnement cytokinique délétère (Baumgart et Sandborn, 2012).

Comme évoqué précédemment, la première ligne de défense du SI muqueux intestinal est une monocouche de cellules épithéliales recouvertes d'une couche plus ou moins épaisse de *mucus* composé de glycoprotéines. Le tout forme un biofilm renfermant des substances antimicrobiennes, des anticorps, et un certain nombre de bactéries commensales « engluées » dans les mailles du *mucus* (Baumgart et Sandborn, 2012). Une diminution de l'expression du gène MUC1 codant l'une des protéines mucines dans la partie terminale inflammée de l'iléon de sujets malades suggère que dans certains cas, la production de *mucus* devient insuffisante pour soutenir la barrière épithéliale (Buisine, 1999).

Les cellules de Paneth situées au fond des cryptes intestinales participent en temps normal à la première ligne de défense grâce à l'excrétion de PAM vers la lumière intestinale. Parmi ces peptides figurant le groupe des α -défensines qui aident à réguler les populations bactériennes à ce niveau. Les cellules de Paneth de patients atteints de MC peuvent subir des variations génétiques. Celles portant

une variante du gène autophagique ATG16L montrent une réduction ainsi qu'une dysmorphie des granules de sécrétion de peptides (Cadwell, 2008).

L'autophagie, phénomène de destruction cellulaire qui correspond à l'auto-dégradation des composants d'une cellule par ses propres lysosomes, sert à l'immunité innée et adaptative et peut être bénéfique dans certains cas. Dans l'intestin, le stress du réticulum endoplasmique de certains types cellulaires (cellules de Paneth et cellules caliciformes) perturbe les mécanismes de défense en provoquant une autophagie aberrante qui induit indirectement l'inflammation (Cadwell, 2008), (Kaser et Blumberg, 2010).

D'autres observations plaident en faveur d'une immunité innée dérégulée. En temps normal, les jonctions serrées des cellules épithéliales intestinales assurent l'étanchéité des tissus sous-jacents et évitent le passage de bactéries vivantes et de leur composants et toxines vers la *lamina propria*. Dans la MC, ces liaisons cellulaires deviennent déficientes du fait d'une diminution de l'expression de gènes codant pour ces protéines de jonction telles que les claudines (Zeissig, 2007). Cela a pour conséquence d'augmenter la perméabilité cellulaire de l'épithélium et de permettre à des antigènes luminaux d'accéder à la *lamina propria*, densément peuplée en cellules immunitaires (Söderholm, 2002). Des études réalisées à la fois *in vitro* et *in vivo* chez l'animal ont établi un lien entre les changements de perméabilité dues aux protéines de jonction et un environnement cytokinique délétère. Il existerait un profil cytokinique typique de la MC avec une surexpression de cytokines inflammatoires telles que le TNF α (Weber, 2010), (Marchiando, 2010) et l'IFN γ (Clayburgh, 2005).

À été établi un lien entre MI et perméabilité épithéliale à travers le gène NOD2. Celui-ci code pour la protéine NOD2 qui reconnaît certains éléments bactériens (peptidoglycanes) et déclenche une réaction immunitaire en activant la voie de la prostaglandine E2 (Liu, 2013). Chez des individus sains apparentés au premier degré avec des patients, on a décelé des défauts de perméabilité intestinale lorsque des mutations du gène NOD2 existaient (Barreau, 2010). Les polymorphismes de récepteurs NOD2 sont fortement associées à la MC. Des résultats expérimentaux montrent le lien entre ces polymorphismes et une autophagie moins efficace contre les bactéries intracellulaires. L'incapacité de l'organisme de lutter contre les bactéries invasives est le point de départ de l'inflammation. De même, la capacité des CD à induire des LT_{reg} tolérogènes est amoindrie (Iliev, 2009).

III.2.1.1.4.2 Auto-immunité dirigée contre le microbiote

Une autre hypothèse est mise en avant pour expliquer le déclenchement de la MC : celle-ci est en lien avec une réponse immunitaire dérégulée et excessive contre les bactéries commensales du MI avec pour conséquence une diminution de leur nombre et de leur diversité.

Différentes cellules de l'immunité innée reconnaissent des déterminants antigéniques bactériens tels que le LPS, l'acide lipotéichoïque ou les acides nucléiques au niveau du *lumen* ou des muqueuses. La reconnaissance passe par des récepteurs spécifiques comme les TLR ou les NLR et permettent la distinction du soi et du non soi et l'orientation de l'immunité vers l'élimination ou la tolérance. Le

phénotype de ces cellules ainsi que leur distribution est corrélée à la maladie. Une surexpression de TLR2 et TLR4 ainsi qu'une réponse exagérée au LPS ont été reportées lors de la MC (*Baumgart, 2005*).

Il est communément admis qu'une cause possible de MC (ainsi que d'autres MICI) est une réponse T inappropriée vis-à-vis des antigènes bactériens du MI. Cette réponse est en lien avec une barrière intestinale altérée ou une présentation antigénique aberrante par les CD mucosales (*Baumgart, 2005*). Ces cellules qui ont la capacité d'activer ou de modérer la réponse immunitaire pourraient conduire, chez ces individus, à l'expansion de sous-populations différentes de LT. Dans la MC, le déséquilibre entre cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IFN- γ) et anti-inflammatoires (TGF- β , IL10) découle d'une surexpression de LT inflammatoires (surtout Th1) par rapport aux LT_{reg}. L'équipe a démontré qu'au cours d'une poussée, les patients présentaient une baisse importante de CD mucosales. Il est aussi possible que des CD circulantes finissent leur maturation dans l'intestin inflammé ce qui rend propice le dérèglement immunitaire (*Baumgart, 2005*).

En conséquence, les individus atteints de MC développent le plus souvent des anticorps dirigés contre les constituants de leur propre MI. Israeli et al. ont démontré par le biais d'une expérience incluant 38 patients que 31,3% d'entre eux présentaient des anticorps dirigés contre *Saccharomyces cerevisiae* avant que la maladie ne soit diagnostiquée chez eux (*Israeli, 2005*). Les marqueurs sérologiques (anticorps) précoces sont associés à des formes plus agressives de la MC et ont un caractère prédictif vis-à-vis des complications liées à la maladie (formes obstructives ou pénétrantes). Une étude se basant sur plusieurs anticorps antimicrobiens, dirigés par exemple contre la flagelline ou la protéine C de la membrane externe des bactéries, a révélé que la proportion de ces anticorps avant diagnostic de la MC était plus élevée chez les individus qui plus tard développeraient une MC sévère. Cette étude a également illustré que les concentrations sériques de ces anticorps augmentaient graduellement jusqu'au moment du diagnostic (*Choung, 2016*).

La conséquence de la réaction immunitaire exagérée envers les bactéries commensales est l'élimination progressive de celles-ci, ce qui peut accélérer l'apparition d'une dysbiose et l'aggraver par la suite en rendant difficile le retour à un « état d'équilibre ».

III.2.1.1.4.2.1 Le microbiote déséquilibré entretient l'inflammation

La MC semble être entretenue par la perturbation de l'interaction entre le MI et son organisme hôte telle qu'elle peut être observée dans un organisme sain (*Baumgart et Sandborn, 2012*). En temps normal, celui-ci se trouve en équilibre dans le TD et est maintenu par le SI de l'hôte dans un état de mutualisme où sont régulés en permanence le nombre de bactéries présentes et la diversité des populations. Le SI, par un mécanisme tolérogène basé sur la reconnaissance de composants bactériens, prévient l'emballement des réactions immunitaires afin de préserver à la fois les MO commensaux et l'organisme hôte qui serait lésé par l'inflammation. Cependant, au cours d'une MICI, cet équilibre est rompu. L'organisme hôte n'est plus à même d'assurer la tolérance du MI et les réponses immunitaires dues à un défaut des mécanismes de reconnaissance bactérienne favorisent un terrain inflammatoire chronique. Bien souvent, s'installe chez le patient MC une situation de dysbiose irréversible qui est elle-même très pro-inflammatoire.

Des études comparatives de microbiotes de sujets sains et de sujets atteints ont permis d'observer des différences de composition bactérienne (Baumgart et Sandborn, 2012). Particulièrement, il a été observé, chez le sujet malade, un phénomène de « clustering » et une réduction de la diversité des bactéries peuplant le TD, particulièrement au sein des *phyla* des *Firmicutes* et *Bacteroidetes* (Frank, 2007), (Willing, 2010).

Voient aussi diminuer leur nombre les bactéries capables d'immunomodulation au niveau intestinal, comme les bactéries du genre *Bifidobacterium*, et *Lactobacillus* grandes productrices d'AGCC, qui assurent la bonne santé de l'épithélium et des muqueuses sous-jacentes. Le rôle de l'espèce *Faecalibacterium prausnitzii* a été étudié dans le cadre de pathologies inflammatoires et son absence a été reliée à un état inflammatoire du TD. En effet, une réduction de cette bactérie du *phylum* des *Firmicutes* a été associée à un risque plus élevé de récurrence de la MC en post-opératoire, alors que sa restitution expérimentale a entraîné des effets anti-inflammatoires. Il semblerait que *F. prausnitzii* exerce ses effets par la sécrétion de métabolites capables de bloquer des médiateurs de l'inflammation comme NF- κ B. La stimulation *in vitro* de cellules sanguines mononuclées par *F. prausnitzii* a conduit à une baisse de la production d'IFN γ et d'IL12 et une augmentation de la production d'IL-10, tandis que l'administration orale de la bactérie a permis de réduire la sévérité de la colite induite par TMBS chez des modèles de souris (Sokol, 2008).

Au cours de la MC, la dysbiose liée à l'inflammation chronique est susceptible de permettre à des bactéries potentiellement pathogènes et pro-inflammatoires de s'implanter. En même temps qu'une réduction de la diversité d'espèces, on peut retrouver au niveau des muqueuses un nombre augmenté de bactéries présentant des propriétés adhésives. Un exemple est celui de *E.coli.*, espèce faisant partie de la flore commensale d'un individu sain. Chez les patients atteints de MC, des souches capables d'adhérer à l'épithélium sont retrouvées avec une fréquence anormalement élevée. Ces souches sont regroupées sous le nom d'AIEC (*Escherichia Coli Adhérentes et Invasives*). Elles adhèrent aux entérocytes grâce à des *pili*, appendices de leur paroi, et à des molécules d'adhésion (Hamouche, 2018). Il a été montré que les AIEC colonisent plus souvent la muqueuse iléale de malades : 36% contre seulement 6% de colonisation chez les patients témoins (Chassaing et Darfeuille-Michaud, 2011).

Un autre exemple est celui de *Bacteroides fragilis* (*phylum Bacteroidetes*), qui fait partie de la flore commensale saine, mais dont certaines souches peuvent être à l'origine de troubles digestifs à titre de diarrhées. Chez le sujet atteint d'une MICI, le portage de *Bacteroides fragilis* entérotoxinogène (nommée ϵ TBF) est important avec 20% d'individus porteurs 19. Sa pathogénicité provient de la sécrétion d'une toxine de type métalloprotéase zinc-dépendante ainsi que d'enzymes pro-inflammatoires. L'implantation durable de *Bacteroides fragilis* dans le *tractus* intestinal contribuerait à l'inflammation chronique (Hamouche, 2018).

Il nous est possible d'évoquer enfin *Candida albicans*. Cet organisme qui n'est pas une bactérie mais un champignon microscopique est retrouvé avec une fréquence plus élevée chez les sujets atteints de MC et contribue lui aussi à la chronicité de l'inflammation en modulant la production d'anticorps par l'hôte. Il semblerait notamment que la présence de *C. albicans* stimule la production d'anticorps

anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA, pour l'anglais « *Anti-Saccharomyces Cerevisiae Antibodies* ») qui sont des marqueurs de la MC. Les ASCA ont été mis en évidence de 50 à 60% des patients atteints alors qu'ils ne l'étaient qu'à hauteur de 20 à 25% chez des individus sains. Le constat est le même dans les selles où 44% des patients étaient positifs à cet anticorps, alors que dans la population témoin ce taux était de 22%. D'autres rôles potentiels ont été évoqués de la capacité de *C. albicans* à provoquer une réaction immunitaire aberrante chez les patients (Standaert-Vitse, 2006).

Ces observations montrent que d'une part la colonisation du TD par des espèces inhabituelles et d'autre part l'acquisition de facteurs de virulence par d'autres normalement inoffensives ont une action globale néfaste pour la muqueuse intestinale. Les réactions immunitaires croisées contribuent à augmenter l'immunogénicité comme c'est le cas pour les levures. L'état inflammatoire chronique est entretenu notamment par l'incapacité de la muqueuse intestinale à mobiliser les récepteurs de l'immunité innée pour contrôler la colonisation.

La production anormale de cytokines qui en découle a pour conséquence l'inefficacité des mécanismes de régulation par l'immunité adaptative. En effet, s'installe un déséquilibre entre les populations de LT induites, particulièrement entre les Th1/Th17 pro-inflammatoires au rôle protecteur, et les Treg anti-inflammatoires produisant le TGF ou l'IL-10.

Conclusion : lors de la MC, la boucle dysbiose – réaction inflammatoire s'installe durablement, sans possibilité d'amélioration, et entretient l'état pathologique. L'état du patient s'aggrave à mesure que la dysbiose devient de plus en plus profonde. Au cours de la maladie, les lésions sont susceptibles de s'étendre sur une plus grande surface du TD et l'inflammation déstructure l'épithélium intestinal ce qui réduit les sites d'adhérence pour les bactéries commensales ainsi que la surface d'absorption intestinale. Il est d'ailleurs décrit, dans les formes évoluées de la MC, des troubles de la digestion et des carences vitaminiques liées à une malabsorption de certains nutriments.

III.2.1.2 La Rectocolite Hémorragique

La connaissance de cette maladie est ancienne. Elle fut décrite pour la première fois en 1859 et existe en tant qu'entité clinique depuis plus d'un siècle. Il s'agit d'une maladie inflammatoire chronique intestinale classée parmi les MICI et décrite comme une maladie auto-immune.

III.2.1.2.1 Physiopathologie et symptomatologie

Contrairement à la MC qui est susceptible d'affecter la partie haute comme la partie basse du TD, la RCH ne concerne que son extrémité distale : le *rectum* et les parties terminales du côlon.

Les lésions observables au cours de la RCH, à type d'ulcérations, débutent au niveau du *rectum* et peuvent s'étendre au côlon sans jamais toucher l'intestin grêle. Ces lésions sont facilement observables à la coloscopie. Elles concernent la muqueuse digestive avec notamment une altération de l'imperméabilité de l'épithélium et de la production de *mucus*.

Au moment du diagnostic (<https://www.ameli.fr>) :

- dans environ 50 % des cas, l'atteinte ne concerne que le rectum (forme rectite) ;
- dans environ 30 % des cas, il s'agit d'une forme intermédiaire de la RCH avec des lésions étendues jusqu'au colon gauche (forme colite gauche);
- dans 20 % des cas, la RCH est étendue du rectum à la totalité du côlon (forme pancolite).

La symptomatologie est complexe et les symptômes rencontrés ne sont pas toujours représentatifs. Typiquement, les symptômes digestifs associent des diarrhées fréquentes et des saignements réguliers au niveau intestinal qui induisent la présence de sang non digéré dans les selles. Lors de poussées, les patients peuvent souffrir de brûlures rectales (ténesmes) et de coliques expulsives. Leurs selles sont régulièrement sanglantes et contiennent une quantité plus ou moins importante de *mucus*. En dehors des poussées, douleurs et crampes abdominales sont fréquentes mais semblent moins caractéristiques de la maladie que pour la MC. Dans la plupart des cas, la diarrhée chronique est associée à des mouvements intestinaux plus soutenus qui sont source de gêne pour les patients, avec des sensations d'impériosité voire une incontinence fécale. Il peut aussi exister des épreintes (faux besoins d'aller à la selle). Un état de fatigue chronique peut s'installer chez le patient même durant les périodes de rémission, et il est possible d'observer une altération de l'état général et un amaigrissement.

Dans les cas les plus sévères, on observe également un état inflammatoire chronique systémique. On estime qu'un patient sur dix atteint de RCH développera des affections extra-intestinales (*Lukas, 2006*) qui pourront toucher :

- Les articulations (arthrite entéropathique)
- Le foie (atteinte des voies biliaires avec cholangite sclérosante primitive)
- La peau et les muqueuses (aphtose buccale, érythèmes noueux...)
- Les yeux (uvéite)

La RCH est une maladie que ne guérit pas et nécessite un traitement médicamenteux à vie. Son évolution, qui va spontanément vers l'aggravation est caractérisée par des périodes d'exacerbations symptomatiques (appelées « poussées »), entrecoupées de périodes de rémission. Certains patients peuvent présenter dès le début une forme sévère de la maladie. Dans certains cas, la RCH peut évoluer vers des formes plus grave comme la forme pancolique ou la colite aiguë grave (<https://www.digestscience.com>) et à terme, il existe un risque de dégénérescence cancéreuse des lésions.

L'objectif de la prise en charge thérapeutique est de rallonger au maximum les périodes de rémission et de repérer puis traiter les symptômes en cas de poussée.

III.2.1.2.2 Etiologies possibles

La RCH est très probablement multifactorielle et son étiologie exacte reste mal élucidée. Cependant, de nombreuses observations plaident en faveur d'une interaction entre génétique et environnement.

Nos connaissances actuelles montrent que celle-ci serait la résultante d'une prédisposition génétique à laquelle s'ajouterait un environnement délétère ou un ou plusieurs facteurs déclenchants à l'origine d'une perte de contrôle du SI mucosal.

III.2.1.2.2.1 Incidence et prévalence dans le monde

La prévalence et l'incidence de la RCH dans le monde ont augmenté de façon globale, particulièrement dans les pays développés. L'Europe est le continent où la prévalence est la plus élevée avec un taux de 505 cas pour 100.000 habitants. Elle est suivie de près par l'Amérique du Nord avec un taux de 248 pour 100.000 pour le Canada et de 214 sur 100.000 pour les Etats-Unis. C'est en Europe du Nord que la maladie semble le plus progresser avec un incidence relative de 24,3 pour 100.000 habitants (*Ungaro, 2017*). Sa prévalence est également en augmentation dans les pays en voie d'industrialisation (Asie, Moyen-Orient...). En France, elle touche près d'1 personne sur 1000 avec chaque année 5 nouveaux cas pour 1000 habitants (<https://ameli.fr>).

La RCH touche l'homme et la femmes à parts égales, et est plus susceptible de se déclarer chez l'individu âgé de 30 à 40 ans bien qu'elle touche aussi couramment l'adulte jeune.

III.2.1.2.2.2 Susceptibilité génétique

Il existe des déterminants génétiques pour la RC, avec en particulier une prédisposition familiale. On estime que 8 à 14 % des patients atteints ont des antécédents familiaux de RCH, et que les proches du premier degré ont quatre fois plus de chances de développer la maladie. Il existe également des groupes ethniques avec une plus forte susceptibilité : les populations d'ascendance juive ont des taux plus élevés que les autres groupes ethniques, de la même manière que pour la MC (<https://eurekasante.vidal.fr>). Les sujets Européens sont globalement plus touchés que les populations noires ou asiatiques.

Au niveau du matériel génétique, on dénombre actuellement environ 200 *loci* ou zones de susceptibilité sur les chromosomes humains dont certains sont en commun avec la MC. Le plus souvent, les gènes correspondants ont un lien avec les fonctions protectrices de l'épithélium et de la muqueuse.

Cependant, pour la RC, la génétique semble avoir une valeur prédictive plus faible que pour la MC. Une étude portant sur des jumeaux monozygotes suédois a montré un taux de concordance entre les jumeaux de seulement 8 à 10% pour la RC, ce qui suggère que l'environnement a un rôle plus important dans l'apparition de la maladie (*Halfvarson, 2003*). Une autre étude en Allemagne montrait une concordance gémellaire deux fois plus élevée pour la MC que pour la RC (*Spehlmann, 2008*).

Il est plus probable que des facteurs liés à l'environnement, en interagissant avec la génétique de l'individu, déterminent ou non la survenue de la maladie. La forte prévalence actuelle,

l'augmentation de l'incidence et l'existence de gradients dans le monde renforcent l'hypothèse des déterminants environnementaux (Ungaro, 2017).

III.2.1.2.2.3 Facteurs environnementaux

Le mode de vie des pays industrialisés est de plus en plus incriminé dans l'apparition de la RC. Le tabagisme constituerait quant à lui un facteur de risque important, en particulier chez les anciens fumeurs. Il a été démontré que l'arrêt du tabagisme chez des fumeurs de longue date expose ces derniers à un risque plus élevé (Beaugerie, 2001). Certains suggèrent même que le fait d'être un ancien fumeur est l'un des facteurs de risque les plus sérieux associés à la RCH, avec un *odds ratio* de 1,79, 95%, IC 1,37-2,34 (Ungaro, 2017). Les fumeurs actifs eux, seraient au contraire protégés et auraient un risque plus petit que les anciens fumeurs et les non-fumeurs. Il a aussi été observé que les fumeurs actifs développent des formes moins agressives de la maladie (Odes, 2001).

Les affections gastro-intestinales ont une valeur prédictive importante et il est établi que les patients qui ont connu des épisodes d'IGA dans leur vie ont une susceptibilité plus grande de développer une RCH (García Rodríguez, 2006), (Gradel, 2009).

Certains traitements médicamenteux ont un lien prouvé avec l'apparition de la maladie. Certaines classes sont particulièrement incriminées, comme les Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS) pris au long cours et à fortes doses (Ananthkrishnan, 2012), ou les contraceptifs oraux. De façon intéressante, il apparaît que la prise de contraceptifs oraux à base d'œstrogènes favorise la survenue tardive d'une RCH mais pas d'une MC. C'est ce qu'a permis de montrer suivi d'une cohorte de femmes de 54 ans d'âge moyen ayant suivi un traitement contraceptif et la comparaison à un groupe de sujets contrôle (Khalili, 2012).

Une méta-analyse portant sur l'impact des ATB dans la survenue des MICI a conclu que ces derniers (particulièrement le métronidazole et les fluorquinolones) augmentaient le risque de développer une MC, mais que l'association antibiotiques-RCH n'était en revanche pas significative. Ainsi, sur un total de plus de 7000 patients atteints de MICI et exposés aux ATB par le passé, l'*odds ratio* était de 1,74 pour la MC contre seulement 1,08 pour la RCH (Ungaro, 2014).

III.2.1.2.2.4 Incrimination du microbiote intestinal ?

L'une des caractéristiques des MICI est la rupture de l'intégrité de la muqueuse colique et l'entretien d'un terrain délétère par la boucle inflammation – perte de microbiote – inflammation. La baisse de diversité microbienne est la conséquence de l'activation de mécanismes immunitaires et rend impossible l'évolution favorable ou la guérison de la maladie.

Comme pour la MC, l'affection débute par une dérégulation des mécanismes de reconnaissance bactériens par l'épithélium, avec prédominance au niveau rectal et colique. Des réactions immunitaires aberrantes qui mettent en jeu les TLR membranaires et les NOD intracellulaires se mettent en place contre les composants bactériens du MI ce qui fait diminuer les populations de

certaines d'entre elles au rôle supposé bénéfique pour l'environnement intestinal et régulateur du SI local. Ainsi, quelques souches bactériennes au rôle bénéfique, telles que les Bifidobactéries ou Lactobacilles, sont en nombre diminué ou absentes de la flore bactérienne muqueuse des patients atteints de RCH (Kostic, 2014).

Au cours d'une RCH, des changements qualitatifs et quantitatifs de la composition du MI ont été constatés, avec notamment une baisse de la diversité d'espèces et la concentration de certaines populations bactériennes (Chen, 2014).

La dysbiose chez des patients atteints a par ailleurs été bien caractérisée. Le point commun est la perte de nombreuses bactéries du phylum des *Firmicutes* productrices d'AGCC, qui incluent généralement les bactéries du sous-groupe *Clostridium-leptum* (Kabeerdoss, 2013). Par exemple, *Faecalibacterium prausnitzii*, l'une des plus grandes productrices de butyrate du sous-groupe *Clostridium leptum*, ou encore *Roseburia hominis* voient leur nombre chuter lors d'une RCH (Barcenilla, 2000), (Machiels, 2013). La diminution des niveaux d'AGCC dans la lumière intestinale empêche la répression de mécanismes inflammatoires.

Les travaux de Varela et al. ont effectué un comptage de *F.prausnitzii* chez des patients RCH en rémission et ont établi un lien entre le nombre de cette bactérie et la fréquence des rechutes et le temps de maintien de rémission clinique. Il en ressort qu'un grand nombre de ces bactéries favorise des temps de rémission plus longs (Varela, 2013).

Dans le cadre de la RCH, la perte de la diversité bactérienne et touche globalement les *phyla* *Firmicutes* et *Bacteroidetes*. Nombreuses sont les études qui attestent de la diminution de plusieurs genres ou espèces. Notamment, on a les genres *Bacteroides*, *Clostridium* (Nemoto, 2012) et *Bifidobacterium* (Kedia, 2016) dont l'analyse du MF de patients atteints a révélé une diminution du nombre. Une étude réalisée dans le nord de l'Inde atteste également d'une diminution des Lactobacilles (Kedia, 2016).

D'autres bactéries sont présentes dans les selles en nombre plus important, c'est le cas par exemple du phylum des Protéobactéries (Vester, 2019) en particulier de la classe des *Gammaproteobacteria*. (Nemoto, 2012), (Kabeerdoss, 2013). On observe souvent une population accrue de bactéries Gram négatives anaérobies, particulièrement des Entérobactéries parmi lesquelles *E.coli* (Kotolowski, 2007), ou celles du genre *Bacteroides* sp. (Swidsinski, 2005).

Certaines espèces ne trouvant pas d'obstacles à leur implantation vont envahir la muqueuse irritée du patient, déséquilibrer la flore commensale et favoriser l'inflammation. Des bactéries commensales potentiellement invasives ont aussi un rôle à jouer dans la genèse de la maladie. Plusieurs études reportent des taux plus élevés d'*E. coli* entéropathogène (Sasaki, 2007), (Kotlowski, 2007) ou encore de *Bacteroides fragilis*. L'analyse du biofilm bactérien associé à la muqueuse de patients atteints a montré des taux très élevés de *B. fragilis* qui pouvaient atteindre 60% de la teneur totale en bactéries (Swidinski, 2005).

Le changement de composition du biofilm associé à la muqueuse et l'invasion de celle-ci des bactéries non présentes dans le MI sain va là aussi altérer la tolérogénicité du SI et déclencher des réactions

immunitaires. L'invasion bactérienne des muqueuses est corrélée à une production anormale d'anticorps chez ces patients. Certains anticorps sériques (IgG) caractéristiques de la RCH sont dirigés contre plusieurs bactéries dont *Peptostreptococcus anaerobius* et *Enterococcus faecalis*. La réponse humorale se retrouve aussi au niveau de la muqueuse intestinale avec des taux élevés d'IgA contre *P. anaerobius* (Furrie, 2004).

Les travaux de Chen et Al ont étudié l'influence de la cohabitation sur le MI. Ils ont cherché à savoir si le MI d'un sujet atteint était transmissible à une personne saine vivant sous le même toit. Par la méthode du séquençage de l'ARN 16s, les chercheurs ont quantifié les populations du MF de 8 individus et de leur partenaire en bonne santé. Il a été montré que l'état de dysbiose ainsi que les altérations du métabolisme du MI se retrouvaient aussi bien chez le malade que chez son partenaire. Cela se vérifiait particulièrement pour certains genres tels que *Bacteroides*, *Escherichia*, *Klebsiella*, ou encore l'ordre des *Lactobacillales* (*Firmicutes*) (Chen, 2017).

Le MI pourrait ainsi être partiellement transféré de l'individu malade à l'individu sain qui cohabite avec lui. Toutefois, les partenaires de malades n'ont pas plus de chances de développer la maladie et ce malgré les modifications de leur microbiote (Sorrentino, 2017) Cela suggère que la dysbiose ne serait pas le point de départ de la maladie mais plutôt la conséquence. Cela sous-entend également que la susceptibilité génétique et les facteurs environnementaux tiennent une place importante dans la genèse de la RCH.

Conclusion sur les MICI : Bien que les altérations du MI aient été prouvées et soient facilement observables d'un patient à l'autre, il est difficile d'affirmer si l'état de dysbiose est la cause ou la conséquence des MICI. Il semble se dégager toutefois que malgré l'existence d'une susceptibilité génétique, l'environnement soit décisif pour le déclenchement de la maladie. Certains facteurs directement liés à l'environnement et au mode de vie sont aujourd'hui reconnus comme favorisant. L'observation des gradients nord-sud et milieu rural-urbain est particulièrement parlante en épidémiologie. Le déterminisme environnemental et l'absence de thérapies curatives font que les pistes thérapeutiques futures devront très probablement inclure des données dans le traitement de ces maladies et miser sur la prévention en incluant le mode de vie comme entité réelle de l'arsenal thérapeutique.

III.3 Des perturbations précoces du microbiote à l'origine de déficits immunitaires ?

III.3.1 L'enfance, période sensible pour l'établissement du microbiote

Comme évoqué antérieurement, la colonisation microbienne du TD suit un schéma relativement organisé, propre à une espèce, bien que son déroulement soit très individu-dépendant. L'établissement du MI est sous la dépendance de facteurs environnementaux et de facteurs endogènes. L'environnement inclut l'exposition aux MO maternels, essentiellement vaginaux et cutanés, l'alimentation et les éventuels traitements médicamenteux. Les facteurs endogènes désignent le milieu intestinal lui-même : l'architecture de la muqueuse, l'ensemble de ses sécrétions

ainsi que la cinétique d'évolution des MO colonisateurs qui peut aussi moduler l'environnement physicochimique du TD (*Campeotto, 2007*).

La petite enfance est une période cruciale pour la mise en place du MI. On peut citer deux événements « critiques » : la naissance, l'alimentation lactée l'introduction de la nourriture solide. Entre les deux, l'environnement rendra possible un grand nombre de nuances grâce à l'exposition aux MO extérieurs. Aussi, l'impossibilité d'assurer au nourrisson un environnement bénéfique pour son microbiote impactera directement la mise en place de celui-ci, ce qui pourra déboucher, plus tard, sur des déséquilibres qualitatifs et quantitatifs de composition. De plus, il semblerait que des perturbations de la séquence d'implantation du MI à un très jeune âge soient des facteurs favorisant pour des pathologies rencontrées plus tard durant l'enfance ou à l'âge adulte. Dans cette sous-partie, nous nous intéresserons à certains de ces facteurs.

III.3.1.1 Conditions périnatales et post-natales

La plupart des événements qui compromettent l'établissement d'un MI sain ont lieu autour de la naissance et durant la prime enfance. Nous allons détailler ici l'influence de ces derniers sur la primo-colonisation du nouveau-né.

III.3.1.1.1 Une transmission de microbiote pendant la grossesse ?

Durant les premiers jours de vie, la mère est probablement le facteur environnemental dont l'influence est la plus grande sur la primo-colonisation du MI, du fait des contacts intimes mère-enfant au moment de l'accouchement. L'analyse métagénomique du MI du nourrisson indique qu'à 1 mois, le MI demeure très proche de celui de la mère, et que des différences phylogénétiques ne s'installent que vers 11 mois (*Vaishampoyan, 2010*).

Cependant, de plus en plus d'hypothèses plaident en faveur d'une influence prénatale de la mère sur l'enfant, pendant la gestation (*Collado, 2016*) Des études ont cherché à savoir si des bactéries intestinales maternelles pouvaient être directement transmises au fœtus via la barrière placentaire.

Il a ainsi été montré que le placenta et les annexes fœtales n'étaient pas stériles. En effet, des chercheurs ont pu isoler des communautés bactériennes à partir du cordon ombilical, du liquide amniotique et des membranes fœtales de nouveau-nés nés par césarienne. Le sang du cordon ombilical contenant ainsi les genres *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* et *Propionibacterium* (*Jimenez, 2005*), alors que le liquide amniotique et le placenta hébergeaient une communauté dominée par *Proteobacteria* (*Collado, 2016*). Le méconium, premières fèces expulsées par le nouveau-né, ne serait pas stérile non plus. En 2013, une équipe a cherché à analyser le méconium de 23 nouveau-nés et aucun des échantillons recueillis n'était stérile. Tous comportaient une communauté microbienne au sein de laquelle se trouvaient les genres *Escherichia* et *Enterococcus*. (*Hu, 2013*) La même équipe a aussi découvert que l'état de santé de la mère affectait

la composition initiale du méconium. En effet, la composition microbienne du méconium serait directement affectée par le statut métabolique de la mère durant la grossesse. L'étude de 3 groupes de mères ayant respectivement un diabète de type II, un diabète gestationnel et pas de diabète a montré que le contenu bactérien différait considérablement entre les groupes, avec une abondance d'espèces plus élevée pour le groupe de mères atteintes de diabète de type II par rapport aux deux autres groupes et prédominance de *Bacteroidetes* et de *Parabacteroides* sp. La composition du méconium ne semblait pas différer en fonction du mode d'accouchement. De façon intéressante, le méconium des nouveaux nés du groupe diabète avait de nombreux taxons en commun avec le MF d'adultes atteints de diabète (*Le Bourgot, 2016*), (*Hu, 2013*).

Un lien a été fait aussi entre la diversité du méconium et certaines pathologies cutanées de la mère. Dans une étude, les nouveau-nés dont le méconium était de faible diversité et dominé par des Entérobactéries avaient plus souvent des antécédents maternels d'eczéma atopique (*Gosalbes, 2013*).

Bien que les connaissances actuelles sur le sujet soient limitées, il semblerait que le phénomène général de colonisation du *fœtus in utero* soit possible. La transmission mère-enfant de l'espèce *Bifidobacterium longum* (sous-espèce *longum*) a été démontrée par analyse du génome d'isolats bactériens issus à la fois de méconium de nouveau-nés et des fèces de leur mère après accouchement. Onze souches de la même espèce étaient ainsi partagées entre la mère et son enfant parmi les 8 paires d'individus étudiés (*Makino, 2011*).

III.3.1.1.2 Influence du terme de naissance

Peu d'études portent actuellement sur l'influence du terme de naissance sur l'établissement de la flore du nouveau-né et du jeune enfant.

Les enfants prématurés se caractérisent fréquemment par un retard important dans la mise en place de leur microbiote, et présentent un nombre réduit d'espèces implantées par rapport à l'enfant né à terme. Ainsi, des bactéries anaérobies telles que *Bacteroides* sp. et *Bifidobacterium* sp. remplacent plus tardivement les espèces aérobies de l'environnement direct, premières bactéries majoritaires du TD (*Campeotto, 2007*).

Une étude a été menée par l'équipe de Sakata H. sur le retard d'implantation de la microflore chez des nouveau-nés prématurés (en moyenne 29,5 SA) nourris au lait maternel dont le poids de naissance allait de 810 à 1350 grammes. Elle a cherché, en se basant sur l'étude du MF, à déterminer l'évolution de l'implantation bactérienne dans le TD durant le premier mois de vie et à le comparer à l'implantation « naturelle » des enfants à terme dans les mêmes conditions. Il est apparu que l'intestin était colonisé en premier par *Enterobacteria* et *Streptococci* dans les deux groupes d'enfants. La différence résidait surtout dans le temps durant lequel ces bactéries restaient dominantes dans le TD avant d'être supplantées par des bactéries anaérobies. Chez les prématurés, les Bifidobactéries sont apparues dans les selles à 10,6 +/- 2,7 jours de vie et ne sont devenues dominantes qu'à 19,8 +/- 8,9 jours, contre seulement 4 jours pour le groupe à terme. D'autres

groupes bactériens comme les genres *Bacteroides*, *Clostridium* et *Lactobacillus* connaissent (dans une moindre mesure) un retard d'implantation chez les prématurés (Sakata, 1985).

Ces différences s'expliqueraient surtout par l'environnement auquel serait exposé le nouveau-né prématuré. En effet, ces enfants naissent plus souvent par césarienne, et sont quelquefois placés dans un environnement de soins extrêmement aseptisé et restent plus longtemps à l'hôpital. Ils sont de plus séparés très tôt de leur mère qui ne leur transmet pas de cette manière certaines bactéries bénéfiques (Campeotto, 2007). Serait à prendre en compte aussi la quantité de lait ingérée à chaque tétée, plus faible chez le prématuré du fait de sa plus petite taille et de ses capacités digestives réduites (Sakata, 1985). Or le lait est reconnu comme stimulant la mise en place du MI en tant que facteur bifidogène.

III.3.1.1.3 Le mode d'accouchement

Le premier facteur à déterminer la colonisation du MI au moment de la naissance est le mode d'accouchement. Celui-ci va fortement influencer les conditions initiales d'implantation du MI. Selon le mode d'accouchement, les nouveau-nés présenteront à quelques jours de vie des différences de composition du MI assez remarquables.

Les enfants nés par voie basse héritent d'une flore bactérienne commensale transmise par la mère lors du travail d'accouchement. Ainsi, au cours des premières 24 heures, ceux-ci présentent des populations bactériennes intestinales similaires au microbiote vaginal de la mère (*Lactobacillus* sp., *Prevotella* sp.) (Dominguez-Bello, 2010). Les enfants qui voient le jour par césarienne ne bénéficient pas quant à eux de la flore commensale cutanée et vaginale de la mère et rencontrent majoritairement en premier lieu les bactéries de leur environnement : air et personnel soignant. La dynamique d'implantation est donc différente de celle des enfants nés par voie naturelle. D'autres études suggèrent que le MI de ces bébés à 1 mois de vie est proche du microbiote maternel de la peau (*Staphylococcus* sp, *Corynebacterium* sp.) (Dominguez-Bello, 2010).

Les premiers MO à s'implanter sont toujours les bactéries aérobies facultatives (Entérobactéries, Entérocoques, Staphylocoques) que ce soit chez les enfants nés par césarienne ou ceux nés par voie basse. Cependant, les populations de bactéries anaérobies strictes, qui remplacent naturellement à quelques jours de vie la flore aérotolérante, sont beaucoup plus longues à s'implanter. Le retard concerne principalement *Bifidobacterium* spp. et *Bacteroides* spp., bactéries d'origine entérique. Le suivi sur 6 mois d'une cohorte a montré que ce retard de colonisation était toujours significatif à 1 mois pour le genre *Bifidobacterium* et se prolongeait jusqu'à 6 mois pour le genre *Bacteroides*. (Grönlund, 1999) D'autres bactéries, comme *Bacteroides fragilis*, colonisaient moins souvent le TD des enfants nés par césarienne (36% contre 76% à 6 mois pour le groupe témoin).

Plus récemment, le prélèvement d'échantillons de fèces de nourrissons par une cohorte canadienne a montré que pour le genre *Bacteroides*, les variations observées peu après la naissance persistent encore plus longtemps, jusqu'à plusieurs années plus tard. Les différences de composition au sein du phylum *Bacteroidetes*, caractérisées à 4 mois par une baisse de l'abondance relative et de la diversité

d'espèces (Azad, 2013), pouvaient demeurer jusqu'à l'âge de 2 ans (Jakobsson, 2014). La diversité bactérienne réduite à l'âge de deux ans était corrélée à une plus faible réponse immunitaire de type Th1, réponse essentielle dans la lutte contre les infections virales. On avait notamment un taux de chémokines associées (CXCL10 et CXCL11) plus faible dans le sang de ces enfants (Jakobsson, 2014). Ces chémokines spécialisées dans la chémoattraction de cellules immunitaires et leur adhésion à l'endothélium sont des marqueurs de la réaction immunitaire.

À la baisse de la primo-colonisation par les *Bifidobacteria* et les *Bacteroides* aux premiers mois de vie s'ajoute une surreprésentation anormale d'autres genres en temps normal minoritaires au sein du MI du nourrisson, tels que *Clostridium* (avec *Clostridium difficile*) (Azad, 2013) ou encore l'espèce *E.coli* dont certaines souches peuvent acquérir des facteurs de virulence (Penders, 2006).

Quant au MI du nouveau-né né par voie basse, il montre une plus grande diversité bactérienne, avec notamment plusieurs espèces du genre *Bifidobacterium* en plus grand nombre (*B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. catenulatum*, *B. longum subsp longum*, *B. pseudocaenulatum*) (Makino et al., 2013) or nous avons vu précédemment que la diversité bactérienne offre une protection vis-à-vis des pathogènes extérieurs et que le genre *Bifidobacterium* participe au maintien d'un microbiome sain par le biais des AGCC. Les espèces du genre *Bifidobacterium* étaient toutes communes entre la mère et l'enfant, ce qui suppose un ensemencement direct de la mère à l'enfant. A titre de comparaison, les nouveau-nés nés par césarienne ne présentaient qu'une seule espèce de *Bifidobacterium* partagée avec leur mère : il s'agissait de *Bifidobacterium longum subsp. longum* (Makino, 2013).

Il semble ressortir de ces études que la période périnatale représenter une phase particulièrement vulnérable dans l'établissement de l'homéostasie de milieu intestinal, parce que des différences significatives de la composition de la flore bactérienne entérique ont été observées après la césarienne par rapport à l'accouchement vaginal. Par conséquent, nous pouvons nous demander si des différences dans la flore microbienne entérique chez les personnes nées par césarienne pourraient contribuer à un déséquilibre de composition du MI puis à des conditions inflammatoires de la muqueuse intestinale plus tard dans la vie, particulièrement lorsque ces différences concernent des bactéries du MI à l'action protectrice pour les muqueuses ou participant à l'environnement tolérogène (bactéries bifidogènes, SFB).

III.3.1.1.4 L'alimentation lactée et l'allaitement maternel

Le deuxième facteur environnemental important pour les nourrissons est l'allaitement. Le lait est un aliment au rôle fondamental dans la croissance du jeune enfant ainsi que dans le développement de son MI. Bien que le lait de chaque mère soit différent, tous offrent macronutriments (glucides, lipides, protéines) et micronutriments (minéraux, vitamines) en quantité adaptée aux besoins du nourrisson. Ils contiennent en outre une multitude de composés actifs sur le métabolisme dont certains stimulent le développement d'un MI sain.

III.3.1.1.4.1 Des composés utiles pour le nourrisson et son microbiote

Le lait maternel reste un domaine très riche et intéressant à étudier pour comprendre la diversité et la complexité du microbiote des nourrissons. Sa composition en macronutriments et sa haute teneur en eau vont apporter au nourrisson ce dont il a besoin pour sa croissance.

Plus spécifiquement, les propriétés bénéfiques et protectrices attribuées au lait maternel résident dans certains de ses constituants qui ont la possibilité d'interagir avec la flore intestinale infantile. Le lait maternel contient des immunoglobulines, des facteurs de croissance et d'autres hormones dérivées du lait. Ces constituants « secondaires » du lait, biologiquement actifs dans le TD de l'enfant, participeraient au développement de la muqueuse intestinale et offriraient des conditions favorables à l'établissement du microbiote (*Lemas, 2016*).

III.3.1.1.4.1.1 Les oligosaccharides du lait maternel

D'un point de vue biochimique, les OLM sont des molécules de nature glucidique de la famille des polysides, qui sont construites par la jonction de plusieurs unités osidiques. Ces unités peuvent être de 5 types : le glucose, le galactose, la N-acétylglucosamine, le fucose, et l'acide N-acétylneuraminique (ou acide sialique) (*Milani, 2017*).

Les OLM sont constitués d'un petit nombre n d'oses, reliées entre elles de façon covalente, par des liaisons glycosidiques α ou β . Le nombre n varie par convention entre 3 et 10. Les OLM se différencient par le nombre d'oses qui les constituent, mais aussi par leur structure spatiale : selon l'agencement des unités osidiques, ils peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques. Le nombre et la distribution aléatoires des éléments constitutifs permet une grande variabilité de structure et de composition. Au total, plus de 100 structures ont été caractérisées à ce jour (*Hamouche, 2018*), (*Rudloff et Kunz, 2012*). Les OLM appartiennent, avec les lipides et le lactose, au 3^{ème} groupe d'abondance des constituants du lait maternel en masse. Un litre de lait humain mature en contient ainsi de 10 à 20 grammes (*Rudloff et Kunz, 2012*). La composition quantitative mais aussi qualitative en varie en fonction des caractéristiques intrinsèques de la mère (état de santé, métabolisme) ainsi que de son régime alimentaire ; elle est susceptible de varier également au cours de la lactation. (*Rudloff et Kunz, 2012*).

Les OLM, du fait de leur structure, ne sont pas digérés par le nourrisson qui ne possède pas le bagage enzymatique adéquat. De ce fait, ils rejoignent intacts l'intestin distal, où ils sont pris en charge par les bactéries commensales. Leur structure en chaîne d'oses permet leur dégradation par les bactéries commensales dites glycolytiques. Le bagage enzymatique d'une bactérie glycolytique lui permet de couper une ou plusieurs liaison(s) osidique(s), et l'on peut voir se former, de la même façon que pour les polysaccharides, des chaînes trophiques conduisant à la libération d'oses simples fermentescibles. Ainsi, les OLM apportés par le lait maternel jouent le rôle de prébiotiques pour certaines bactéries et sont en mesure d'influencer le microbiote juvénile. Les bactéries prédominantes du MI du nourrisson, qui sont les genres *Bifidobacterium* et *Bacteroides*, portent le répertoire enzymatique nécessaire pour cataboliser et utiliser efficacement une large gamme d'OLM. Au sein des Bifidobactéries,

certaines souches sont très bien adaptées pour les consommer, c'est le cas de *B. longum subsp. infantis*, *B. bifidum* et *B. breve* (Le Bourgot, 2016). On a identifié, dans le génome de la souche *B. longum subsp. infantis*, des régions codant pour 24 glycosidases différentes, qui incluent 2 α -sialidases et 5 α -L-fucosidases (Underwood, 2015).

L'activité conjointe de plusieurs souches bactériennes est nécessaire : une étude a montré que *Lactobacillus gasseri* hydrolyse partiellement les OLM sans les fermenter (Ward, 2007) *Bifidobacterium bifidum* peut libérer des monosaccharides des OLM mais n'a pas la capacité d'utiliser le fucose, et l'acide sialique (Sela, 2011). En revanche, *Bifidobacterium breve* n'est pas en mesure de couper des monosaccharides mais peut fermenter ceux libérés par d'autres bactéries (Lis-Kuberka, 2019). La sélection et le développement d'espèces bactériennes résultant de l'apport d'oligosaccharides sera sous la dépendance de la composition du lait maternel qui est différente d'une femme à l'autre et qui est susceptible d'évoluer au cours du temps.

En tant que substrats énergétiques utilisables, les OLM sont considérés comme des prébiotiques naturels car ils participent au développement d'une certaine fraction du Mi infantile. Ils stimulent de manière spécifique le développement de *Bifidobacterium* sp, ce qui leur vaut d'être qualifiés de « facteurs bifidogènes ». Il est à noter cependant que seules certaines Bifidobactéries utilisent les OLM comme seule source de carbone (Milani, 2017).

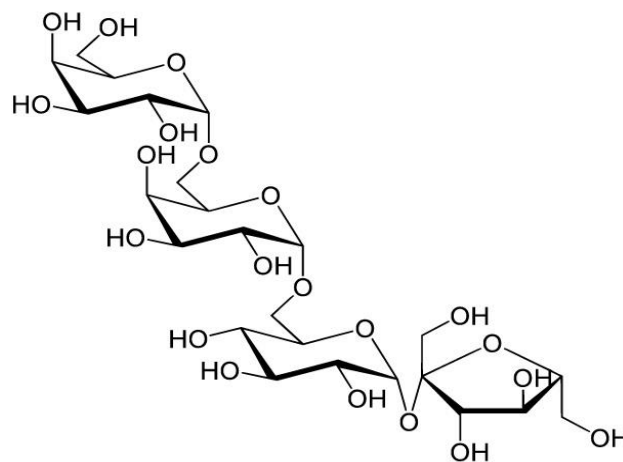


Figure 45 : Structure moléculaire topologique du stachyose, un oligosaccharide
(<https://wikipedia.org>)

Le stachyose est un oligosaccharide linéaire formé de 4 unités osidiques : en partant du haut, deux unités de D-galactose, une unité de D-glucose et une unité de D-fructose. Il est retrouvé à l'état naturel dans plusieurs légumes comme les haricots verts.

III.3.1.1.4.1.1.1 Les oligosaccharides sont protecteurs pour le nourrisson

D'autre part, les OLM soutiendraient l'immunité du nourrisson par une action antimicrobienne et antiadhésive pour les MO pathogènes. Par exemple, les OLM limitent la fixation et donc la prolifération de certaines bactéries par analogie de structures. Un effet bactériostatique de ces sucres est également décrit sur le streptocoque du groupe B par perturbation de la glycosylation de la membrane des bactéries (*Rudloff et Kunz, 2012*).

Les OLM seraient également anti-inflammatoires en limitant l'infiltration tissulaire de leucocytes. Ce rôle serait lié à l'interaction entre ces composés et les sélectines, glycoprotéines transmembranaires présentes sur plusieurs types cellulaires (notamment les cellules immunitaires et épithéliales) qui sont impliquées dans la reconnaissance et l'adhésion cellulaires. En se basant sur le principe que les OLM maternels portent des déterminants de liaison pour les sélectines, une équipe a cherché à savoir si ces derniers étaient en mesure de modifier le *rolling* et l'adhésion des leucocytes à l'endothélium, phénomènes qui précèdent l'infiltration tissulaire dans l'inflammation. En mettant en contact des isolats de cellules immunitaires (monocytes, lymphocytes et neutrophiles) avec des OLM dans des conditions de stress physiologique, ils ont conclu que ces derniers inhibaient significativement le *rolling* et l'adhésion cellulaire à l'endothélium, respectivement de 24,0% et 52,8% (*Bode, 2004*).

Une deuxième étude de la même équipe portant sur les complexes plaquettes-neutrophiles, structures impliquées dans des états allergiques, a démontré un effet inhibant des OLM sur la formation de ces complexes. Après recueil d'échantillons de sang chez 10 individus sains, activation des plaquettes par l'adénosine 5'-diphosphate et mise en contact avec des OLM, on a déterminé, grâce au marquage par anticorps, que la fraction acide des OLM réduisait d'environ 20% la formation de ces complexes et d'environ 30% l'activation de neutrophiles adjacents (*Bode, 2004*).

Ces résultats semblent montrer que certains OLM du lait maternel pourraient jouer le rôle de composés anti-inflammatoires tout en participant à la protection des jeunes muqueuses contre les MO potentiellement pathogènes auquel elles sont exposées. Cela nous permet aussi d'émettre l'hypothèse que ces mêmes composés pourraient influencer l'incidence des maladies inflammatoires chez les enfants qui sont ou ont été allaités. L'analyse des fractions excrétées des OLM par le nourrisson montre qu'une certaine partie échappe à la dégradation enzymatique bactérienne et est excrétée dans les fèces. D'autre part, de 1 à 2% de la fraction ingérée est excrétée par les urines, ce qui sous-entend une absorption sanguine préalable (*Rudloff et Kunz, 2012*).

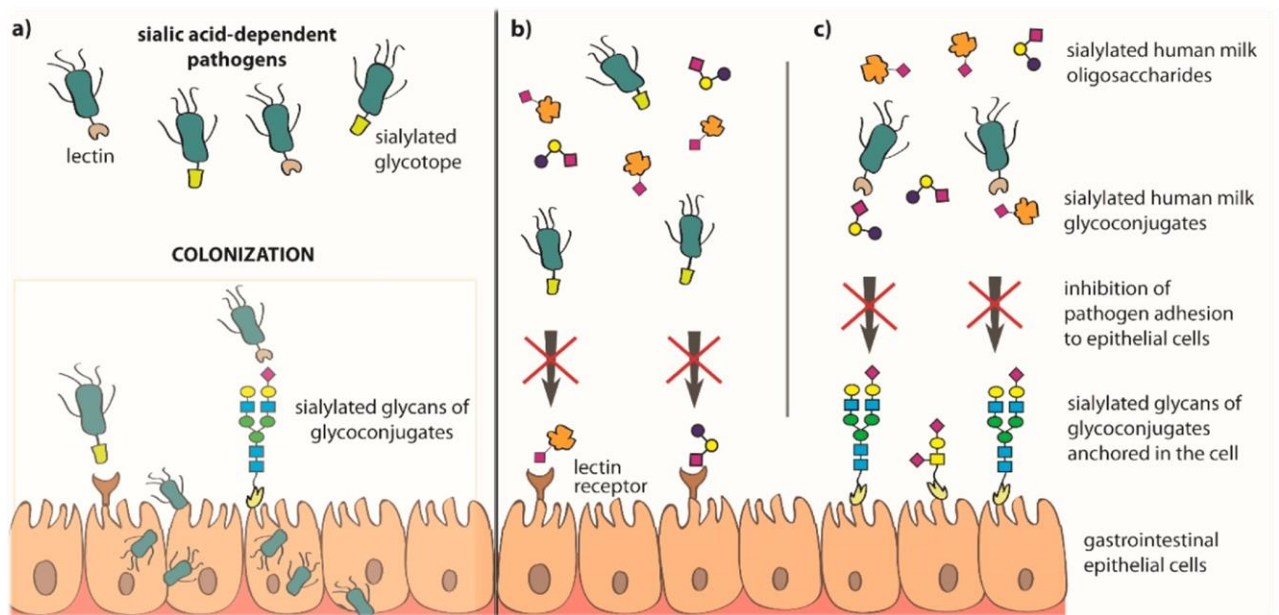


Figure 46 : Inhibition de l'adhésion de pathogènes aux cellules épithéliales par les oligosaccharides et glucides conjugués du lait maternel (Lis-Kuberka, 2019).

- a) La colonisation bactérienne est rendue possible par la présence de structures à la surface des bactéries, telles que la lectine, qui se lie à des récepteurs épithéliaux.
- b) Les OLM et les glucides conjugués du lait maternel se lient aux récepteurs membranaires de l'épithélium intestinal de l'hôte, ce qui bloque ces derniers et s'oppose à la colonisation bactérienne.
- c) Les OLM et les glucides conjugués du lait maternel se lient aux récepteurs membranaires bactériens, empêchant leur adhésion aux récepteurs épithéliaux.

III.3.1.1.4.1.2 Les IgA

L'enfant, au moment de la naissance, possède un SI encore immature. Sa protection dépend de l'ingestion de *colostrum* durant les toutes premières heures de sa vie.

Le *colostrum*, issu de la première sécrétion de la glande mammaire qui suit immédiatement la naissance, contient des IgG sériques produits par la stimulation antigénique du SI systémique de la mère. Celles-ci assurent l'immunité systémique précoce. Le lait maternel, qui suit naturellement le *colostrum*, apporte des Ig essentielles à l'immunité mucoale : les IgA et les IgM. Celles-ci ont deux rôles : elles assurent la protection passive de la muqueuse intestinale du nouveau-né face aux bactéries et virus de l'environnement et accompagnent la primo-colonisation par des phénomènes de contrôle et d'induction de la tolérance comme décrits dans la partie II.

Les IgA transmises au nourrisson proviennent de la muqueuse intestinale de la mère et parviennent à la glande mammaire par des phénomènes successifs de transport avant d'être excrétés dans le lait. Les cellules M des cryptes stimulent la production d'IgA par les LB au niveau des PP. Par des phénomènes de translocation les IgA migrent des PP vers le sang puis vers la glande mammaire où

elles sont transférées dans le lait grâce à la structure particulière des cellules épithéliales glandulaires. La présence d'IgA sécrétaires dans le lait résulte également de la production locale par les plasmocytes du sein (*Le Bourgot, 2016*).

Grâce à la migration entéro-mammaire des anticorps, le nourrisson allaité reçoit quotidiennement plusieurs grammes d'IgA. A la naissance et durant les premiers jours de vie, l'intestin du nouveau-né est très perméable aux macromolécules et permet le passage direct de protéines de la lumière intestinale à la circulation sanguine. L'absorption intestinale des Ig est la clef de la primo-immunisation « passive » du nouveau-né. Ce phénomène qui s'observe durant les premiers jours de vie décroît ensuite très rapidement jusqu'au phénomène de fermeture de l'intestin ou « *gut closure* », au cours duquel la muqueuse intestinale cesse d'être perméable.

III.3.1.1.4.1.3 Le microbiote lacté

De récentes études ont remis en question la stérilité du lait maternel en y recherchant des composants bactériens. Il en est ressorti que le lait issu de la mère ne serait pas stérile et contiendrait certaines espèces bactériennes, même lorsqu'il est collecté en milieu aseptique. Des recherches basées sur des méthodes de culture avaient antérieurement démontré que le *colostrum* et le lait humains contenaient de très nombreux germes viables et transmissibles au nourrisson. Ces bactéries incluaient les genres *Staphylococcus* et *Streptococcus* qui pouvaient, une fois ingérés, s'implanter dans le TD du nourrisson et influencer sa colonisation ultérieure (*Hunt, 2011*), (*Jost, 2014*).

Les méthodes plus récentes basées sur la génomique ont apporté nombre d'informations à ce sujet. En 2016, une équipe de chercheurs espagnols a recueilli et analysé le lait de 21 mères en bonne santé à plusieurs temps et a étudié sa charge bactérienne par la technique de qPCR bactérie-spécifique puis sa composition en bactéries par la technique de séquençage de l'ARN 16S. Concernant la charge bactérienne, la valeur moyenne de tous les échantillons oscillait autour de 10^6 bactéries par mL et semblait rester stable durant les étapes de la lactation (*colostrum* de J0 à J5, lait de transition de J5 – J16 et lait mature après J16) chez une même personne. En revanche, la composition bactérienne était très différente selon les femmes, et dans certains cas, n'était pas la même selon le moment du prélèvement. Globalement, le microbiote lacté était dominé par les genres *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Streptococcus*. L'espèce *Staphylococcus aureus* n'a été détectée dans aucun échantillon. L'équipe enfin a estimé qu'un enfant recevant 800 mL par jour de lait maternel ingérait quotidiennement une charge bactérienne allant de 10^7 à 10^8 bactéries, un chiffre 100 fois plus élevé que d'autres estimations basées sur des méthodes de culture (*Boix-Amorós, 2016*).

Les bactéries du lait seraient issues de l'intestin de la mère où elles subiraient des phénomènes de translocation cellulaire vers la glande mammaire selon l'axe entéro-mammaire, sous influence hormonale. Des bactéries entières seraient prélevées directement de la lumière intestinale par les cellules de l'immunité innée (comme les CD dotées de longs prolongements cytoplasmiques) puis transportées vers les vaisseaux lymphatiques et sanguins avant d'atteindre les glandes mammaires où elles seraient excrétées par l'épithélium (figure 47).

Cherchant à établir un lien entre le MI de la mère et la composition bactérienne du lait, Jost et son équipe ont caractérisé la composition du lait et des fèces de 7 mères allaitantes et de leur enfant, par des méthodes de séquençage de l'ARN 16S. Cela leur a permis d'identifier dans le lait maternel des bactéries anaérobies obligatoires associées au TD telles que *Bifidobacterium* sp., *Bacteroides* sp., *Parabacteroides* sp. ainsi que certaines bactéries du groupe *Clostridia* (*Clostridium* sp., *Colinsella* sp. et *Veillonella* sp.) L'analyse a montré que plusieurs bactéries membres du groupe *Clostridia* productrices d'AGCC, telles que *Roseburia* sp. et *Faecalibacterium* sp. étaient communes au lait maternel et aux fèces du nouveau-né (Jost, 2014). La présence du genre *Lactobacillus* dans le lait a également été démontrée (Martín, 2007).

Ces analyses soutiennent la thèse selon laquelle il existe une voie entéro-mammaire de transport de bactéries capable d'influencer directement la primo-colonisation du nouveau-né et le façonnement de son SI par le métabolisme bactérien. En ce sens, l'étude de Heikkilä et Saris, menée en 2003, a démontré que des bactéries provenant du lait maternel avaient le pouvoir d'inhiber la croissance de certaines autres bactéries. Les souches majoritaires (appartenant pour la plupart au genre *Staphylococcus* sp., avec *S. epidermidis*, *S. salivarius*, *S. mitis*) présentes dans des isolats de lait de plus de 40 mères allaitantes étaient en mesure d'inhiber la croissance de *S. aureus*. Les bactéries lactiques (dont *L. rhamnosus*) avaient aussi un pouvoir inhibant sur *S. aureus* (Heikkilä, 2003).

Le microbiote du lait pourrait également être modulé par le microbiote maternel de la peau, dont les bactéries, par des phénomènes d'ajout et de compétition, contribueraient à rendre le profil bactérien si unique à la mère. Ainsi, l'allaitement serait profitable au nourrisson par deux mécanismes concomitants : le transport de bactéries du MI maternel vers les glandes mammaires et l'ingestion directe de composants bactériens du microbiote cutané de la mère durant la tétée. Les bactéries présentes dans la bouche du nouveau-né auraient aussi ce rôle. D'autre part, une dysbiose au niveau mammaire pourrait être la cause de mastite, une condition inflammatoire qui représente la première cause médicale de difficulté d'allaitement (Fernandez, 2013).

Les informations sur l'impact de l'alimentation maternelle sur le microbiote du lait sont peu nombreuses mais il est à croire que celle-ci est capable d'en influencer la composition, en témoigne une étude menée en 2011 en Syrie sur des femmes allaitantes consommant des produits lactés fermentés typiques de l'alimentation locale. De façon étonnante, ont été décelés dans le lait maternel et les fèces de la mère et de l'enfant des génotypes bactériens communs aux produits fermentés consommés : il s'agissait de Lactobacilles (*L. Plantarum*, *L. fermentum*, *L. brevis*) et d'Entérocoques (*E. faecium*, *E. faecalis*) (Albesharat, 2011).

Ainsi, il n'est pas inconcevable que les habitudes nutritionnelles de la mère puissent moduler les compositions bactérienne et nutritionnelle du lait et exercer des effets directs sur la croissance et la maturation de l'intestin du nouveau-né. Mais peu d'études existent actuellement sur un microbiote lacté « commun » partagé entre les femmes à travers le monde.

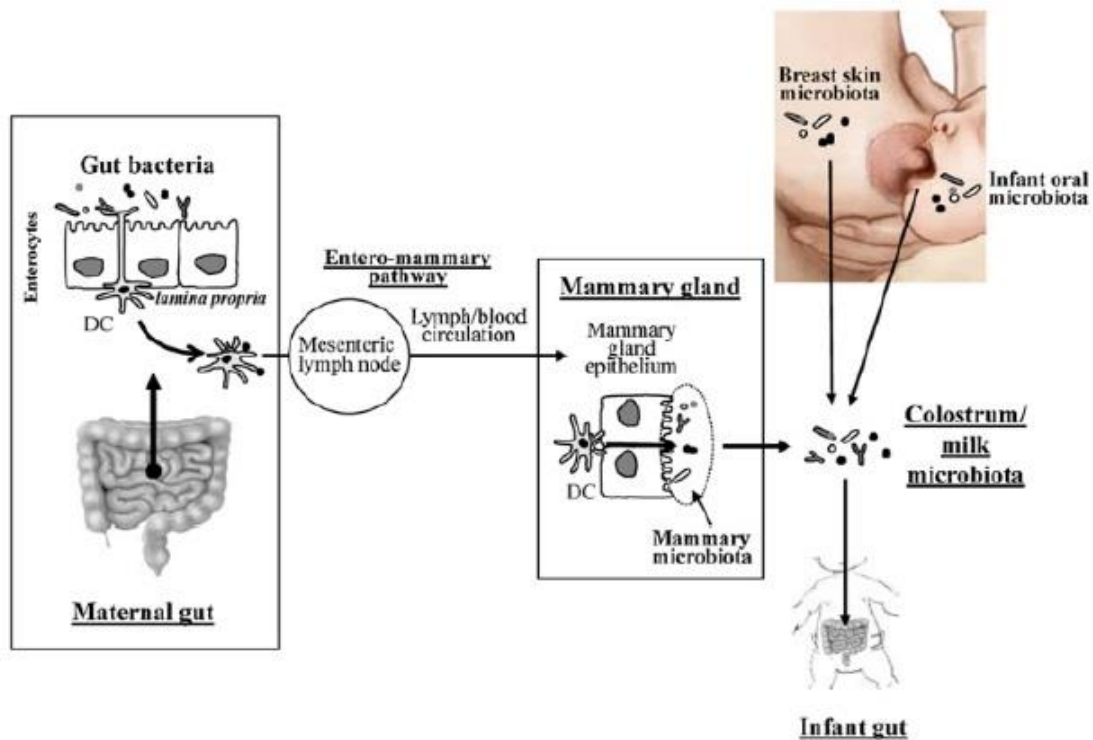


Figure 47 : Transport de bactéries de l'intestin au sein par l'axe entéro-mammaire (Fernandez, 2013).

Des bactéries du *tractus* intestinal de la mère peuvent se retrouver au niveau de la glande mammaire avant d'être sécrétées dans le lait. Ce mécanisme comporte plusieurs étapes :

- (1) Des bactéries entières et vivantes sont prélevées dans le lumen par des cellules immunitaires. (2) Les bactéries gagnent les nœuds lymphatiques du GALT puis passent dans la circulation générale. (3) Les bactéries gagnent les glandes mammaires où les CD de transport leur permettent de traverser l'épithélium des glandes et de se retrouver ainsi dans leur produit de sécrétion (microbiote mammaire) (4) Le nourrisson, lors des tétées, ingérera nombre de ces bactéries qui iront coloniser son TD.

III.3.1.1.4.1.4 La lactoferrine du lait maternel

La lactoferrine est une glycoprotéine de la famille des transferrines, capable de se lier au fer. Elle est présente dans le lait maternel à des teneurs allant de 12,5 à 87,5 $\mu\text{mol/L}$ et est résistante à la digestion dans l'intestin du nourrisson (Mulligan, 2006). De nombreuses fonctions ont été décrites pour cette protéine. Elle aurait notamment un effet antibactérien indirect lié à sa capacité à séquestrer l'élément fer. De ce fait, la lactoferrine du lait maternel influencerait l'implantation de la flore à un stade précoce chez le nouveau-né. En réduisant la disponibilité de l'oligo-élément fer dans le milieu intestinal, elle inhibe la croissance d'espèces potentiellement délétères. Une activité bactéricide a également été décrite par interaction directe avec des composants bactériens. En revanche, elle favorise la prolifération d'autres espèces par sélection : c'est le cas par exemple d'*E. coli* et du genre *Staphylococcus* (Brock, 2002).

Des hypothèses existent quant à la fonction régulatrice de gènes de la lactoferrine, particulièrement sur des gènes impliqués dans la modulation des réponses immunitaires. La lactoferrine aurait la capacité de diminuer la production et l'activation de facteurs pro-inflammatoires tels que NF- κ B ou encore l'IL-12 et l'IL-8 par les LB intestinaux en contact avec des composants bactériens : les CpG. Les cellules épithéliales, quant à elles, ne semblent pas réagir aux motifs CpG en présence de lactoferrine (Mulligan, 2006).

III.3.1.1.4.2 Le lait industriel est-il moins bénéfique pour le nourrisson ?

L'influence du mode d'alimentation sur la santé du nouveau-né est très étudiée. De nombreuses données indiquent que les fonctions intestinales et digestives en période post-natale sont grandement dépendantes de l'alimentation. À une semaine de vie, l'alimentation est le facteur le plus influent sur la mise en place du MI du nouveau-né.

Grâce à leur teneur en vitamines et minéraux, les formules infantiles sont connues pour accélérer la maturation cellulaire et les capacités digestives du nourrisson. Cela se traduit par un développement plus rapide de la muqueuse intestinale et une meilleure perméabilité intestinale aux nutriments. Ce type de lait améliorerait aussi la translocation bactérienne, point de départ de l'éducation immunitaire infantile (Le Huërou-Luron, 2010).

Cependant, et bien que cela soit sujet à controverse, plusieurs sources s'accordent à dire que la flore du nouveau-né allaité est différente de celle du nouveau-né nourri au lait artificiel. Celle-ci serait moins dense et moins diversifiée pour le premier, mais plus bénéfique et plus stable dans le temps. La différence qualitative la plus remarquable est la colonisation dominante par les Bifidobactéries (Campeotto, 2007) et Lactobacilles (Morin, 2012) chez les enfants allaités. Le MI montre aussi chez ces derniers une réduction des Entérobactéries (*E.coli*) (Penders, 2006) ainsi que de nombreux autres genres tels que *Clostridium (difficile, coccoïdes)* et *Bacteroides* qui s'implantent de manière retardée et/ou à un niveau moins élevé (Campeotto, 2007)

La « domination » du MI de l'enfant allaité par les Lactobacilles et les Bifidobactéries suggère aussi une protection face à d'autres bactéries potentiellement pathogènes. En effet, quelques bactéries colonisent plus fréquemment les nourrissons nourris par des laits artificiels. On peut citer *C. difficile*, *E. coli* et *B. fragilis*. D'autres observations indiquent que les nouveau-nés nourris au lait artificiel peuvent eux aussi être colonisés par le genre *Bifidobacterium* à un niveau aussi élevé que les nouveau-nés allaités, notamment lorsqu'une alimentation mixte est démarrée, vers 6 mois (Lundequist, 1985). Cependant, le profil d'espèces dominantes ne sera pas le même chez ces derniers. Ils ne bénéficieront pas des souches les plus protectrices, telles que l'espèce *bifidum*, et donc d'un effet barrière aussi important (Campeotto, 2007).

Ces différences de colonisation peuvent s'expliquer en partie par les particularités physicochimiques du lait maternel responsables d'un effet bifidogène : une teneur plus faible en protéines, une capacité tampon réduite, des composantes antibactériennes comme la lactoferrine et le lysozyme,

les anticorps ou encore les OLM ont été cités comme autant de facteurs favorisant pour l'implantation des Bifidobactéries (*Langhendries, 1998*).

L'influence de l'allaitement sur le milieu intestinal et le MI peut être apprécié par d'autres paramètres biochimiques (*Orrhage, 1999*) qui sont :

- la teneur en acide acétique (AGCC) du milieu intestinal, plus forte chez les enfants allaités ;
- La conversion du cholestérol en coprostanol, caractéristique d'une flore active, qui est retardée chez l'enfant nourri au lait artificiel ;
- La dégradation des mucines, plus précoce chez les enfants nourris au lait artificiel.

L'allaitement procure aussi à l'enfant une immunité, passive au départ, puis active. Les IgG du *colostrum* puis les IgA du lait protègent ses muqueuses et façonnent son immunité. Deuxièmement, les bactéries et antigènes naturellement contenus dans le lait stimulent ensuite l'immunité infantile. Enfin, le contact de l'aliment avec flore commensale aide au façonnement d'un SI doté d'un mémoire immunologique en lien avec un environnement intestinal tolérogène.

III.3.1.1.4.3 Comment moduler les formules lactées infantiles ?

Les bénéfices liés à l'allaitement sont connus depuis longtemps. En particulier, celui-ci est associé à une plus faible incidence d'épisodes diarrhéiques et d'entérococolite nécrosante durant les premiers mois de vie et, plus tard, à une plus faible incidence de pathologies inflammatoires intestinales, d'obésité et de diabète de type II (*Le Huërou-Luron, 2010*).

Aujourd'hui, les formules infantiles cherchent à recréer la complexité biologique du lait maternel en y ajoutant des nutriments retrouvés à l'état naturel. Il est possible aujourd'hui de trouver de nombreuses formulations adaptées à des situations pathologiques ou non (âge du nourrisson, période de croissance, présence de coliques, de régurgitations...).

Souvent, la modulation de l'apport nutritionnel du lait vise à augmenter dans l'intestin du nourrisson le nombre de Bifidobactéries productrices d'AGCC. Pour ce faire, l'industrie utilise des oligosaccharides synthétiques ou hémisynthétiques d'origine animale ou végétale. Il s'agit la plupart du temps d'un mélange de GOS ou de FOS (rapport 9 : 1), non digestibles et au pouvoir bifidogène. (*Campeotto, 2007*). Cette approche est intéressante dans la mesure où elle est physiologique, le lait maternel étant caractérisé par une forte teneur en OLM. Le profil de MI obtenu grâce à l'adjonction d'OLM serait comparable à celui des nouveaux-nés allaités du point de vue des Bifidobactéries et cette influence perdurerait jusqu'à l'âge de 6 mois (*Rinne, 2005*). En outre, l'effet serait dose-dépendant pour les Bifidobactéries et Lactobacilles et l'aide au transit intestinal (*Moro, 2002*).

L'ajout de nucléotides aux formules infantiles est actuellement en cours d'étude sur des modèles humains et animaux. Les nucléotides sont un composant important du lait maternel et représenteraient de 2 à 5 % de l'azote non protéinique du lait maternel. Ils sont utiles à de nombreux processus physiologiques et les résultats des études nous font évoquer un effet bénéfique sur la croissance du TD, la maturation tissulaire et la mise en place du SI intestinal. Les enfants nourris à ce

type de formule ont une incidence moins élevée d'épisodes diarrhéiques (Carver, 1999) L'apport de l'élément azote pourrait améliorer en aval la digestion des protéines par le nourrisson et favoriser lui aussi l'implantation d'une flore plus riche en Bifidobactéries (Campeotto, 2007).

Une autre piste pour la modulation des formules infantiles pourrait être l'adjonction de souches bactériennes non viables au cours du processus de fabrication du lait. 82 83. Les laboratoires Blédina utilisent, pour leur spécialité Calisma®, un procédé de fermentation du lait par deux souches bactériennes (*Bifidobacterium breve* et *Streptococcus thermophilus*) (Campeotto, 2007) Il a été observé chez des enfants nourris de la naissance à 4 mois par une formule fermentée l'implantation d'une flore plus riche en Bifidobactéries, une plus forte production d'IgA et une meilleure protection vis-à-vis des diarrhées (Mullié, 2004). Cela serait lié à la production de métabolites actifs par les souches fermentaires et à l'influence directe de composants bactériens sur le SI du nourrisson (Campeotto, 2007).

Cependant, si les formules infantiles miment de mieux en mieux l'apport en nutriments, leur nature et leur qualité restent différentes de celles du lait maternel. De nombreuses autres molécules bioactives de grande importance pour le nourrisson sont absentes de ces formules, ou retrouvées en quantités insuffisantes. A titre d'exemple, le lait humain mature a une teneur allant de 10 à 15 grammes d'OLM par litre, ce qui est au moins 100 fois plus élevé que le lait de vache, qui est le modèle de base des formules infantiles (Le Bourgot, 2006). D'autre part, les OLM du lait maternel sont extrêmement nombreux et variés, ce qui est difficile à reproduire industriellement.

Une autre réalité très importante est que les caractéristiques du lait maternel évoluent au cours du temps en s'adaptant finement à la physiologie de la mère et aux besoins de l'enfant. Le lait produit à convient à un moment précis de la vie de l'enfant, ce qui n'est pas le cas des préparations infantiles dont la formulation suit des standards d'hygiène et de composition très précis et reproductibles. Les étapes de déshydratation et de conditionnement font à leur tour perdre des propriétés à un produit qui est destiné à être consommé sous forme liquide de manière extemporanée au sortir du sein.

À ce jour, l'étude de l'influence de ces retouches sur la microflore du nourrisson donne des résultats divergents. Certaines sources indiquent que les manipulations réalisées sur la composition des formules ne sont toujours pas en mesure de favoriser l'implantation d'une flore similaire à celle du nouveau-né allaité, même en tenant compte des facteurs nutritionnels (Langhendries, 1998). Poursuivre les recherches sur la manipulation de la composition des formules lactées, en réduisant par exemple la teneur en protéines, ou en ajoutant des prébiotiques, des facteurs de croissance ou encore des IgA pourrait sans doute permettre de moduler la fonction intestinale du nourrisson et réduire les différences de composition du MI entre enfant allaité et non allaité. Toutefois, cela doit être fait en tenant compte de deux données essentielles : le développement de la muqueuse intestinale pathologies et les interactions avec le MI. Dans cette optique, il conviendrait de mieux étudier l'influence de chacun de ces paramètres sur la composition du microbiote et l'éducation du SI intestinal.

III.3.1.1.5 L'utilisation d'antibiotiques à un stade précoce de la vie

Même lorsqu'ils sont utilisés dans des pathologies extra-intestinales, les ATB sont à l'origine d'une altération immédiate et significative du MI. La principale conséquence du traitement est la réduction de la diversité bactérienne qui provoque un certain nombre de désagréments intestinaux (coliques, diarrhées, ballonnements...) et affaiblit l'immunité innée mucoale. Le caractère résilient du MI conduit le plus souvent – plus ou moins rapidement – au regain d'un état d'équilibre chez l'adulte sain. Chez le jeune enfant, en revanche, il a été montré qu'un traitement ATB initié durant la vie prénatale (grossesse) ou en période péri-natale est associée à une altération de la dynamique d'implantation du M (*Le Bourgot, 2016*).

III.3.1.1.5.1 Traitement antibiotique durant la grossesse

Une étude a été menée en 2014 dans le cadre de la Prophylaxie Antibiotique *Intra-partum* (PAI) contre le Streptocoque du groupe B. On sait que la colonisation des voies génitales de la mère par le Streptocoque constitue un risque de transmission verticale pour le nourrisson lors du travail d'accouchement. L'étude a séparé 52 mères dont la moitié (26) recevaient un traitement ATB contre le Streptocoque B, et l'autre moitié étaient négatives, donc non traitées. La quantification par PCR des populations bactériennes dans les fèces du nouveau-né a démontré que l'administration d'ampicilline au début du travail d'accouchement (ou au plus tôt 4 jours avant la naissance) réduit significativement les populations de *Bifidobacteria* chez le nouveau-né de 7 jours, de façon quantitative (réduction du genre) et qualitative : de nombreuses espèces telles que *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum*, and *Bifidobacterium dentium* étaient moins fréquentes dans les selles pour le groupe traité (*Aloisio, 2014*).

Plus récemment encore, l'effet d'une antibiothérapie (pénicillines ou érythromycine) utilisée dans le cas de naissances prématurées a été évalué. L'objectif étaient de comparer l'impact des ATB sur l'établissement du MI néonatal selon le moment d'exposition. Trois groupes ont ainsi reçu une antibiothérapie à des moments différents : (1) la mère en *intra-partum* (PAI) ; (2) le nourrisson à la naissance ; (3) la mère (PAI) et le nourrisson. Un quatrième groupe témoin n'avait reçu aucune antibiothérapie. Chez les groupes traités, l'analyse de l'ARN 16S bactérien a révélé des différences stastiquement significatives de composition du MI à 30 jours de vie. Le *phylum* des *Actinobacteria* montrait une fréquence relative plus faible chez les 3 groupes traités. Le *phylum* des *Firmicutes* montrait aussi une fréquence relative plus faible en particulier dans les 2 groupes où les mères avaient été traitées. Le *phylum* des *Proteobacteria*, en revanche, montrait l'exact inverse avec des niveaux plus faibles chez le groupe non traité. Les niveaux les plus élevés de *Proteobacteria* étaient retrouvés lorsque les mères avaient reçu l'antibiothérapie. L'effet global de l'antibiothérapie était plus prononcé lorsque l'administration avait eu lieu chez la femme enceinte en *intra-partum*.

Du fait des altérations phylogénétiques, des modifications du métabolisme bactérien ont été observées avec, de façon remarquable, une baisse de la production d'AGCC. Le suivi à 30 jours a ainsi relevé des niveau plus faibles d'acétate et d'AGCC totaux chez les groupes traités. De façon

intéressante, les groupes les plus affectés par la baisse de production d'AGCC étaient ceux dont les mères avaient reçu une antibiothérapie. Ont également été mises en évidence, chez les groupes traités, des perturbations de plusieurs voies métaboliques telles que la croissance et la mort cellulaire, les signaux moléculaires, la biosynthèse de métabolites secondaires ou encore les mécanismes de réplication et de réparation. Là encore, le traitement antibiotique *intra-partum* semblait avoir davantage d'impact sur ce type de modifications.

III.3.1.1.5.2 Traitement antibiotique périnatal et durant la petite enfance

L'hypothèse en vogue actuellement suggère une diminution de la diversité bactérienne si un traitement ATB est initié aux premiers jours de vie, avec en particulier une baisse de la proportion des bactéries bénéfiques et une augmentation des bactéries potentiellement pathogènes. De nombreuses études menées chez l'Homme, mais aussi sur des modèles murins et porcins semblent soutenir cette hypothèse. Le plus souvent, les effets délétères persistent quelques temps après l'arrêt du traitement (*Le Bourgot, 2016*).

Des observations ont été réalisées dans le service de néonatalogie d'un hôpital français à Tours. Afin d'étudier l'impact de certains ATB sur la flore du nourrisson, une étude a été menée incluant deux groupes de 10 nourrissons à risque de développer une infection materno-fœtale. Le premier (groupe BI) recevait un traitement prophylactique à base d'amoxicilline et de nêtilmicine (aminoside). Le deuxième (groupe TRI) recevait une trithérapie à base d'amoxicilline, nêtilmicine et cefotaxime. Par rapport à un groupe contrôle de 10 nourrissons non traités, le groupe BI montrait une colonisation digestive importante par des bactéries Gram-négatives (Entérobactéries), en particulier *Enterococcus* sp et des souches d' *E.coli* résistantes à l'amoxicilline. Le groupe TRI montrait une baisse globale de la diversité bactérienne avec un important développement de Staphylocoques et la présence de levures du genre *Candida* (*Bonnemaison, 2003*). Une baisse de la diversité bactérienne à une semaine a également été observée avec la ciprofloxacine (fluoroquinolone) utilisée en post-natal lors d'infection à bacilles Gram négatifs.

L'influence d'une exposition aux ATB durant la période post-natale précoce sur le développement du MI a été suivie chez 26 enfants ayant reçu une céphalosporine de 1^{ère} génération à large spectre (céfalexine à 50 mg/kg, 4 fois par jour) durant les 4 premiers jours de vie. La composition bactérienne fécale de ces nourrissons a été évaluée grâce à la méthode d'amplification par PCR après extraction d'ADN bactérien. Le suivi a été réalisé quotidiennement durant les 5 jours suivant l'antibiothérapie, et une fois par mois durant les 2 premiers mois. Les sujets ATB ont ainsi montré, par rapport aux enfants non traités (groupe contrôle, n = 18) une réduction de la diversité du MI avec une baisse de la colonisation par *Bifidobacterium* sp. et une colonisation inhabituelle par *Enterococcus* sp. durant la première semaine. D'autre part, la PCR en temps réel a montré une persistance des Entérocoques jusqu'à 1 mois de vie, tandis qu'à J3, la croissance de Bifidobactéries était arrêtée. Pour la famille des Entérobactéries, les différences se maintenaient à M1, puis à M2 (*Tanaka, 2009*).

L'utilisation précoce des ATB du fait de perturbations dans l'établissement de leur MI, aurait également des conséquences durables sur la santé de l'enfant, avec un risque plus grand de développer certaines affections chroniques par la suite. La rupture de l'établissement du MI, peut induire des même lorsqu'elle est la conséquence d'une antibiothérapie à faible dose, perturbations métaboliques et altérer l'expression de gènes impliqués dans l'immunité intestinale. Une étude a mesuré chez des souriceaux l'effet de la prise d'une pénicilline à faible dose démarrée à la naissance. La prise de l'ATB a induit des effets prolongés sur la composition corporelle et le métabolisme, avec une masse grasse totale plus élevée et une masse osseuse plus faible. La masse graisseuse accumulée au niveau abdominal était caractéristique du syndrome métabolique. De plus, l'antibiothérapie à faible dose aggravait les effets d'une obésité induite par un régime riche en graisses et le MI altéré était transmissible à des sujets axéniques (Cox, 2004).

Ces informations nous permettent de conclure que l'exposition aux ATB au début de la vie a une grande influence sur la composition du MI du nouveau-né et entraîne des effets durables sur sa composition. Ces effets sont d'autant plus importants et durables que l'exposition a lieu à une période précoce de la vie.

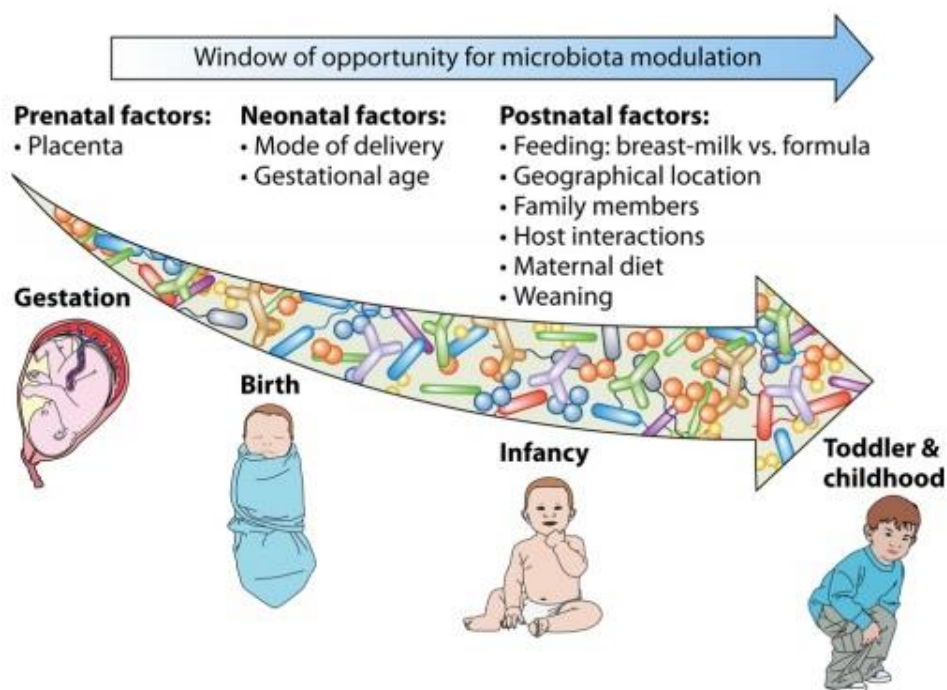


Figure 48 : Différents facteurs impactent la mise en place du MI de l'enfant durant sa croissance (Milani, 2017)

III.3.2 La théorie « hygiéniste »

L'incrimination de l'hygiène comme facteur favorisant de pathologies intestinales provient de nombreuses observations et études selon lesquelles l'augmentation de l'incidence des MICI a coïncidé avec l'amélioration de celle-ci. La théorie hygiéniste est une hypothèse selon laquelle

l'amélioration des conditions de vie et d'hygiène aurait contribué à l'augmentation de l'incidence de certaines maladies en réduisant fortement l'exposition aux MO pathogènes de l'environnement. Cette hypothèse prend son sens tout particulièrement dans les pays développés où la généralisation de l'antiseptie a réduit de manière drastique l'exposition aux MO à la naissance et durant la prime enfance. La stérilisation, et la désinfection sont en effet des gestes courants dans nos pratiques médicales actuelles, tout comme l'est la pasteurisation dans le domaine de l'agro-alimentaire. Il est aujourd'hui possible de donner la vie dans d'excellentes conditions microbiologiques. L'accès à une eau pure, à des aliments pasteurisés, le mode de vie toujours plus urbanisé de nos sociétés sont autant de facteurs qui ont contribué à amoindrir nos contacts avec les MO environnementaux dès notre plus jeune âge. La réduction du nombre d'individus vivant dans un même foyer (moins d'enfants, exclusion des aïeux) et un milieu social devenant de moins en moins communautaire seraient aussi des facteurs limitant l'exposition selon la théorie hygiéniste.

L'amélioration des conditions d'hygiène dans la population est vraisemblablement un facteur limitant l'exposition aux MO. Cependant une telle exposition est jugée nécessaire pour programmer le SI intestinal. Si le jeune enfant ne développe pas rapidement un répertoire immunologique varié, il est moins en mesure d'initier une réponse immunitaire tolérogène face à ces MO. Par conséquent, dès lors que ce même enfant, à un âge plus tardif, entre en contact avec un agent infectieux, une réponse immunologique inadéquate sera déclenchée, par défaut d'exposition préalable à ce dernier (*Hamouche, 2018*). Ce mécanisme immunologique pourrait aboutir au développement d'un environnement inflammatoire anormal et à des troubles immunologiques intestinaux (MICI) et systémiques. L'hypothèse hygiéniste suggère par ailleurs que la fréquence croissante des troubles immunologiques et métaboliques chez l'adulte de nos jours puisse être liée à moins d'exposition durant l'enfance à une grande variété de MO (*Milani, 2017*).

III.3.3 Dysbiose et immunité systémique

Même si le lien est aujourd'hui bien établi entre la dysbiose et les maladies du TD, de plus en plus d'observations mettent en cause la dysbiose comme facteur de risque dans le cas de maladies immunitaires extra-intestinales.

Le MI joue un rôle primordial dans la maturation du SI intestinal infantile. Plusieurs métabolites dérivés des bactéries commensales stimulent le développement du GALT. L'implantation de bactéries commensales bénéfiques est elle-même sous la dépendance de l'environnement avec l'alimentation et les contacts extérieurs. Nous avons vu que la tolérogénicité passe par l'équilibre des cellules immunitaires, en particulier des LTh avec un équilibre entre LTh1 pro-inflammatoires et LTreg anti-inflammatoires. La rupture de cet équilibre rend l'organisme plus sensible aux allergies et maladies d'origine immunitaire.

III.3.3.1 Maladies d'origine allergique

Les Maladies Allergiques (MA) qui incluent les maladies respiratoires, cutanées, ou encore les allergies alimentaires, sont toutes caractérisées par une réponse immunitaire exagérée avec des LT producteurs de cytokines pro-inflammatoires. Ces dernières conduisent au recrutement d'autres cellules effectrices au niveau des poumons ou de la peau, telles que les mastocytes, basophiles et éosinophiles (*Akdis, 2006*).

Les MA ont vu leur prévalence augmenter de manière considérable au cours des dernières décennies, particulièrement au sein des pays industrialisés. Des facteurs extérieurs sont directement imputables à l'émergence de ces pathologies : il s'agit par exemple de la pollution ou encore la présence d'allergènes nouveaux dans notre régime alimentaire moderne. Cependant, les recherches actuelles apportent de plus en plus de preuves quant au rôle joué par le MI dans l'étiologie de ces maladies, et pointent du doigt la dérégulation de l'écosystème bactérien. La dysbiose, notamment à un très jeune âge, serait un facteur prédictif d'apparition de cette classe de pathologies « émergentes ». L'idée d'une altération précoce de la microflore infantile comme facteur prédisposant à la survenue d'un état atopique chez l'enfant n'est pas inconnue et l'on sait qu'un MI varié à une semaine de vie est protecteur contre des maladies d'origine allergique telles que l'asthme ou l'eczéma (*Ismail, 2012*). L'avènement de méthodes moléculaires précises rend aujourd'hui possible la caractérisation de microbiome et l'établissement de liens entre variations de composition et risque.

III.3.3.1.1 Cas de l'eczéma

L'eczéma est une affection inflammatoire cutanée de type dermatose qui se caractérise par une inflammation de la peau, accompagnée de rougeurs, de squames et/ou de fines vésicules. Il est fréquent chez les enfants et peut s'observer à un très jeune âge, parfois même chez les nourrissons. On distingue l'eczéma de contact (ou dermatite de contact), dû à la sensibilisation préalable par un allergène en contact avec la peau, et l'eczéma atopique qui s'observe souvent chez le nourrisson sur un terrain atopique favorisant la survenue d'allergies (<https://www.ameli.fr>).

Dans les deux cas, les lésions s'accompagnent de rougeurs et de démangeaisons. Les personnes atteintes d'eczéma connaissent des périodes d'exacerbations symptomatiques que l'on appelle « poussées d'eczéma », entrecoupées de périodes asymptomatiques plus ou moins longues.

L'eczéma serait de nature génétique avec une susceptibilité individuelle, mais de nombreux facteurs seraient en mesure de déterminer son apparition, comme le stress, ou le contact avec des irritants chimiques. Bien que le mécanisme de l'eczéma ne soit pas totalement élucidé, il serait en lien avec une dérégulation de l'immunité et favorisé par le contact avec des allergènes cutanés (vêtements, cosmétiques, allergènes professionnels). Il est d'ailleurs régulièrement associé à d'autres réactions allergiques dont l'asthme.

Dans le cadre d'un eczéma atopique se manifestant chez le nourrisson, Abrahamsson et son équipe ont cherché à savoir si le MI d'enfants atteints se distinguait de manière significative en richesse ou en abondance relative par rapport au MI d'enfants sains. Des échantillons de fèces de deux cohortes d'enfants (20 enfants atteints et 20 enfants sains) ont été caractérisées par la méthode du pyroséquençage de l'ARN16s, à trois âges différents : 1 semaine, 1 mois, puis 1 an. Il en est ressorti qu'à l'âge d'1 mois, malgré une grande variabilité interindividuelle, le MI d'enfants qui présentaient des IgE spécifiques de l'eczéma avait une diversité globalement moins élevée avec une diminution du phylum *Bacteroidetes* et en particulier du genre *Bacteroides*. A 1 an, la stabilisation du MI a également montré une abondance moins élevée du phylum *Proteobacteria* chez les enfants atopiques (Abrahamsson, 2012).

La prédisposition à développer un eczéma a été reliée à la modulation du SI inné et certains motifs moléculaires bactériens (« *Microbiome Patterns* ») du MI ont pu être incriminés en tant que facteurs de risque. Des différences de composition du MI favorisaient de façon significative la survenue d'un eczéma atopique associé aux IgE à l'âge de 2,5 ans par rapport à des sujets contrôle (sains). Particulièrement, une abondance relative moins élevée du genre *Ruminococcus* à 1 semaine de vie était associée à une plus forte réponse IL-6 et TNF α pro-inflammatoire induite par les TLR2. La plus faible abondance des *Enterobacteriaceae* était quant à elle corrélée à une surexpression de TNF α induite par TLR4. Ces caractéristiques observables chez le nouveau-né âgé d'une semaine étaient toujours présentes à 1 mois de vie. A l'âge d'1 an, les enfants atopiques présentaient une plus faible diversité de MI, plus particulièrement au sein du phylum *Actinobacteria* (West, 2015).

III.3.3.1.2 Cas de l'asthme allergique

L'asthme est une affection de l'arbre respiratoire de nature inflammatoire. Elle est causée par un état inflammatoire chronique des bronches avec apparition plus ou moins fréquentes de crises à la suite d'un stress, d'un effort ou la mise en contact d'un agent sensibilisant avec la paroi bronchique. Lors d'une crise, la réaction inflammatoire entraîne le gonflement de la paroi bronchique, la contraction des muscles lisses respiratoires et la production de *mucus* par l'épithélium, ce qui rétrécit le diamètre bronchique et est à l'origine de symptômes respiratoires (passage de l'air difficile, respiration sifflante, sensation d'étouffement). Une crise d'asthme est généralement réversible en quelques minutes. Mais la répétition des crises au cours du temps peut altérer la qualité de vie du malade.

Lorsque le facteur déclenchant de la crise est un allergène, on parle d'asthme allergique. Le SI est activé de façon aberrant face à l'allergène ce qui provoque les symptômes bronchiques décrits. Au cours d'une dysbiose, l'interaction entre des souches bactériennes inhabituelles du MI intestinal et le SI de l'enfant peut être à l'origine d'une production anormale d'IgE qui sensibilise à l'asthme ou aux maladies respiratoires allergiques.

La caractérisation moléculaire du méconium d'enfants montre déjà un lien entre faible diversité bactérienne et risque de développer des MA plus tard. L'analyse d'une cohorte de 20 nouveau-nés nés en Espagne a montré que des enfants présentant un MI caractérisé par une faible diversité

d'espèces et une domination par des bactéries lactiques, avaient plus de chances de développer des affections respiratoires à l'âge de 4 ans ($p = 0,040$). Un méconium dominé par des bactéries entériques (comme *E. coli*) était quant à lui corrélé à de l'eczéma atopique chez la mère ($p = 0,038$) (Gosalbes, 2013).

Abrahamsson et son équipe, qui avaient déjà évalué l'influence de la composition du MI avec l'eczéma infantile, a proposé en se basant sur une étude clinique, d'étudier l'influence du MI du nourrisson sur l'apparition d'asthme plus tard durant l'enfance. Par la méthode du pyroséquençage de l'ARN 16S, ils ont caractérisé le MI d'une cohorte de 47 nourrissons à 1 semaine, 1 mois et 1 an de vie qui seraient soumis, à 7 ans, à un *prick-test*. Les enfants qui ont développé un asthme à 7 ans présentaient une plus faible diversité de microbiote à 1 semaine et à 1 mois que les enfants non asthmatiques. Toutefois, il n'y avait pas de différence significative au sein des genres et *phyla* entre les enfants (Abrahamsson, 2014).

D'autre part, la dysbiose du MI a été associée à des réponses IgE responsables de manifestations allergiques des voies respiratoires chez l'enfant. L'analyse génomique de selles d'enfants sur la base de la méthode ARN16S, montre que les sujets asthmatiques ou atteints de rhinite allergique ont une proportion de *Firmicutes* plus basse que les sujets contrôle. Le genre *Clostridium*, abondant chez les sujets allergiques, était positivement corrélé aux niveaux d'IgE fécales des enfants asthmatiques. Les niveaux d'IgE fécales étaient quant à eux fortement corrélés à la présence d'IgE sériques dirigées contre des espèces d'acariens domestiques (*Dermatophagoides pteronyssinus* et *Dermatophagoides farinae*) (Chiu, 2019).

Ces résultats semblent souligner l'importance du MI dans le genèse de l'allergie et suggèrent qu'une dysbiose précoce entraîne chez l'enfant un terrain inflammatoire lié à des réponses exagérées vis-à-vis du MI. La dérégulation du SI au niveau local et systémique sensibilise l'individu aux MA du fait d'une surexpression de cytokines pro-inflammatoires et d'une production accrue d'IgE.

III.4 Microbiote et obésité ?

III.4.1 Définition de l'obésité

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le surpoids et l'obésité se définissent comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui représente un risque pour la santé. Un moyen simple de diagnostiquer l'obésité dans la population est le calcul de l'Indice de Masse Corporelle (IMC). Celui-ci correspond, pour un individu, à son poids (exprimé en kg) que divise le carré de sa taille (exprimée en mètres). Le chiffre obtenu permet de classer les individus.

L'OMS considère généralement une personne ayant un IMC de 30 ou plus comme étant obèse. Une personne dont l'IMC est compris entre 25 et 30 est considérée comme étant en surpoids. L'IMC est une mesure très utile car son calcul est le même quels que soient le sexe, l'âge et la taille du sujet. Il s'agit toutefois d'une mesure approximative car il ne donne pas d'information sur l'adiposité (<https://www.who.int>).

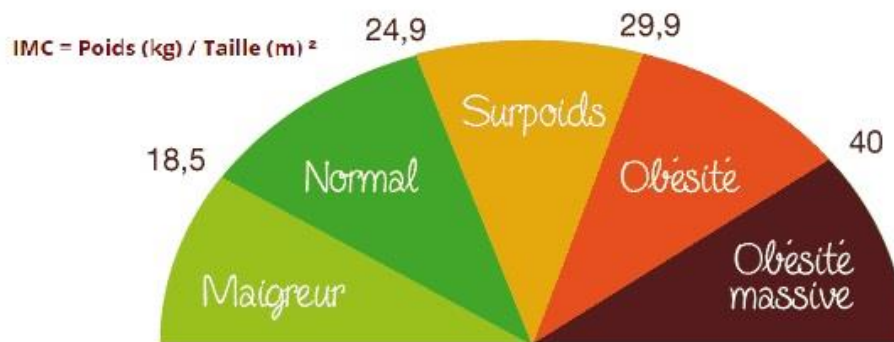


Figure 49 : Calcul de l'IMC et classement en fonction du résultat (<http://dietetique.1ere-page.net/>).

Une personne est considérée « normale » lorsque son IMC est compris entre 18,6 et 24,9. On parle généralement d'obésité pour un IMC supérieur ou égal à 30.

III.4.2 Etiologie de l'obésité et risques pour la santé

L'obésité est considérée comme une maladie chronique d'évolution pandémique. A l'échelle mondiale, le nombre de cas d'obésité a quasiment triplé depuis 1975. On estime qu'en 2016, plus d'1,9 milliards d'adultes étaient en surpoids, et 650 millions étaient obèses. En France, le nombre d'obèses a augmenté régulièrement depuis les années 1990 pour atteindre en 2016 plus de 15% de la population. Selon la même étude, le surpoids concernerait près de la moitié de la population (<http://invs.santepubliquefrance.fr>). Autrefois considérés comme propres aux pays riches, le surpoids et l'obésité augmentent désormais de façon spectaculaire dans les pays en développement, surtout en milieu urbain, du fait des modifications des habitudes de vie (<https://www.who.int/fr/>)

Le surpoids et l'obésité sont des facteurs de risque majeurs pour un certain nombre de maladies chroniques comme l'hypertension et les maladies cardio-vasculaires (accidents vasculaires et cardiopathies), le diabète de type II et les troubles musculosquelettiques (ostéoarthrite). Ils peuvent en outre favoriser l'apparition de certains cancers (endomètre, sein, côlon). Dans tous les cas, ces affections provoquent des décès prématurés et une incapacité plus ou moins importante. (<https://www.who.int/fr/>). L'OMS estime que le risque pour la santé commence dès l'apparition d'une surcharge pondérale même très légère et qu'il augmente avec le poids.

On associe généralement la survenue de l'obésité à une alimentation trop riche et/ou à un manque d'activité physique qui conduit à un excédent énergétique. Cependant, pour une même hygiène de vie, tous les individus ne développeront pas d'obésité, certains se montrant plus sensibles que d'autres à la prise de poids et aux altérations métaboliques. Ces susceptibilités individuelles sont bien entendu liées au génome, mais peuvent aussi s'expliquer par l'influence du MI hébergé par un individu.

III.4.3 L'implication du microbiote intestinal dans l'obésité

Des recherches actuellement en cours sur l'obésité tentent d'identifier, au-delà des facteurs environnementaux (nutrition et mode de vie sédentaire), des causes intrinsèquement liées à l'individu, susceptibles d'influencer son métabolisme et sa balance énergétique. L'une des hypothèses avancées est celle d'un MI délétère, inné ou acquis, capable d'influencer directement l'apport énergétique de l'hôte par l'extraction énergétique, ou indirectement via la production de métabolites actifs.

D'importantes différences de composition du MI ont été identifiées chez les patients souffrant de dysfonctionnements métaboliques et inflammatoires associés à l'obésité, en comparaison avec des individus sains. On sait aujourd'hui qu'il existe, au sein du MF de l'Homme obèse, de la même manière que chez les souris, des niveaux plus grands de *Firmicutes* et plus bas de *Bacteroidetes*, en comparaison aux sujets minces (Turnbaugh, 2006). En outre, tout changement durable dans le mode de vie ou l'alimentation est susceptible de modifier le microbiote et son interaction avec l'hôte (Le Bourgot, 2016). Chez un même individu, la perte de poids semble corrélée avec l'augmentation de la proportion de *Bacteroidetes* (Turnbaugh, 2006), (Backhed, 2005).

III.4.3.1 Microbiote et dérégulation métabolique

C'est en s'appuyant sur le rôle exercé par le MI sur le métabolisme des lipides et le stockage des graisses, que certaines publications scientifiques ont suggéré un lien entre MI et obésité. Des résultats parus en 2006 dans la revue Nature en 2006 suggèrent que les bactéries intestinales favorisent modifient la capacité de stockage des graisses. Le lien microbiote-obésité serait lié à l'induction par le microbiote de la lipogenèse hépatique qui précéderait le stockage des triglycérides dans les adipocytes (figure 50). La comparaison du MI d'individus « génétiquement » obèses avec celui d'individus minces a montré, que ce soit pour des modèles humains ou animaux, de profondes différences de composition, concernant en particulier les deux *phyla* bactériens dominants : *Bacteroidetes* et *Firmicutes*, dont l'analyse métagénomique aurait révélé des avantages sélectifs à utiliser certains nutriments (captation et métabolisation des sucres simples) (Turnbaugh, 2008) Ces différences influent sur le métabolisme de l'individu avec, chez l'obèse, une capacité plus grande à extraire l'énergie des aliments (Turbaugh, 2006).

Des travaux ont confirmé le rôle joué par le MI dans la survenue de l'obésité. La transplantation du microbiote caecal de souris obèses pour lesquelles on a induit l'obésité par un régime hypercalorique vers des souris minces a entraîné chez ces dernières le développement d'un phénotype obèse. (Turnbaugh, 2008). L'augmentation de leur adiposité est directement liée à la capacité augmentée d'extraire de l'énergie (calories) de leur alimentation. Cela suggère que dans certaines conditions, le MI peut suffire à induire un phénotype obèse en augmentant la disponibilité calorique des aliments.

Par ailleurs, l'implantation chez des souris axéniques, d'un microbiote de type « normal » (non associé à un phénotype mince ni obèse) extrait du *caecum* de souris élevées dans des conditions

standard, a ailleurs entraîné une augmentation de 60% de la masse grasse ainsi qu'une insulino-résistance chez ces dernières. Ces résultats étaient observables après 14 jours, malgré la réduction de la prise alimentaire. Ces effets seraient attribuables au MI nouvellement implanté qui favorise l'absorption de monosaccharides dans l'intestin, avec pour conséquence des pics d'insuline plus fréquents et l'induction d'une lipogénèse hépatique *de novo* (Bäckhed, 2004) (figure 50).

III.4.3.2 AGCC bactériens et obésité

Comme évoqué précédemment au cours de ce travail, les AGCC issus du métabolisme bactérien ont une influence sur le métabolisme glucidique et lipidique de l'hôte, et un lien a été établi récemment entre la production d'AGCC par le MI et la survenue de l'obésité chez l'hôte. Chez les souris obèses soumises à un régime hypercalorique, l'augmentation des niveaux d'acétate et de butyrate intestinaux est liée à une capacité d'extraction énergétique augmentée. Ce changement est le fait d'une modification de l'expression génique lors du régime, qui devient favorable à l'utilisation de sucres simples (Turnbaugh, 2006).

Une étude basée sur le volontariat a mesuré chez 98 sujets (dont 30 minces avec un IMC < 20 ; 35 en surpoids avec un IMC compris entre 25 et 30 ; et 33 obèses avec un IMC > 30) la concentration des AGCC dans les selles. Il en est ressorti que les individus obèses et ceux en surpoids avaient une concentration en AGCC respectivement plus élevée de 20% et de 5% que celle des sujets minces. D'un point de vue qualitatif, le profil des AGCC était en faveur du propionate chez les sujets obèses et en surpoids. Le MI montrait quant à lui des différences avec une orientation du profil en faveur du phylum Bacteroidetes pour les sujets en surpoids ($p=0,001$) et obèses ($p=0,005$) (Schwiertz, 2010).

L'augmentation des niveaux d'AGCC chez la femme obèse a été relié aussi à certains marqueurs du syndrome métabolique. Il existe une corrélation positive entre l'augmentation des niveaux d'AGCC fécaux et l'apparition de marqueurs tels que l'adiposité, le tour de taille et l'insulino-résistance (caractérisée par l'index HOMA). Ces résultats étaient vérifiables pour chacun des trois acides gras (acétate, propionate, butyrate) qui étaient environ deux fois plus concentrés chez les femmes obèses que chez les femmes contrôle, minces (Teixeira, 2013), (Khan, 2016).

Cependant, quelques données nous permettent de nous questionner sur le lien entre l'augmentation des AGCC et l'obésité. La production de ces derniers est généralement liée à un régime riche en fibres végétales or un apport élevé en fibres s'oppose à la prise de poids par plusieurs mécanismes. Elles agissent tout d'abord comme un « coupe-faim » et réduisent la prise alimentaire. Les polysaccharides sont des composés osmotiquement actifs et leur présence dans le bol alimentaire conduit plus rapidement à l'état de satiété. Leur caractère hydrophile (elles attirent l'eau) et osmotique font qu'elles occupent un volume plus important dans le TD par l'adsorption d'une grande quantité d'eau. Deuxièmement, elles ralentiraient la digestion du bol alimentaire et par conséquent l'absorption de nutriments (notamment le glucose) ce qui expliquerait par exemple la diminution de l'intensité des pics glycémiques et la production d'insuline (hormone de stockage) qui en découlent. Au niveau intestinal, les fibres, par un effet mécanique, s'opposent à l'absorption des graisses lors d'un repas

riche en lipides. Enfin, un apport régulier en fibres végétales favorise l'apparition d'une flore bénéfique par modulation des entérotypes. Selon une étude, les AGCC ainsi produits par cette flore seraient associés à une diminution des désordres métaboliques et à une baisse de l'incidence de l'obésité et d'autres maladies métaboliques (Slavin, 2005), (InterAct Consortium, 2005).

Un lien bénéfique semble par ailleurs avoir été démontré entre l'augmentation de la production d'AGCC dans l'intestin et la régulation du métabolisme glucidique et l'incidence d'un diabète de type II. Le suivi d'une large cohorte d'individus issus de 8 pays européens a montré qu'un apport élevé (> 26 g/j) de fibres végétales (céréales, légumes) réduisait de 18% l'incidence du diabète de type II en comparaison avec un apport moindre (<19 g/j) sur une durée de 10 ans. Ces effets étaient attribuables à un meilleur contrôle glycémique par les fibres qui diminuent la glycémie post-prandiale et les pics d'insuline, tout en améliorant la sensibilité à l'insuline.

III.4.3.3 Microbiote et régulation de la lipoprotéine lipase

La LPL est une enzyme de la famille des lipases qui intervient dans le métabolisme des lipides. Elle se trouve essentiellement au niveau du TA et des muscles striés squelettiques, mais aussi au niveau des glandes mammaires ou encore à la surface de l'endothélium. Son rôle est d'hydrolyser les triglycérides issus de l'alimentation, présents dans le courant sanguin au sein de volumineuses structures : les chylomicrons et les lipoprotéines. L'hydrolyse des triglycérides sanguins libère des AG directement assimilables par les tissus de l'organisme.

Cette enzyme joue un rôle important dans le métabolisme lipidique. Elle influence directement l'adiposité en jouant sur la disponibilité et le stockage des AG, hautement énergétiques. Une augmentation de son expression participe à l'adiposité et à la prise de poids. La LPL est dite hormonodépendante car son activité est sous le contrôle de certains facteurs hormonaux.

III.4.3.3.1 Le microbiote inhibe ANGPTL4

L'**ANGPTL4** (« *Angiopoietin-like Protein 4* »), aussi connu sous le nom de **Fiaf** (« *Fasting-Induced Adipocyte Factor* ») est un inhibiteur naturel de la LPL. Il est produit par le foie, l'intestin et le TA. (Bäckhed, 2004). Ses mécanismes d'action sont multiples, mais l'on sait notamment que ANGPTL4 transforme la LPL en monomères inactifs et module l'activité de celle-ci au niveau du TA (Sukonina, 2006). Son expression, observable notamment au cours d'un jeûne, permet, en bloquant l'activité de la LPL, de mobiliser les réserves d'AG présentes dans le TA et les muscles afin de préserver l'homéostasie énergétique. L'action de Fiaf entraîne une hausse des taux de triglycérides plasmatiques en même temps qu'une diminution de leur absorption par les tissus. Une baisse de l'expression d'ANGPTL4 va dans le même sens qu'une augmentation de la LPL : stockage des graisses et adiposité. Les souris conventionnelles ont ainsi une clairance plus élevée d'AG sanguins que les souris axéniques comme cela a été observé lors d'une expérience de gavage à l'huile d'olive (Bäckhed, 2007).

Il a été démontré que le MI affectait indirectement le stockage des graisses en induisant l'activité de la LPL chez des souris. La colonisation de souris axéniques par un MI issu de souris conventionnelles fait baisser les niveaux circulants de la protéine **Fiaf**. L'analyse par qRT-PCR a confirmé la diminution de l'expression de Fiaf au niveau de l'intestin grêle (iléon) chez les souris nouvellement colonisées : le niveau d'ARNm codant pour ANGPTL4 dans l'intestin de souris axéniques était environ deux fois plus élevé que celui des souris nouvellement colonisées. En revanche, le niveau d'expression demeurait inchangé dans le foie ou le TA. L'analyse histologique a montré que chez les souris nouvellement colonisées, une hypertrophie des adipocytes était observable au niveau du TA de l'épididyme deux semaines après la colonisation. D'autre part, l'analyse par qRT-PCR de l'ARN contenu dans le TA a révélé que le niveau d'autres marqueurs de la lipogenèse (Acc1 et Fas) était inchangé après colonisation, ce qui spécifie le rôle de l'ANGPTL4 dans ce processus (*Bäckhed, 2004*).

III.4.3.4 Le microbiote diminue l'activité de L'AMPK

Des travaux ont cherché à caractériser d'autres mécanismes à l'origine d'une résistance à l'obésité induite par le régime chez les souris axéniques. Ils ont ainsi montré que leur phénotype mince est associé à des niveaux plus élevés d'une enzyme, l'AMPK, au niveau des muscles et du foie (*Backhed, 2007*). L'AMPK est une enzyme clef de la régulation du métabolisme énergétique cellulaire et son expression augmente lorsque les apports énergétiques diminuent. Elle est exprimée dans de nombreux tissus tels que le foie, le muscle squelettique ou encore le cerveau. Elle favorise l'utilisation de substrats énergétiques par les tissus cibles et facilite l'assimilation du glucose par les tissus. L'AMPK exerce son action sur d'autres enzymes du métabolisme énergétique en les phosphorylant. L'augmentation des niveaux d'AMPK est corrélée au catabolisme des AG au niveau des sites de stockage, du fait d'une l'activation d'enzymes impliquées dans la β -oxydation : il s'agit par exemple de la carboxylase acétyl-CoA (ACC) ou de la carnitine-palmitoyl transférase 1 (CPT-1).

L'équipe de Bäckhed a relevé que les souris axéniques se montrent résistantes à la prise de poids induite par un régime hypercalorique, et ce phénotype est attribuable à une augmentation de l'expression de gènes impliqués dans la β -oxydation des AG (*Bäckhed, 2007*).

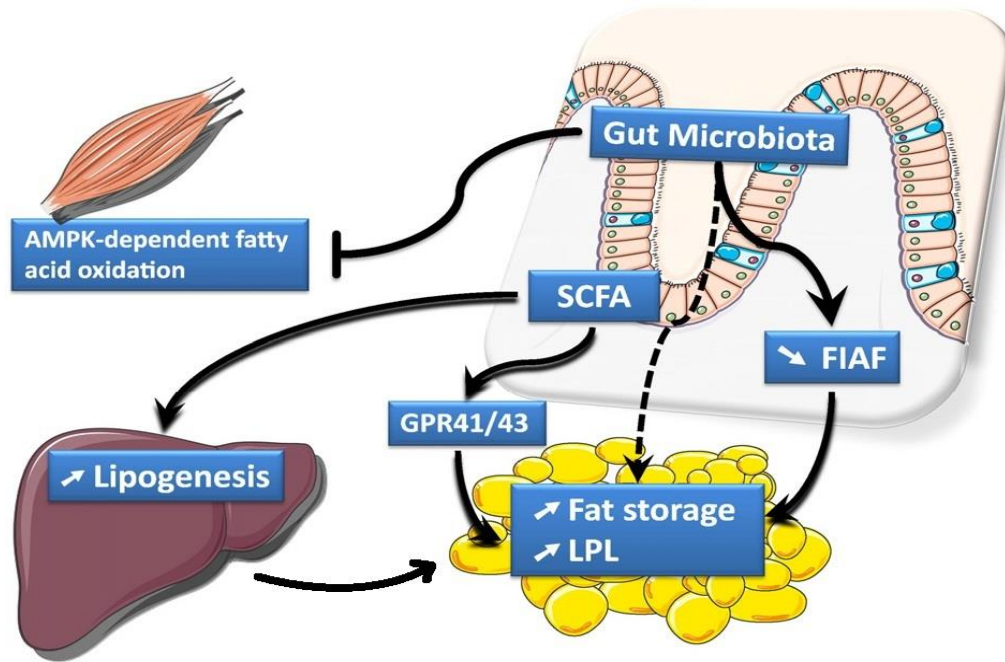


Figure 50 : Relations entre la colonisation microbienne de l'intestin et la survenue d'une adiposité (Cani et Delzenne, 2011)

Il existe, chez les souris colonisées, 3 mécanismes indépendants dont la résultante est l'augmentation du stockage des AG dans le TA :

- Une baisse des niveaux de Fiaf qui n'inhibe plus la LPL et augmente indirectement le stockage des graisses dans le TA.
- Une diminution de l'activité de l'AMPK dans certains organes, qui diminue la β -oxydation des AG dans les sites de stockage.
- Une production accrue d'AGCC qui favorise le stockage de graisses par le biais d'une action sur leurs récepteurs (GPR41/43) ou *via* une augmentation de la lipogénèse hépatique.

Les résultats d'études semblent suggérer que le MI constitue un facteur favorisant la prise de poids. Bien que ces mécanismes soient partiellement élucidés et que la complexité de notre communauté microbienne rende difficile toute affirmation catégorique sur le sujet, les bactéries, en influençant l'homéostasie énergétique de l'hôte, ont certainement un rôle à jouer sur le gain et la perte de poids. Par ailleurs, ces caractères sont transmissibles, comme le démontre l'expérience sur la colonisation de souris axéniques. Ces résultats sont à nuancer toutefois : si les métabolites bactériens ont une influence sur le métabolisme lipidique, le régime qui conduit à leur production peut au contraire faciliter la perte de poids. La consommation de fibres alimentaires s'oppose par exemple à la prise de poids par plusieurs mécanismes. L'on peut suggérer que l'adoption d'une hygiène de vie saine et d'une alimentation riche en fibres puisse intervenir à différentes étapes clés de la prise de poids : sensation de satiété, absorption plus faible des graisses des nutriments et la modulation bactérienne vers l'entérotype *Prevotella*, moins inflammogène.

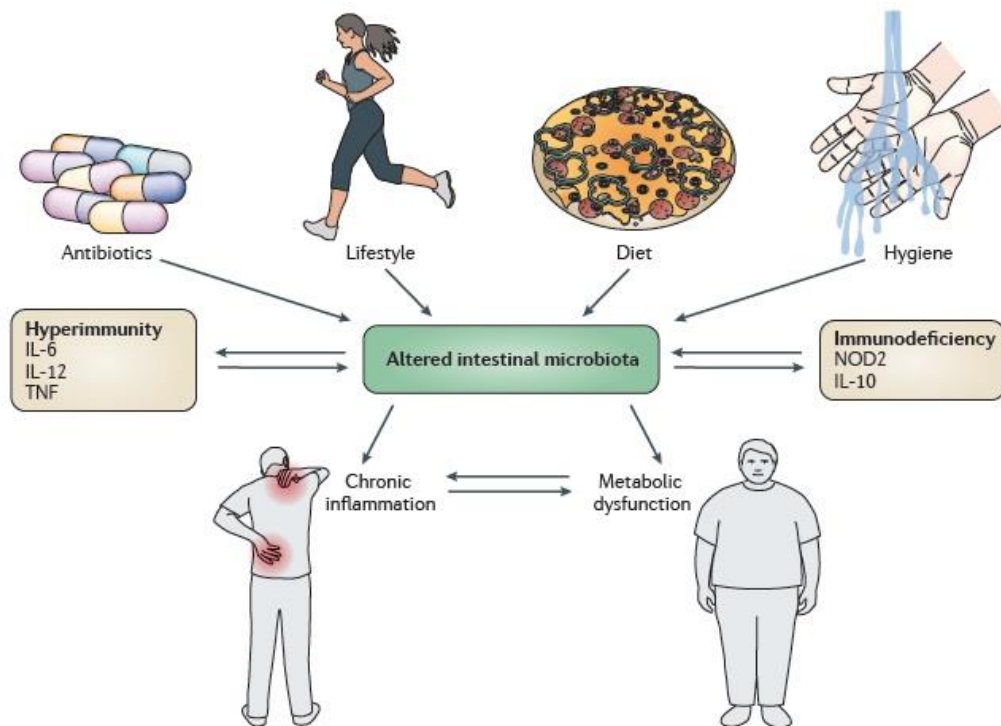


Figure 51 : Les pathologies liées à un microbiote altéré ont plusieurs origines (Sommer et Bäckhed, 2013)

IV. Modulation de la flore et transfert de microbiote : quels espoirs pour la thérapeutique ?

IV.1 L'apport de bactéries intestinales

Dans le but d'améliorer le confort intestinal ou de traiter des situations pathologiques liées à une dysbiose, les approches thérapeutiques actuelles cherchent davantage à corriger l'écosystème intestinal défaillant. La modulation du MI se fait en apportant à l'organisme des bactéries exogènes (probiotiques) par l'alimentation et peut avoir pour but d'augmenter, temporairement, le nombre de bactéries intestinales ou de promouvoir une ou plusieurs fonctions spécifiques de certaines souches bénéfiques.

Les produits laitiers fermentés sont un exemple de produits qui renferment des probiotiques. Le marché de ces aliments aux multiples allégations santé connaît un essor considérable, et ceux-ci sont de mieux en mieux connus du grand public. Qu'ils contiennent des bactéries aidant à la digestion (probiotiques) ou qu'ils n'apportent que des composants stimulant les bactéries naturellement présentes (prébiotiques), les produits lactofermentés ont la réputation de participer au confort intestinal en favorisant le bon fonctionnement de la flore intestinale. Il contribuent à renforcer le lien entre alimentation et santé, connu depuis longtemps et mis à profit aujourd'hui.

IV.1.1 Probiotiques, prébiotiques : définitions

Probiotiques :

Selon la définition de L'Organisation Mondiale de la Santé, les probiotiques sont « des MO vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels ».

Les probiotiques se trouvent à l'état naturel dans certains aliments, par exemple dans les produits laitiers (yaourt, lait fermenté) ou à la surface de certains fruits. Ils peuvent aussi être rajoutés à des fins alimentaires, c'est le cas des formules destinées à l'alimentation infantile. De nombreuses spécialités pharmaceutiques contiennent des probiotiques sous des formes galéniques diverses : comprimés, gélules, sachets, qui ont toutes en commun de contenir des bactéries à l'état lyophilisé. Les MO les plus utilisés dans le domaine de la santé chez l'Homme sont les Bifidobactéries, les bactéries lactiques (*Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp.) ainsi que les levures du genre *Saccharomyces* (*S. boulardii*, *S. cerevisiae*).

Prébiotiques

Selon l'OMS, les prébiotiques sont des « fibres alimentaires non digestibles, capables de stimuler de manière sélective, lorsqu'elles parviennent au niveau du côlon, la croissance de bactéries bénéfiques du microbiote de l'hôte ».

Elie Metchnikoff, prix Nobel de physiologie et de médecine, entrevoyait déjà au début du siècle dernier la possibilité de sélectionner de bactéries bénéfiques par le biais de l'alimentation. Celui-ci suggérait que « la dépendance des microbes intestinaux vis-à-vis des aliments rendait possible l'adoption de mesures pour modifier la flore dans nos corps et remplacer les microbes dangereux par des microbes utiles ». Ces glucides complexes ne constituent pas une source d'énergie pour l'hôte mais ont un effet bénéfique sur le MI en servant de substrats indispensables à certaines bactéries. Quelques prébiotiques couramment utilisés sont l'oligofructose, l'inuline, les galacto-oligosaccharides, le lactulose et les OLM. L'alimentation est la seule source naturelle de probiotiques et certains aliments en sont riches : c'est le cas de l'artichaut et de l'endive qui renferment de l'inuline. Il existe également des produits vendus en pharmacie qui contiennent des prébiotiques et sont destinés à la santé.

Lorsqu'ils sont utilisés avec les probiotiques, les prébiotiques ont la propriété d'améliorer la survie et l'efficacité de ces derniers en leur servant de substrat. L'association de prébiotiques et de probiotiques est appelée symbiotique.

IV.1.2 Propriétés d'un médicament probiotique

IV.1.2.1 Réglementation et allégations

Il n'existe actuellement pas de définition légale des probiotiques, en dépit de consensus scientifiques. La classification au sein des probiotiques requiert néanmoins plusieurs critères. Le probiotique, pour répondre à cette classification, doit (<http://worldgastroenterology.org>):

- Comporter des bactéries vivantes.
- Spécifier le genre et la souche des bactéries utilisées.
- Être conditionné à un dosage approprié.
- Permettre la viabilité des souches jusqu'à leur site d'action.
- Avoir démontré son efficacité dans des études cliniques sur l'Homme.
- Être considéré sans danger pour l'usage qui en est prévu.

D'utilisation courante, les prébiotiques et probiotiques sont fréquemment associés au traitement et à la prévention de certaines affections, particulièrement au niveau gastro-intestinal. Cependant, la majeure partie des spécialités disponibles sur le marché ne sont pas considérés comme des médicaments. Ces derniers ne sont pas, par définition, autorisés à émettre des allégations thérapeutiques et ne peuvent prétendre traiter – à eux seuls – une pathologie. Ils auront plutôt des allégations fonctionnelles décrivant des bienfaits pour la santé, et s'intégreront dans le groupe des compléments alimentaires, dont L'ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail) donne la définition suivante : « Les compléments alimentaires sont

des denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés... »

Les preuves cliniques actuelles en faveur des probiotiques concernent leur utilisation pour améliorer la « santé intestinale » (*gut health*), rééquilibrer le microbiote et stimuler la fonction immunitaire. Celles-ci font écho aux principales allégations santé retrouvées sur le marché.

IV.1.2.2 Propriétés d'un médicament probiotique

La viabilité des probiotiques est une condition essentielle : pour que le probiotique exerce son activité bénéfique, ses souches doivent atteindre leur site d'action vivantes et s'y retrouver en quantité suffisante (*Frayssinhes, 2017*).

Les probiotiques peuvent ainsi être considérés comme un moyen de véhiculer les principes actifs qu'ils contiennent jusqu'au TD. La présence de MO capables de survivre en nombre suffisant doit être garantie jusqu'à la date de péremption du produit. La survie des bactéries à leur passage dans le TD diffère selon la souche utilisée mais dépend également de facteurs physiologiques comme l'acidité gastrique ou la présence de sels biliaires. C'est pourquoi dans quelques spécialités, les bactéries sont protégées de l'acidité gastrique par un procédé de micro-encapsulation. La sélection du véhicule doit être faite de manière minutieuse au regard de la viabilité de(s) souche(s).

Le dosage efficace va cependant varier en fonction de la souche utilisée et la formulation du produit. Dans la majeure partie des probiotiques, une dose contient une ou plusieurs souches dont le nombre varie de 10^9 à 10^{10} UFC. Mais certaines ont prouvé leur efficacité à des doses plus basses, alors que d'autres en nécessitent des plus élevées. (<http://worldgastroenterology.org>). On estime que des concentrations de probiotiques supérieures ou égales à 10^6 UFC/mL dans l'intestin grêle et à 10^8 UFC/mL dans le côlon sont suffisantes pour produire un « effet sur la santé » (*Baelde, 2005*) mais il est à l'heure actuelle impossible de définir un dosage optimal pour tous les probiotiques.

IV.1.2.3 Souches, espèces et genres utilisés

La classification d'un probiotique répond à des critères précis et se base sur la classification phylogénétique des bactéries. Définir un probiotique revient à donner le genre, l'espèce et la souche des bactéries qu'il contient.

L'évocation de la souche est importante car c'est cette dernière qui déterminera l'effet escompté du probiotique sur le corps. Les effets bénéfiques attribués aux souches testées ne peuvent être étendus au genre ou à l'espèce. Il n'existe pas de réglementation concernant les marques et noms commerciaux, et les industriels peuvent nommer les souches qu'ils utilisent comme ils le souhaitent : Ainsi, « LGG » désigne *Lactobacillus rhamnosus* de souche GG.

Genre	Espèce	Désignation de la souche
<i>Lactobacillus</i>	<i>Rhamnosus</i>	GG
<i>Lactobacillus</i>	<i>Casei</i>	DN-114 001

Figure 52 : Nomenclature utilisée pour les micro-organismes (<http://worldgastroenterology.org>)

Parmi les Lactobacilles, on retrouve par exemple *Lactobacillus casei* DN-114 001, où *acidophilus* est le nom d'espèce et LA 401 le nom de la souche.

IV.1.2.4 Mode d'action et efficacité supposée

Les probiotiques exercent leur action bénéfique sur le TD par deux mécanismes : d'une part en apportant des bactéries bénéfiques pour la flore commensale qui par ailleurs entrent en compétition avec des pathogènes potentiels, et d'autre part en stimulant le SI inné par modification de l'environnement cytokinique, production d'IgA et renforcement de la barrière épithéliale.

Les prébiotiques quant à eux augmentent le nombre de bactéries anaérobies bénéfiques en servant de substrat à la microflore commensale. La fermentation de l'oligofructose dans le côlon a par exemple été associée à une augmentation du nombre de Bifidobactéries, et ses effets osmotiques permettent une augmentation du poids fécal, et une régularisation du temps de transit gastro-intestinal (<http://worldgastroenterology.org>).

IV.1.3 Utilisation des probiotiques à l'officine

IV.1.3.1 Traitement de la diarrhée : l'utilisation des probiotiques à l'officine

La diarrhée est la pathologie la plus universellement reconnue comme pouvant être traitée par des probiotiques. La double action des probiotiques constitue un traitement symptomatique de diarrhées d'étiologies diverses et permet la réduction de l'incidence, de la durée et de la sévérité de celles-ci (<http://worldgastroenterology.org>).

IV.1.3.1.1 Traitement de la diarrhée aiguë

Certaines souches ont fait leurs preuves dans la réduction de la sévérité et de la durée des diarrhées infectieuses : c'est le cas de *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 (ULTRA-LEVURE®) et de plusieurs Lactobacilles (*L. reuteri* ATCC-55730, *L. rhamnosus* GG...). Plusieurs méta analyses d'essais cliniques suggèrent par ailleurs l'innocuité et l'efficacité des probiotiques dans le cas de la diarrhée. L'administration de probiotiques incluant *L. reuteri* ATCC 55730, *L. rhamnosus* GG, *L. casei* DN-114 001, et *Saccharomyces cerevisiae* chez l'enfant au cours d'un épisode diarrhéique permet de diminuer la durée de celui-ci d'un jour en moyenne. On observe toutefois qu'il existe plus de preuves

dans le cas de diarrhées d'origine virale que pour des diarrhées bactériennes ou parasitaires. (<http://worldgastroenterology.org>), (Amos Aegerter et Bally, 2012).

IV.1.3.1.2 Traitement de la diarrhée liée aux antibiotiques

Il y a une forte évidence d'efficacité pour les Lactobacilles et *S. boulardii* (ULTRA-LEVURE®) dans la diarrhée associée aux antibiotiques, et le recul associé à l'utilisation de la levure est assez grand. *Lactobacillus casei* DN-114 001 serait également efficace chez l'adulte hospitalisé dans la prévention de la diarrhée liée à *C. difficile* à la suite d'un traitement antibiotique (<http://worldgastroenterology.org>).

Depuis, 2007, huit méta-analyses d'essais cliniques ont suggéré l'innocuité et l'efficacité des probiotiques pour cette indication (Amos Aegerter et Bally, 2012). En 2012, une méta-analyse de grande envergure incluant environ 11.000 patients issus de 63 études randomisées a conclu que l'usage de probiotiques réduisait de façon globale le risque de développer un syndrome diarrhéique durant un traitement antibiotique (avec un risque relatif de 0,58). Les études utilisaient des souches uniques ou des combinaisons de souches, en préparation symbiotique ou non, pour la plupart du genre *Lactobacillus*. Les genres *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, ou plus rarement *Enterococcus* et *Bacillus*, étaient également utilisés (Hempel, 2012). Malgré ses résultats encourageants, la méta-analyse n'a pu démontrer la supériorité d'une souche dans la prévention de la diarrhée. Elle n'a pas permis non plus de définir une formulation idéale. Le mélange de souches est-il à préférer à la monopréparation ? Si oui, quelles souches mises ensemble ont un meilleur effet ? Dans quelle mesure le symbiotique est-il meilleur que le probiotique ? L'étude n'a pas déterminé quelles populations bénéficiaient le plus de ce traitement, même si les analyses se basaient essentiellement sur des adultes.

Des preuves manquent également sur le moment et la durée de l'administration : à l'heure actuelle, on préconise de débiter la prise de probiotiques en même temps que l'antibiotique et de le poursuivre pendant une durée au moins égale à celle de l'antibiothérapie. Pour des troubles chroniques, les cures de probiotiques peuvent être plus longues (1 à 2 mois). En cas d'administration en trop grande quantité, des effets indésirables locaux (diarrhées, inconfort, lésions locales) peuvent survenir

IV.1.3.2 Exemples de probiotiques et prébiotiques à l'officine

D'autres situations pathologiques peuvent mener à la prescription ou au conseil de probiotiques à un patient. Il peut s'agir d'autres symptômes liés à la sphère digestive, comme les douleurs abdominales et les ballonnements non accompagnés de diarrhée. Il peut aussi y avoir une volonté de stimuler l'immunité en jouant sur l'effet bénéfique du MI sur le SI intestinal : des situations telles qu'une période de convalescence post-grippal ou la volonté de renforcer ses défenses immunitaires (à l'arrivée de l'hiver ou lors d'une période de fatigue intense) peuvent ainsi faire l'objet de conseil par

le pharmacien. Le tableau synthétise les principales applications des probiotiques à l'officine en donnant un exemple de spécialité pharmaceutique par utilisation.



Nom commercial	Composition (en souches)	Allégations fonctionnelles et modalités d'utilisation
ULTRA-LEVURE® (probiotique)	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745 Dosée à 200 mg par gélule	1 gélule / jour pendant 10 jours Traitement symptomatique d'appoint de la diarrhée, en complément de mesures de réhydratation Prévention de l'inconfort intestinal lié à la prise d'antibiotiques
LACTIBIANE® Immuno (association de probiotiques)	<i>Lactobacillus paracasei</i> LA802 Dosée à 2.10 ⁹ UFC par comprimé <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA201 Dosée à 2.10 ⁹ UFC par comprimé	1 comprimé à sucer par jour pendant 1 mois. Renforcement des mécanismes de défense immunitaire. Aide à la récupération en période de convalescence.
SYMBIOSIS® Spasmodia (association de probiotiques)	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG Dosée à 2,5.10 ⁹ UFC par stick <i>Bifidobacterium infantis</i> BIO2 Dosée à 2,5.10 ⁹ UFC par stick <i>Lactobacillus reuteri</i> LRE02 Dosée à 2,5.10 ⁹ UFC par stick	1 stick par jour pendant au minimum 20 jours. Traitement de l'inconfort intestinal à titre de douleurs abdominales, ballonnements. Prévention et traitement d'épisodes diarrhéiques.

Tableau 5 : Principales utilisations des probiotiques en officine

IV.1.4 Les probiotiques dans le cadre des MICI

IV.1.4.1 Utilisation des probiotiques dans la rectocolite hémorragique

Dans l'ensemble, les études menées sur les probiotiques suggèrent que ces derniers peuvent contribuer à induire et/ou maintenir un état de rémission dans la RCH légère à modérée. Les résultats ont été encourageants pour certaines Bifidobactéries et Lactobacilles. Ainsi, il a été constaté que l'apport de *Bifidobacterium spp.* et *L. acidophilus* par du lait fermenté pendant 12 semaines donnait une amélioration clinique et endoscopique importante (Kato, 2004).

L'administration de *L. rhamnosus GG* permettait de maintenir la rémission clinique et la fréquence des récurrences (Zocco, 2006), et la souche *E. coli Nissle 1917* serait, elle, équivalente à la mésalazine en termes d'efficacité pour maintenir la rémission (Kruis, 2004).

Le mélange probiotique VSL#3 (dosé à 450.10⁹ bactéries et contenant 4 souches de Lactobacilles, 3 souches de Bifidobactéries et *Streptococcus salivarius*) s'est montré efficace dans l'induction d'une rémission et le maintien de celle-ci lors d'une RCH légère à modérée chez l'enfant et l'adulte. L'effet du VSL#3 a ainsi été comparé à l'effet d'un placebo dans une étude de 2009 qui incluait 147 patients. Il en est ressorti que le taux de rémission était bien plus élevé chez les patients traités aux probiotiques (42,9%) que dans le groupe placebo (15,7%) (Sood, 2009).

Un modèle animal (rat) a montré que l'administration de VSL#3 pour traiter une colite induite inflammatoire induite par dextran sulfate de sodium était liée à une diminution de l'inflammation par baisse de production de radicaux libres et de cytokines pro-inflammatoires (comme IL-1) (Fitzpatrick, 2007).

On peut dès lors recommander, en complément du traitement médicamenteux standard, l'utilisation de probiotiques pour leur effet immunomodulateur dans les formes légères à modérées de RCH.

IV.1.4.2 Utilisation des probiotiques dans la Maladie de Crohn

Concernant la MC, les études ont été dans l'ensemble décevantes. Les analyses de l'impact de leur utilisation notamment sur le maintien d'un état de rémission induit médicalement ou chirurgicalement, n'ont pas, pour la plupart, démontré de résultat statistiquement positif par rapport aux groupes placebo. L'utilisation de la souche *Lactobacillus rhamnosus GG* ne n'a pas démontré d'efficacité sur la fréquence des récurrences post-opératoire de la MC à 1 an chez des patients traités (16% contre 10% chez le groupe placebo) ni sur la gravité des lésions (Prantera, 2002).

Un bénéfice semble toutefois avoir été démontré par l'utilisation de *Saccharomyces boulardii* chez des patients présentant une MC avec absence d'épisodes depuis 6 mois. L'adjonction de la levure à un traitement comportant 2 g de mésalazine avait entraîné un taux de récurrence plus faible qu'un traitement comportant 3 g de mésalazine seule, respectivement 6,3% contre 37,5% (Guslandi, 2000).

Cependant, les probiotiques administrés seuls n'ont pas eu d'incidence sur le maintien de la rémission clinique, comme l'a démontré la méta-analyse qui regroupait 8 ECR impliquant *Lactobacillus spp.*, *E. Coli*, *S. boulardii* ou VSL#3 (Rahimi, 2008).

IV.1.5 Utilisation des probiotiques dans les maladies allergiques

L'utilisation de probiotiques par la femme enceinte a été associée, sur la base d'une large cohorte d'individus, à une réduction du risque de survenue d'eczéma et de rhino conjonctivite chez l'enfant. L'effet protecteur des probiotiques était plus grand s'ils étaient consommés par la mère en période prénatale et par le nouveau-né (West, 2014), (Kuitunen, 2013). Cependant, les preuves manquent quant à la prévention de l'asthme allergique chez l'enfant. Les méta-analyses et le suivi de ces enfants ont conclu que les probiotiques ont un effet protecteur modeste contre l'eczéma mais pas contre les autres manifestations allergiques, ce qui ne permet pas de préconiser leur usage en prévention ou traitement de maladies allergiques.

L'administration de probiotiques à l'enfant dans le but de prévenir l'apparition d'allergie semble être utile si elle est réalisée à un très jeune âge. L'administration périnatale de Lactobacilles, chez des enfants prédisposés, réduirait de moitié le développement d'un eczéma atopique durant les deux premières années de vie (Kalliamäki et Isolauri, 2003). Cependant ce résultat a nécessité une fois de plus le traitement de la mère puis de l'enfant ; un seul mode d'administration n'a pas eu d'effet significatif. L'action préventive des probiotiques semble être dépendante de la souche, la plupart des effets ont été observés avec *Lactobacillus rhamnosus*. Plus récemment, le suivi d'une large cohorte montre que les effets protecteurs vis-à-vis de l'eczéma persistent jusqu'à l'âge de 4 ans et suppose que la prévention d'allergies respiratoires puisse aussi se faire par ce moyen (Kuitunen, 2013).

L'effet protecteur des probiotiques sur l'incidence des MA de l'enfant pourrait être lié à des constituants du MI protecteurs qui bloquent la réponse inflammatoire par la production de facteurs anti-inflammatoires tels que l'IL-10 et le TGFβ.

IV.1.6 D'autres utilisations ?

Des hypothèses ont été émises quant au rôle préventif des probiotiques contre certaines maladies. Chez des modèles animaux, l'expérimentation a montré que les probiotiques réduisent le risque de cancer du côlon en diminuant la présence de procarcinogènes dans le milieu intestinal, probablement en modulant l'activité métabolique de certaines bactéries (<http://www.worldgastroenterology.org>) mais cela n'a pas été démontré chez l'Homme. Les probiotiques et les prébiotiques pourraient aussi avoir un rôle sur les maladies cardiovasculaires grâce à leur influence sur le métabolisme lipidique de l'hôte. Une étude a ainsi fait le lien entre le MI et la santé des artères et a démontré que la diversité bactérienne et inversement corrélée au phénomène de « raideur artérielle » (« *arterial stiffness* ») dû en grande partie à l'athérosclérose et au vieillissement des tissus (Menni, 2018). Cependant, nous ne savons pas dans quelle mesure le recours aux probiotiques est efficace pour prévenir ces maladies

ou en réduire le risque, et aucun protocole d'utilisation ne s'est dégagé de ces études (<http://worldgastroenterology.org>).

IV.1.7 Limites de l'utilisation de probiotiques

De façon générale, les probiotiques peuvent servir de traitement d'appoint dans la plupart des affections intestinales où ils procurent un bénéfice plus ou moins grand: jugés efficaces pour traiter ou prévenir les désagréments liés à la sphère intestinale, ils se montrent bien plus limités face à des affections plus graves comme les MICI. Cela est en partie lié à leur incapacité à coloniser durablement le TD. Les souches ingérées persistent durant la période de traitement puis sont éliminées rapidement après la fin de celui-ci. L'ouvrage numérique Vidal consacré à la pharmacologie indique que dans le cas d'un traitement à *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, la souche, après administration orale répétée, transite vivant dans le TD sans le coloniser et disparaît des selles en 2 à 5 jours après l'arrêt du traitement (<https://www.vidal.fr>). Une utilisation sur le long terme conduirait peut-être à des résultats plus encourageants, mais cela s'avérerait plus difficile à mettre en œuvre chez des patients déjà traités au long cours.

D'autre part, les allégations de santé des probiotiques reposent actuellement sur un nombre insuffisant d'analyses statistiques robustes. Si leur innocuité est un prérequis indispensable à leur commercialisation, de nombreuses zones d'ombre demeurent sur les conditions liées à leur efficacité. La plupart des études diffèrent en termes de durée de traitement, de formulation, et de souches administrées et ne s'interrogent pas sur les conditions qui mènent à la « réponse/non-réponse » du patient. De plus Nous ne connaissons actuellement ni dosage, ni association idéale, et ne nous savons pas dans quelle mesure l'adjonction de prébiotiques favorise la survie et l'efficacité des probiotiques. La survie des bactéries dans l'organisme est soumise à des facteurs liés à l'hôte et à son environnement, ce qui rend difficile la standardisation du produit.

Par ailleurs, il existe peu de documentation sur les effets indésirables avérés ou potentiels liés à l'utilisation de probiotiques, et nous ne savons pas non plus si leur utilisation dans un contexte de dysbiose est en mesure de favoriser l'implantation de bactéries pathogènes, directement, ou indirectement. Le même probiotique à différentes doses peut soit promouvoir soit supprimer la réponse immunitaire. Les bactéries pourraient donc s'avérer inefficaces voire préjudiciables si elles n'étaient pas utilisées à des doses adéquates. Ainsi, l'isolement de Lactobacilles et de Bifidobactéries au niveau de sites d'infection après un traitement probiotique laisse supposer que ces bactéries sont capables de translocation (Liong, 2008). Bien que le risque d'infection soit très rare chez le sujet sain, certaines études associent les probiotiques à des infections (locales ou systémiques) chez les sujets immunodéprimés. Il y aurait par ailleurs possibilité d'un transfert de gènes de résistance aux ATB vers les bactéries pathogènes, bien que cela soit *a priori* rare (Laffargue, 2015).

Enfin, L'utilisation de probiotiques ne saurait se substituer à l'adoption de règles diététiques essentielles : en cas de diarrhée, il est nécessaire de se réhydrater par des boissons abondantes (au moins 2L/j) afin de compenser les pertes de liquide. L'alimentation doit exclure certains apports, comme, les crudités, les produits laitiers ou les aliments et boissons glacés. Les probiotiques dont

l'allégation concerne un état de santé (défenses immunitaires, énergie) ne doivent pas remplacer un mode de vie sain qui comprend l'activité physique et une alimentation variée.

Davantage d'études cliniques sur les souches utilisées et leurs modalités d'administration sont nécessaires. De même, une meilleure connaissance du profil d'espèces qui constitue un microbiote sain sont indispensables pour mieux comprendre les mécanismes d'action des probiotiques et leur capacité à soigner ou prévenir certaines maladies.

IV.2 Le Transfert de Microbiote Fécal

IV.2.1 Définition et intérêts supposés.

Le Transfert de Microbiote Fécal (TMF), aussi connu sous le nom de Bactériothérapie Fécale (BF) ou encore Transplantation Fécale (TF), désigne l'infusion d'une suspension fécale d'un sujet sain vers le TD d'un autre individu. Il s'agit d'un traitement médical mis en place dans le cadre de maladies intestinales caractérisées par un déséquilibre durable du microbiote (*Fumery, 2013*).

Cette technique est aussi dénommée, en termes moins scientifiques, fécalothérapie ou greffe fécale. Elle consiste à introduire, dans le TD d'un patient receveur, une préparation constituée d'une dilution de selles d'un donneur sain, dans le but de corriger un état de dysbiose en réintroduisant une communauté stable et complète de MO intestinaux chez un sujet dont le microbiote a été altéré des suites d'une pathologie intestinale.

Cette approche thérapeutique peut paraître inconcevable aussi bien pour le patient que pour le professionnel de santé actuel. Elle est pourtant très ancienne : elle aurait en effet été décrite dès le 4^{ème} siècle dans la médecine chinoise (*Zhang, 2012*). Sa première utilisation dans la médecine moderne n'a été publiée qu'en 1958 après avoir été pratiquée chez quatre individus atteints d'une pathologie digestive, la colite pseudomembraneuse, et provoqué chez eux une « surprenante » guérison alors même que la responsabilité d'une bactérie pathogène n'avait pas encore été établie (*Eiseman, 1958*).

Le TMF a depuis fait l'objet de nombreuses études montrant son efficacité dans le traitement de pathologies intestinales et a notamment gagné en popularité grâce à son succès dans le traitement d'infections récidivantes à *C. difficile*.

Les intérêts supposés de cette technique sont multiples : le premier est d'être un traitement curatif pour le patient en restaurant chez lui, sur le long terme, un MI défini comme sain qualitativement et quantitativement. Le deuxième est d'apporter un soulagement symptomatique de la pathologie dont celui-ci souffre : Les probiotiques, prébiotiques en traitement d'appoint procurent un certain soulagement mais ne corrigent le déséquilibre du MI que de manière temporaire et ne sauraient être utilisés comme traitements curatifs. L'utilisation systématique d'ATB a quant à elle un impact négatif sur le MI et d'autres microbiotes et peut être à l'origine de résistances. L'apport de bactéries bénéfiques dans le TD permettrait à l'organisme receveur de sécréter des molécules « *antibiotic-like* » (*Fumery, 2013*) bénéfiques pour l'évolution de la maladie. Enfin, les bactéries implantées

permettront de restaurer certaines fonctions du TD telles que l'étanchéité de l'épithélium, et de relancer le SI intestinal.

IV.2.2 Cadre légal en France et dans le monde

A l'heure actuelle, ni le MF (en tant que produit) ni le transfert de celui-ci (en tant qu'acte) n'ont de statut juridique commun en droit français, européen, ou nord-américain. En France, le TMF répond à la définition d'un médicament, en conformité avec l'article L. 5111-1 du Code de la Santé Publique (*Bourlioux, 2014*)

Saisie en 2013, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) retient en mars 2014 la qualification de médicament dans un contexte européen d'approches dispersées (*ANSM, 2014*). En l'absence de spécialité pharmaceutique disponible et adaptée, l'agence considère que le TMF peut être utilisé dans le cadre législatif et réglementaire des préparations magistrales et hospitalières et des médicaments expérimentaux destinés à un essai clinique (L. 5121-1 du CSP) (*Batista, 2015*).

À ce titre et en tant que médicament, sa préparation doit être réalisée sous la responsabilité finale d'une Pharmacie à Usage Intérieur (PUI) d'un établissement de santé (*Batista, 2015*). Cependant, en droit français, la qualification de médicament n'a pas de prétention descriptive d'un point de vue scientifique. Elle possède une vocation juridique et se place en garante de la santé publique. Elle a pour but de protéger le patient en déclenchant l'application de règles impératives de sécurité sanitaire, qui déterminent compétences, actes, lieux, protocoles et procédures relatifs à l'expérimentation, la préparation ou production, l'importation et/ou distribution, la dispensation et la vente de ces produits. Sont également inclus leur contrôle, leur traçabilité (*Megerlina et Fouassier, 2014*) et la surveillance de patients receveurs dans le cadre de la pharmacovigilance.

À ce jour, l'Agence Européenne des Médicaments n'a pas pris position quant au statut juridique de la BF. Au sein des pays de l'Union Européenne, le cadre législatif varie. Dans quelques États membres (Royaume-Uni, Danemark et Pays-Bas), la législation associe la BF aux concepts de « transplantation » et « d'organe », se rapprochant ainsi de la définition de la greffe. Aux États-Unis, la *Food and Drug Administration* a en juillet 2013 opté pour la qualification de médicament tout en décidant de le soumettre partiellement au statut d'« *Investigational New Drug* » (*FDA, 2016*).

Certains auteurs considèrent le MF devrait être soumis à la réglementation des greffes, moins contraignante, en tant que tissu d'origine humaine. D'autres refusent cette qualification, attestant que le MF est d'origine humaine au sens topographique et non fonctionnel : le patient n'est que le « bioréacteur » et le support qui permet au matériel transplanté d'exercer tout son intérêt thérapeutique. Le mode d'action exact de ce tissu sur l'organisme receveur n'est par ailleurs pas connu avec exactitude.

IV.2.3 Indication dans l'infection récurrente à *Clostridium difficile*

Le TMF est actuellement le traitement de dernier recours de l'infection sévère récidivante à *Clostridium difficile*, après l'antibiothérapie. Il prend cependant une place de plus en plus importante dans l'arsenal thérapeutique, et ce besoin fait écho au petit nombre d'ATB utilisables dans cette indication et aux risques liés à leur utilisation systématique (Megerlina et Fouassier, 2014)

A l'heure actuelle, les recommandations européennes placent d'ailleurs le TMF à un niveau de recommandation théorique plus élevé et un niveau de preuve plus grand que les traitements ATB utilisés jusqu'à ce jour. Ceci vaut pour plusieurs situations (Batista, 2015) :

- Dans les récurrences multiples d'infection à partir de la 2^{ème} récurrence (la récurrence correspond à l'apparition d'un épisode infectieux suivant l'épisode précédent à moins de 8 semaines d'écart)
- A partir du 3^{ème} épisode infectieux.

Ces situations incluent le plus souvent des malades ayant reçu au moins deux séquences de traitement antibiotique, avec du métronidazole en première intention, puis en deuxième intention de la vancomycine ou fidaxomyline *per os*.

Le TMF est un traitement curatif, c'est-à-dire qu'il n'a pour objectif non seulement de soulager les symptômes de la maladie mais d'en assurer la guérison. Il agit directement sur le MI qu'il rééquilibre de façon immédiate et durable. Il diminue le nombre de bactéries pathogènes d'un écosystème dominé par des bactéries potentiellement nocives et permet la transition vers un profil microbien sain (Batista, 2015).

IV.3 La colite pseudomembraneuse à *Clostridium difficile*.

La Colite Pseudomembraneuse (CPM) est une pathologie digestive caractérisée par une condition inflammatoire sévère du côlon. Elle est le plus souvent causée par une infection à *C.difficile*, dans un contexte de prise d'ATB récente, bien qu'elle puisse avoir d'autres étiologies. Certains ouvrages parlent aussi d'entérocolite pseudomembraneuse.

IV.3.1 L'agent infectieux : *Clostridium difficile*

La bactérie *C. difficile* fut décrite pour la première fois en 1935 par le binôme Hall et O'Toole, qui lui attribuèrent le nom d'espèce *difficile* en raison des grandes difficultés qu'ils éprouvèrent à l'isoler et de sa croissance très lente en milieu de culture. Sa caractérisation en tant qu'agent causal de CPM date pourtant que de 1978, environ 5 ans après la première description de la maladie qu'on attribua d'abord aux Staphylocoques. Les années 70 correspondent également à l'avènement des antibiothérapies à large spectre, décennie durant laquelle l'association entre infection et utilisation d'ATB a également été évoquée (Carroll et Bartlett, 2011).

C.difficile est un bacille Gram positif, appartenant au *phylum* des *Firmicutes* et du sous-groupe des *Clostridia*. Il s'agit d'une bactérie anaérobie stricte. C'est un pathogène potentiel présent dans l'environnement, qui fait partie de la flore commensale de l'Homme sous une forme non pathogène. On estime que 2% de la population saine, jeune ou adulte, est porteuse des souches non toxigènes de *C. difficile* (*Castrillon Ohanessian, 2013*).

Le bacille peut se rencontrer sous deux formes :

- une forme **végétative** qui est la forme infectieuse, métaboliquement active, à l'origine de l'apparition de la maladie et de ses manifestations cliniques ;
- une forme **sporulée**, forme de résistance, qui est la celle adoptée par la bactérie dans son environnement. Elle est extrêmement résistante aux conditions de l'environnement (chaleur, froid, sécheresse) ainsi qu'aux agressions chimiques (elle résiste à la plupart des désinfectants). Elle se trouve notamment dans les selles de l'individu infecté, et elle est, de ce fait, la principale source de contamination.

Sa forme pathogène présente des facteurs de virulence qui sont la production d'une ou de deux toxines (A et/ou B) à caractère très inflammatoire, et d'autre part la possibilité de reformer des spores (la bactérie est dite « sporulée ») Il existe une grande variété de souches toxigènes avec des facteurs de virulence et un pouvoir pathogène propres, à l'origine de profils pathologiques et épidémiologiques particuliers. On assiste par ailleurs, ces dernières années, à l'émergence de souches hyper virulentes et multi résistantes, à l'origine d'épidémies (*Orbie, 2015*).

IV.3.2 Epidémiologie et modes de contamination

La contamination d'un individu se fait par voie oro-fécale *via* l'ingestion de spores. Les spores sont disséminées dans l'environnement lors de l'émission de selles par un patient infecté. C'est pourquoi elles sont présentes naturellement dans le sol, ou dans les milieux médicaux (hôpitaux, cliniques) ou à forte densité humaine (foyers). La haute résistance des spores explique leur fort pouvoir contaminant : elles peuvent demeurer intactes et ainsi être transmises jusqu'à 40 jours après leur émission. Leur dispersion est en outre facilitée par le manuportage et la promiscuité (*Castrillon Ohanessian, 2013*). Les spores ingérées, résistantes à l'acidité gastrique, atteignent l'intestin où elles vont germer sous l'action des sels biliaires (*Orbie, 2015*). Les premiers symptômes apparaissent lorsqu'elles se trouvent en nombre suffisant dans le TD et commencent à produire des toxines.

De nos jours, *C. difficile* est la cause la plus fréquente des diarrhées acquises à l'hôpital, aux Etats-Unis, au Canada et en Europe (*Gié, 2014*). On estime qu'après une à deux semaines d'hospitalisation, le risque d'acquérir *C. difficile* peut atteindre 13% (*Bertaiola Monnerat, 2015*) et ce pourcentage augmente encore avec la durée du séjour. L'acquisition exogène de la bactérie est une cause majeure d'épidémies nosocomiales. Le nombre de cas CPM est en constante augmentation dans le monde, à tel point qu'il est possible aujourd'hui de parler d'endémie.

L'infection, qui était à l'origine principalement intra hospitalière, commence à se répandre en dehors des établissements de santé, notamment dans les milieux communautaires (EMS, maisons de retraite) (<https://revmed.ch>). C'est le recours systématique à l'antibiothérapie qui semble avoir été le facteur le plus favorisant pour la dissémination du pathogène. Certaines régions peuvent aussi, de façon transitoire, faire l'objet d'épidémies : en 2003 au Canada, une épidémie de CPM à *C. difficile* avait démarré et le nombre de cas avait quadruplé, avec une augmentation des cas sévères (de 7% à 18%) et de la mortalité à 30 jours (de 4,7% à 13,8%) (Pépin, 2004). Ces souches hautement pathogènes (en particulier les ribotypes RT027 et RT028) se sont étendues ensuite en quelques années à l'Europe (Freeman, 2014).

Aux Etats-Unis, l'incidence de la CPM a quasiment triplé entre les années 1990 et 2000. En 2007, elle est estimée à 84 pour 100.000. On constate aussi que la mortalité liée à l'infection augmente du fait de l'augmentation des formes sévères, liées à l'apparition de souches hyper virulentes. Au début des années 2000, le coût total lié à la prise en charge de la CPM aux Etats-Unis dépassait les 5 milliards de dollars (Kelly, 2008).

IV.3.3 Physiopathologie et symptomatologie

Au cours d'un traitement ATB, l'affaiblissement de la flore commensale du TD rend le sujet plus vulnérable à la colonisation car les mécanismes de résistance à la colonisation sont diminués. La physiopathologie de la CPM est liée à la production de toxines par la bactérie au cours de l'infection. Le germe sous sa forme végétative produit une ou deux sorte(s) de toxine(s) dénommées toxine A et toxine B. Celles-ci ont, respectivement, un effet entérotoxique et cytotoxique. Selon son profil de virulence, la bactérie produira l'une ou l'autre, ou les deux. La toxine A provoque une altération de la perméabilité de l'épithélium intestinal avec une fuite hydrique vers la lumière intestinale, ce qui est à l'origine de diarrhées. La toxine B a un effet cytotoxique direct sur les entérocytes par le déclenchement de la mort cellulaire médiée par le facteur NF- κ B. En outre, de 6 à 10% des souches possèdent une troisième toxine, dite toxine binaire qui amplifie l'action des deux premières et serait associée à des formes sévères. L'effet combiné de ces toxines aboutit à une altération fonctionnelle de la barrière épithéliale intestinale et à l'établissement d'une cascade pro-inflammatoire (Orbie, 2015) notamment *via* stimulation de la production de cytokines par l'épithélium intestinal et les monocytes (Gié, 2014).

La présentation histologique liée à la CPM, visible à l'endoscopie, consiste en la présence de plaques jaunes, les pseudomembranes, dispersées au niveau de la muqueuse colorectale, avec une prédominance pour le côlon proximal (Gié, 2014). Les pseudomembranes sont des zones de nécrose qui résultent de dommages inflammatoires (figure 53). Leur aspect est lié à l'accumulation locale de leucocytes, de débris épithéliaux et de mucus. Elles sont attachées aux muqueuses et ne s'en désolidarisent que difficilement. Elles forment un relief au niveau muqueux et font jusqu'à 2cm de diamètre. Dans les cas plus sévères de la maladie, elles peuvent converger pour tapisser une grande partie des parois intestinales. La présence de membranes est associée à un état septique et à une leucocytose. Il existe plusieurs grades de sévérité de la maladie en fonction des lésions observables :

- Grade 1 (modérée) ;
- Grade 2 (sévère) ;
- Grade 3 (sévère et compliquée).

Chez les sujets les plus fragiles (notamment en cas d'immunodépression) il peut exister de graves complications liées à la CPM. Les patients concernés doivent être suivis et surveillés attentivement car il existe chez eux un risque de complications septiques qui peuvent prendre un caractère fulminant (Gié, 2014). On estime à titre d'exemple que 3 à 8% des patients développeront une infection fulminante des suites d'une CPM, dont les signes peuvent être :

- Un *iléus* paralytique (occlusion intestinale) sévère ;
- Un mégacôlon toxique ;
- Une perforation de la muqueuse intestinale avec pour conséquences une péritonite et/ou un choc septique.

Ce type d'infection est une complication clinique gravissime dont la mortalité globale est élevée (autour de 80%) et qui peut nécessiter la résection d'une partie du côlon (Price, 1977).

Symptomatologie :

L'effet cytotoxique direct des toxines sur les cellules épithéliales et la réponse immunitaire de l'hôte dirigée contre ces toxines expliqueraient la diversité des présentations cliniques des CPM. Chez les sujets symptomatiques, le tableau anatomoclinique communément associé à l'infection est la CPM, qui se manifeste classiquement et à des degrés divers par les symptômes suivants (Buyse, 2005) :

- Une diarrhée aiguë, dans 95% des cas. Elle apparaît 48 à 72 heures après l'infection, évolue sur une durée supérieure à 3 jours et peut être sévère.
- Des douleurs abdominales, dans 70% des cas. Les douleurs sont plus sévères en présence de membranes et augmentent avec le grade de l'infection.
- Une fièvre modérée fréquemment associée aux symptômes précédents avec une possible déshydratation liée à l'effet ajouté des diarrhées.
- Une tachycardie, dans certains cas.

Les diarrhées sont glaireuses, de couleur normale ou verdâtre. Dans de rares cas (moins de 5%), elles peuvent être sanglantes. Dans des cas plus sévères, une hypotension liée à une hypovolémie, ainsi qu'une très forte leucocytose sont observés (Farooq, 2015).

Il est à noter que la CPM telle qu'elle est décrite dans ce travail ne représente que les situations les plus graves parmi un éventail de tableaux anatomocliniques et symptomatiques faisant suite à l'infection et dont certains peuvent être tout à fait bénins (portage asymptomatique). Ces tableaux sont sous la dépendance du niveau de pullulation de *C. difficile*, du profil toxinogène de la souche et de la condition du sujet infecté (Buyse, 2005).



Figure 53 : Lésions de pseudocolite membraneuse observables à la coloscopie (Detail, 2015)

Manifestations cliniques	Symptômes
Infection modérée à <i>C. difficile</i>	Diarrhées, douleurs abdominales modérées, leucocytose < 15 G/l
Infection sévère à <i>C. difficile</i>	Diarrhées, douleurs abdominales, leucocytose > 15 G/l
Infection sévère et compliquée à <i>C. difficile</i>	Distension et douleurs abdominales, leucocytose > 15 000 G/l, ± iléus

Figure 54 : Différents grades de sévérité de l'infection à *C.difficile* (Gié, 2014)

IV.3.4 Diagnostic

Le diagnostic clinique de la CPM à *C. difficile* est recherché généralement dans un contexte de diarrhée aiguë (émission d'au moins trois selles très molles à liquides par 24 heures, pendant au moins 24 heures survenant après l'initiation d'un traitement ATB. Le plus souvent, la diarrhée survient au bout de quelques jours, mais le diagnostic peut être établi jusqu'à deux mois après (<https://fmcgastro.org>). Celui-ci repose sur l'observation de signes cliniques, et sur la détection de toxines dans les selles du patient. Une coloscopie peut aussi être réalisée chez le patient pour l'observation des lésions (<https://fr.wikipedia.org>).

La recherche de toxines dans les selles est effectuée lors d'une coproculture : La culture toxigénique représente l'une des deux techniques reconnues comme «gold standard» pour diagnostiquer une infection à *C. difficile*. Après identification et isolement du germe en cause, les toxines libres A et/ou B sont recherchées par une méthode moléculaire (la PCR) ou grâce au test de

référence de cytotoxicité, ou d'un test immuno-enzymatique (*Bertaiola Monnerat, 2015*). La culture toxigénique est actuellement la méthode la plus fiable bien qu'elle soit assez longue (résultats donnés en 2 à 4 jours). Toutes les souches ne sont pas productrices de toxines, c'est pourquoi les tests essentiels au diagnostic reposent sur la toxicité des souches et pas uniquement sur leur présence.

La deuxième méthode de référence consiste à évaluer directement la toxicité des selles. Cette méthode qui se caractérise par une très grande spécificité consiste à révéler l'effet pathogène des toxines en les mettant en contact avec différentes lignées cellulaires. Elle nécessite des équipements et une infrastructure adaptés (*Bertaiola Monnerat, 2015*).

L'endoscopie est plus contraignante pour le patient et doit être effectuée avec prudence en raison du risque de perforation. Son utilité résidera essentiellement dans l'évaluation de l'étendue des lésions (*Buyse, 2005*). L'examen endoscopique révèle l'existence de pseudomembranes. Si une biopsie est réalisée, l'examen histologique met en évidence un exsudat fibrino-leucocytaire typique de la nécrose, des cryptes épithéliales distendues par la présence excessive de *mucus*, la présence de cellules immunitaires inhabituelles (polynucléaires) dans la *lamina propria* (*Buyse, 2005*).

La détection des anticorps antitoxines A et B par analyse sérologique n'est pas proposée habituellement pour le diagnostic d'une cCD. Quant à la Numération de la Formule Sanguine (NFS), elle montre souvent une hyperleucocytose. On peut observer dans certains cas une hypoalbuminémie qui est la conséquence de l'entéropathie exsudative (*Buyse, 2005*).

IV.4 La nécessité d'une transplantation fécale

IV.4.1 L'antibiothérapie comme traitement classique

En milieu hospitalier, les mesures à prendre en premier lieu sont la réhydratation du patient et la rééquilibration hydro électrolytique en cas de pertes aqueuses importantes. Si cela est possible, il est préconisé d'arrêter le traitement antibiotique en cours.

Le traitement d'un premier épisode de cCD consiste en une antibiothérapie par métronidazole et/ou vancomycine *per os* à plusieurs prises quotidiennes, durant 10 à 14 jours (figure 56). Dans les cas les moins graves (score entre 0 et 2), on utilise le métronidazole. La vancomycine s'utilise elle dans les cas plus sévères (score > 2). En cas de cCD compliquée, les deux peuvent être associés en première intention. Bien que l'efficacité soit quasiment la même pour les deux molécules (*Zar, 2007*) on privilégie autant que possible le métronidazole du fait d'un coût plus faible et d'un risque moins grand d'apparition d'entérocoques résistants (*Castrillon Ohanessian, 2013*). Le risque de résistances associées demeure néanmoins faible.

Les probiotiques peuvent être utilisés en traitement d'appoint afin d'améliorer les chances de réussite de l'antibiothérapie curative tout en limitant l'impact secondaire à celle-ci. L'administration quotidienne de souches de *Saccharomyces boulardii* (ULTRA-LEVURE®) par voie orale limite, par un effet compétitif, la survie et la croissance des spores dans le milieu intestinal mais la littérature à ce

sujet reste limitée et des études manquent sur l'efficacité et la sécurité des probiotiques chez les sujets fragiles, qu'ils soient immunodéprimés ou âgés (Castrillon Ohanessian, 2013).

Il n'y a pas de consensus actuellement établi sur la prise en charge des récurrences de cCD. Si des symptômes digestifs réapparaissent après un premier épisode de cCD, les recommandations actuelles préconisent de rechercher à nouveau la bactérie dans les selles. Si une première récurrence est diagnostiquée, il est recommandé de la traiter comme une primo-infection. Au cours de la 2^{ème} récurrence, un traitement par vancomycine à doses régressives sera initié (figure 56) afin d'éliminer les spores des replis et diverticules intestinaux plus difficiles d'accès (Castrillon Ohanessian, 2013). La vancomycine serait en effet plus efficace que le métronidazole pour éliminer les colonies résiduelles de *C. difficile* dans le TD (McFarland, 2002). La fidaxomyline pourrait enfin être une alternative à la vancomycine. Une étude randomisée effectuée en 2013, qui incluait des patients du Canada, des Etats-Unis et d'Europe avait démontré qu'en cas d'utilisation de fidaxomyline, le taux de moyen de récurrence était diminué de plus de 50% par rapport à la vancomycine (Louie, 2013).

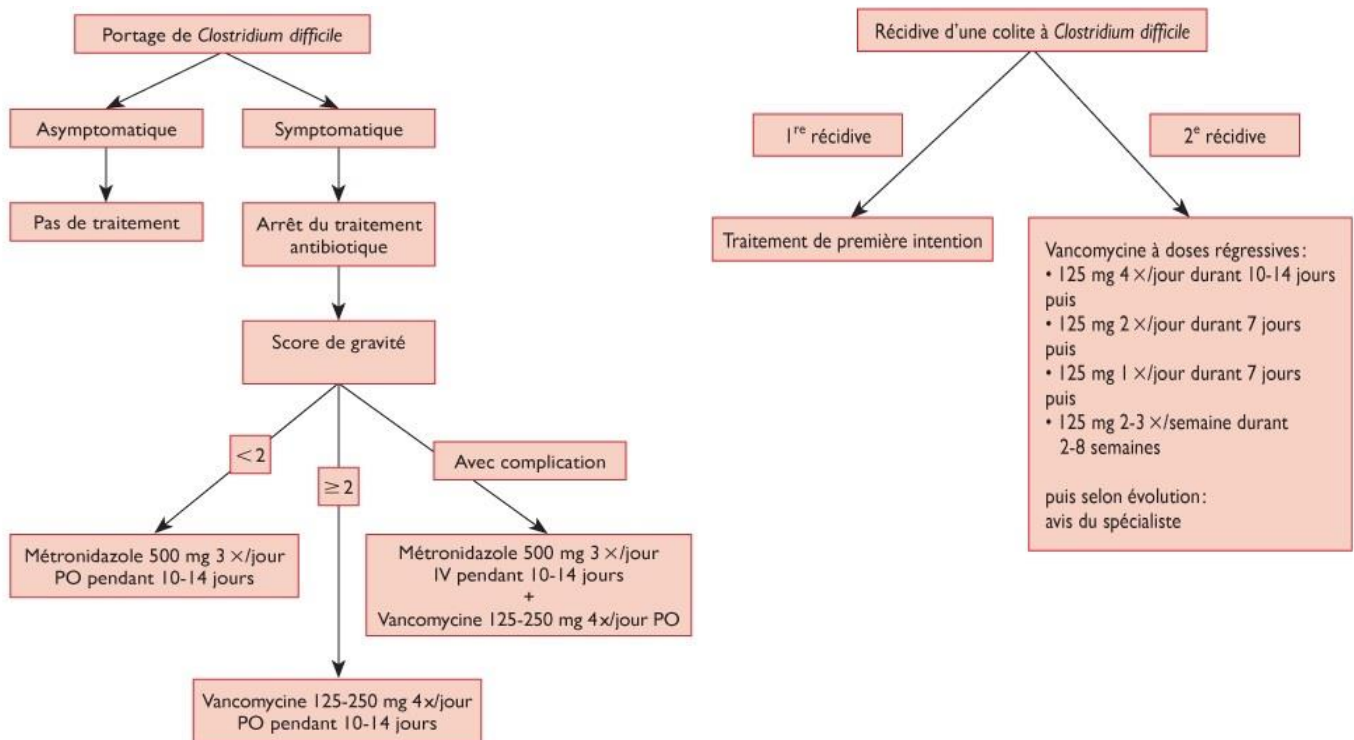


Figure 55 : Exemple de recommandation de prise en charge de la colite à *C.difficile* de l'adulte en cas d'infection initiale ou de 1^{ère} récurrence (image gauche) ou à partir de la 2^{ème} récurrence (image droite) (Castrillon Ohanessian, 2013).

IV.4.2 L'établissement d'une susceptibilité chez le sujet infecté

Des souches de *C.difficile* non toxigènes sont retrouvées dans la flore commensale des nouveau-nés et chez 2% de la population saine. Cependant, cette proportion s'élève à 20% après un séjour

hospitalier et monte jusqu'à 50% chez des patients en long séjour (Kee, 2012). Les antécédents d'hospitalisation du patient, la durée de son séjour en institution sont à prendre en compte dans un contexte de risque infectieux (Castrillon Ohanessian, 2013).

L'acquisition de *C. difficile* survient la plupart du temps après une antibiothérapie. La nature du ou des antibiotique(s) utilisé(s), leur spectre d'action, le dosage, et la durée du traitement ont chacun une influence. Sont souvent incriminés les ATB à large spectre utilisés au milieu hospitalier (vancomycine, fluoroquinolones) ou en ville (clindamycine) ainsi que l'association amoxicilline/acide clavulanique (AUGMENTIN®) ou encore les céphalosporines de troisième génération (Eckert, 2010). Une simple antibioprophylaxie comporte aussi un risque d'infection à *C. difficile*.

Cependant, tous les sujets porteurs de *C. difficile* ne deviennent pas symptomatiques. Certains sujets élimineront naturellement la bactérie par voie intestinale, ou seront colonisés par une souche non toxigène (figure 55). Lorsque l'infection à *C. difficile* se déclare, les formes cliniques varient d'un sujet à l'autre et peuvent aller du simple portage asymptomatique à une colite toxique mortelle (Gié, 2014). Une fois la bactérie acquise par le patient, le devenir de celui-ci sera fonction des caractéristiques intrinsèques à l'hôte mais aussi des caractéristiques de la souche acquise.

Les formes végétatives colonisent plus facilement le sujet dont l'immunité innée est affaiblie. La perturbation du MI qui fait suite à l'antibiothérapie facilite la colonisation par *C. difficile*, même après l'arrêt du traitement. Des désordres qualitatifs et quantitatifs des bactéries commensales ont été associés à la survenue de primo-infection ou de récurrences d'infection à *C. difficile*, particulièrement un déficit en *Bacteroidetes* et *Firmicutes* (Khoruts, 2010).

L'*inoculum* de départ, le profil bactériologique et les facteurs de virulence bactériens déterminent l'évolution de la pathogenèse. La capacité de la bactérie à sporuler la rend plus difficile à éradiquer car les spores peuvent persister longtemps dans un milieu avant de germer à nouveau et causer la réapparition des symptômes. C'est ce phénomène qui est à l'origine des récurrences chez le patient infecté (persistance de spores dans le milieu intestinal) ou des infections nosocomiales (contamination ou recontamination par contact avec des surfaces souillées ou portage par le personnel soignant). Au total, plus d'un tiers des patients présenteront au moins une récurrence, parmi lesquels 50 à 65 % présenteront des récurrences multiples (Fumery, 2013).

Un patient infecté puis traité présente toujours un risque de récurrence d'infection. La rupture de l'eubiose par traitement médicamenteux a une valeur prédictive sur l'évolution de la maladie et la survenue de récurrences. La reconstitution d'un MI sain et stable dans le temps semble être le facteur le plus important en termes de prédiction de récurrences et la susceptibilité vis-à-vis d'une recontamination fait souvent écho à l'incapacité du MI à récupérer ses pleines fonctions protectrices. Ainsi, lorsque le MI a été exposé à un environnement délétère, il peut s'installer chez le sujet une boucle de susceptibilité qui rend la guérison complète difficile voire impossible. Cela s'observe plus particulièrement chez les sujets fragiles dont l'exemple pourrait être une personne âgée, arrivée à l'hôpital à la suite d'une fracture pour une opération chirurgicale qui nécessite une antibiothérapie prolongée. On considère qu'un âge supérieur à 65 ans est un facteur de risque de récurrence. Les femmes auraient une susceptibilité plus grande que les hommes en termes de récurrences.

Certaines classes médicamenteuses peuvent aussi empêcher ou retarder la guérison. Les ATB s'utilisent pour traiter mais tendent à diminuer la résistance à la recolonisation, en particulier chez les sujets fragiles et en cas de présence de spores résiduelles dans l'intestin. Les Inhibiteurs de la Pompe à Protons (IPP) facilitent la recontamination en augmentant le pH gastrique qui est l'un des mécanismes de défense contre les bactéries sporulées (*Castrillon Ohanessian, 2013*). Les immunosuppresseurs utilisés notamment en cas de greffe privent le sujet de sa pleine capacité de défense face à la colonisation. Il a été montré que les patients qui développent une infection ont un taux d'anticorps sériques anti-toxine A significativement plus faible que les patients qui restent porteurs asymptomatiques (*Eckert, 2010*).

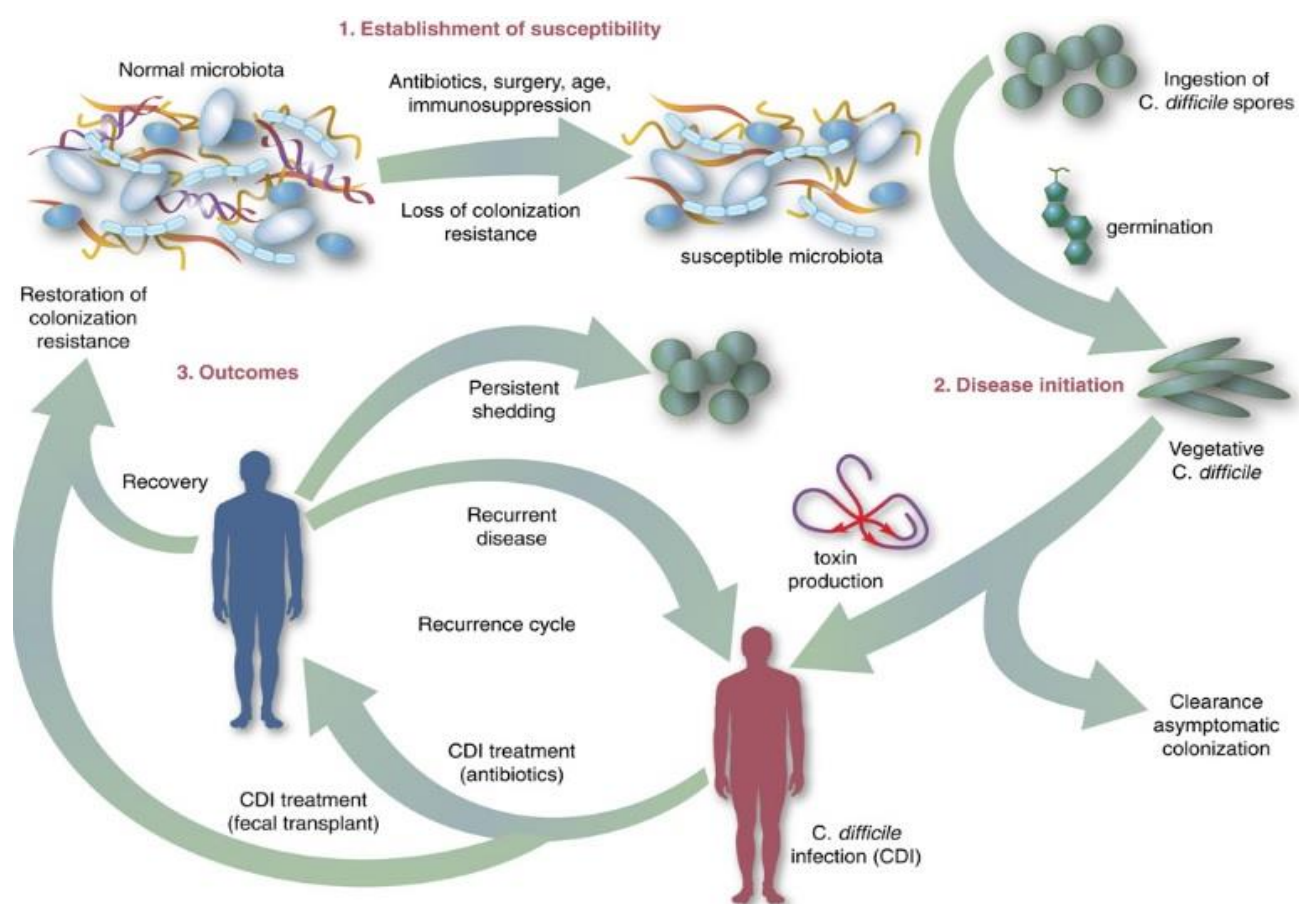


Figure 56 : Mécanismes d'établissement d'un susceptibilité à l'infection à *C. difficile* (Rao, 2016)

IV.4.3 Limites et risques de l'approche thérapeutique actuelle

La cCD reste une pathologie grave avec un taux de récurrence élevé, et une mortalité non négligeable en particulier chez le sujet âgé. La maladie a vu son taux d'incidence augmenter de façon globale ces dernières années avec survenue de foyers épidémiques. L'approche actuelle repose essentiellement sur l'antibiothérapie mais plusieurs arguments font de la TF une alternative thérapeutique de plus en plus envisageable dans cette situation :

- Les antibiotiques ont un effet toxique sur le MI dans un contexte déjà pathologique de dysbiose.
- Ces dernières années, l'émergence de souches pathogènes plus virulentes fait courir un risque supplémentaire aux malades.
- La résistance aux ATB actuellement utilisés serait rare : mais avec l'augmentation mondiale de l'incidence, la généralisation de l'antibiothérapie ne pourrait-elle pas augmenter ce risque ? L'apparition de résistances compliquerait la prise en charge en rendant certains ATB courants difficilement utilisables.
- Le traitement probiotique *per os* peut procurer un soulagement transitoire des symptômes mais son effet thérapeutique est discutable, peu documenté et l'administration de probiotiques de façon prolongée n'est pas envisageable.
- Il est nécessaire de soulager les symptômes des patients et de limiter les récurrences sur le long terme, afin de diminuer la morbidité et les complications liées à l'infection. En ce sens, la TF apparaît actuellement comme l'unique approche capable de « guérir » la maladie.

IV.5 La Transplantation Fécale en pratique

Aujourd'hui, bien que le TMF dispose d'une autorisation et d'un cadre légal, il n'existe pas de consensus parmi les équipes hospitalières sur l'aspect pratique de la méthode. Les protocoles varient, à titre d'exemple, en termes de sélection du donneur, de méthode de prélèvement et de préparation, et d'administration. Le TMF fait toutefois l'objet d'étapes de sélection et de verrous de sécurité dont le but est d'assurer la sécurité de l'acte médical et l'innocuité pour le receveur.

L'objectif de cette partie est d'exposer les étapes inévitables qui conduisent à la sélection d'un donneur, à la fabrication d'échantillons ainsi qu'à leur administration.

IV.5.1 Choix du donneur

L'ANSM a rappelé, dans ses recommandations de mars 2014, que le don du sang dirigé (provenant d'une personne apparentée au receveur ou faisant partie de son entourage direct) est interdit en France (articles 16 et suivants du Code Civil et L. 1221-7 du Code de Santé Publique). Ce principe assure le choix d'un donneur anonyme et l'anonymat du don.

Cependant, dans le cadre du don de selles, il n'existe aucun argument scientifique en faveur d'un don anonyme par rapport à un don dirigé. L'acte peut être plus facile à accepter psychologiquement par le receveur lorsqu'il est en mesure de choisir son donneur (<https://ansm.sante.fr>). En pratique, le donneur est donc souvent choisi au sein de la famille du receveur (la plupart du temps, un conjoint, ou un parent proche.) Le don dirigé a aussi pour avantage la proximité entre le donneur et le receveur qui partagent le même environnement microbiologique et les mêmes habitudes de vie. Une revue scientifique montrait ainsi que dans le cadre du traitement d'infections à *C.difficile*, le TMF basé sur le don dirigé de selles (conjoint ou partenaire intime) avait de plus grandes chances de succès que

lorsqu'il était effectué grâce à un donneur non apparent : respectivement de 93,3% et de 84% (Gough, 2011).

IV.5.1.1 Faut-il préférer un donneur unique ?

L'unicité du don n'est pas un prérequis indispensable. Il n'existe aucun argument en faveur d'un donneur unique dirigé vers un seul receveur. En l'état actuel des connaissances, aucune donnée ne permet de définir chez les sujets sains des profils de MI qui seraient à privilégier par rapport à d'autres. Le ou les don(s) d'un même donneur peu(ven)t donc être destiné(s) à des receveurs différents (<https://ansm.sante.fr>). De plus, un don destiné à plusieurs receveurs permettrait de bénéficier d'une standardisation et d'alléger les contraintes logistiques associées à la sélection des donneurs. Il n'existe pas non plus de preuve scientifique en faveur du principe « un donneur – un receveur » par rapport à des dons « *poolés* » (plusieurs donneurs pour un receveur). Cependant, du point de vue de la traçabilité des risques, le principe de l'unicité du don (un donneur—un receveur) est à privilégier dans certains cas (<https://ansm.sante.fr>).

IV.5.1.2 Sélection du donneur

La sélection du donneur est basée sur un interrogatoire et des tests biologiques de dépistage. La finalité de ces recherches est la sécurisation du processus de don pour le receveur. Il faut pour cela s'assurer que le donneur est en bonne santé et qu'il n'existe aucun facteur de risque de maladies transmissibles par les selles ou par voie sanguine. Les étapes de sélection permettent aussi de limiter le risque de transmission de maladies pour lesquelles il n'existe pas de tests de laboratoire, ou pour lesquelles les tests disponibles ne permettent pas de détecter les premiers stades de l'infection (Batista, 2015).

IV.5.1.3 Etapes de la sélection du donneur

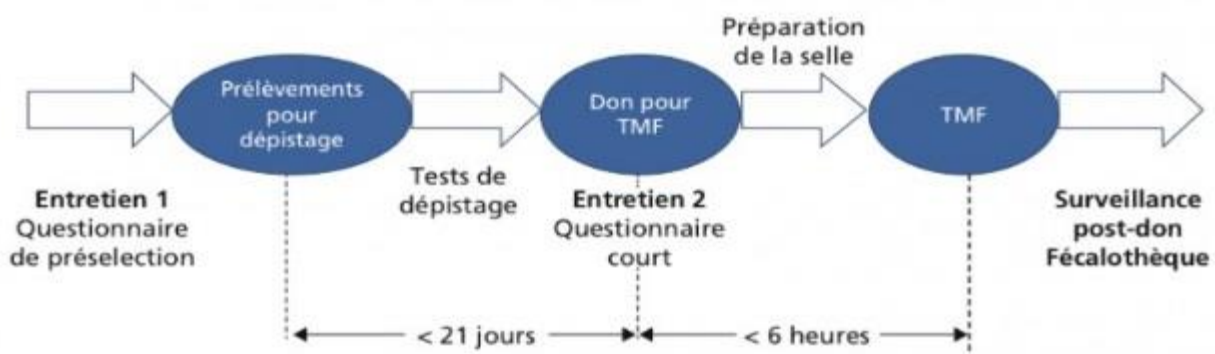


Figure 57 : Chronologie de la Transplantation de Microbiote Fécal (TMF) pour le donneur (<https://www.gftf.fr/>)

Tous les candidats au don passent par une étape de présélection au cours de laquelle ils sont interrogés minutieusement, sur la base d'un questionnaire associé à un entretien médical, afin d'évaluer et de diminuer la probabilité d'une transmission d'agents pathogènes, infectieux ou non (<https://ansm.sante.fr>). Le questionnaire auquel est soumis le futur donneur est prévu à l'origine pour le dépistage réalisé dans le cadre du don de sang. Afin d'adapter ce questionnaire au don de selles et au contexte du TMF, des informations additionnelles doivent être recueillies. La figure 58 présente les critères de non-inclusion au don à l'issue du questionnaire. Les critères absolus contre-indiquent sa réalisation, alors que les critères relatifs sont à l'appréciation de l'équipe médicale.

INFORMATIONS	CRITERES DE NON INCLUSION ABSOLUE	CRITERES DE NON INCLUSION « RELATIVE » (à justifier)
Co-morbidités	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Donneur avec une pathologie chronique connue ▪ Antécédent de fièvre typhoïde ▪ Troubles digestifs (diarrhée aiguë ou chronique) dans les 3 mois précédant le don 	Donneurs avec antécédents familiaux : <ul style="list-style-type: none"> - MICI (lien de parenté) - maladies auto-immunes (lien de parenté) - cancer colique (lien de parenté et âge d'apparition)
Traitement médicamenteux	Donneur suivant un traitement curatif au long cours	Donneur traité par anti-infectieux au cours des 3 mois précédant le don ³
Voyages	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Séjour en zone intertropicale au cours des 3 mois précédant le don ▪ Résidence de plusieurs années en zone intertropicale ▪ Hospitalisations à l'étranger de plus de 24h dans les 12 derniers mois (y compris membres de l'entourage du donneur)¹ 	/
Âge	Donneur mineur ²	Donneur âgé (>65 ans) ⁴
Statut pondéral	/	Donneur avec IMC>30 ⁵

Figure 58 : Informations à recueillir auprès du candidat au don et critères de non-inclusion (<https://ansm.sante.fr>)

1 : Dans le but d'éviter le portage de bactéries multirésistantes acquises durant le séjour.

2 : Les articles L. 1241-2 et L. 1121-7 du CSP interdisent l'inclusion de mineurs (sauf nécessité) dans le cadre du don et de l'utilisation des produits du corps humain.

3 : Le microbiote a pu être altéré au cours du traitement.

4 : L'âge est un facteur susceptible d'altérer la composition qualitative et quantitative du microbiote.

5 : L'obésité est la cause d'une modification du microbiote et des études précliniques semblent montrer que l'obésité et le diabète sont transmissibles par le microbiote.

Le donneur inclus dans le protocole de don subira une batterie de tests de dépistage visant à détecter la présence d'agents infectieux dans le sang et les selles. Ces tests interviennent dans un délai de 21 jours entre le questionnaire de présélection et le jour du don.

En tenant compte de la fenêtre de contamination possible pour certaines pathologies, en particulier entre le jour du premier questionnaire (présélection) et le jour du don, il est obligatoire de soumettre le donneur à un second questionnaire immédiatement avant le don. Ce questionnaire qui s'accompagne d'un entretien médical comporte moins d'éléments que le premier. A l'issue du 2^{ème} entretien, le candidat au don sera ou non définitivement sélectionné.

Deux points sont à considérer toutefois dans le cas d'un don de selles dirigé (<https://ansm.sante.fr>) :

- L'honnêteté du donneur qui répond au questionnaire : la véracité de ses réponses risque d'être compromise par la crainte de ne pas être sélectionné.
- Les conséquences possibles de l'annonce des motifs d'exclusion d'un proche.

CRITERES DE NON INCLUSION	INCLUSION SUR LA BASE D'UNE APPRECIATION INDIVIDUELLE
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Episode de diarrhée (>3 selles molles à liquide /j) chez le donneur ou les membres de son entourage ▪ Situations à risque de contamination : <ul style="list-style-type: none"> - Voyage à l'étranger - Contact avec du sang humain (piercing, tatouage, piqûre, plaie, projection, soins dentaires...) - Comportement sexuel à risque - Présence de lésions anales (afin de limiter le risque de transmission du virus du papillome humain et des virus de l'herpès) 	<p>Recherche des évènements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Consultation médicale (motif) ▪ Maladie contractée (laquelle, date et durée) ▪ Prise de médicaments (lesquels, date de la dernière prise)

Figure 59 : 2ème questionnaire : informations à recueillir immédiatement avant le don (<https://ansm.sante.fr>)

Une fois de plus, la faisabilité du don et l'estimation des risques reste à l'appréciation de l'équipe pluridisciplinaire (médecin, pharmacien, biologiste) responsable du TMF (*Batista, 2015*). Le médecin prescripteur est quant à lui garant du consentement éclairé écrit du receveur comme du donneur. Il est responsable de l'information fournie à chacune des parties, de la validation clinique du TMF et de la centralisation des données.

IV.5.1.4 Recherche d'agents infectieux

Dans le cadre du don de selles, le donneur présélectionné doit faire l'objet d'un bilan sanguin biologique qui doit comporter les éléments suivants (*Batista, 2015*) :

- glycémie à jeun ;
- créatinine ;
- enzymes hépatiques (ASAT, ALAT, γ GT, PAL, bilirubine) ;
- Protéine C réactive ;
- Numération de la Formule Sanguine ;
- tests de coagulation sanguine (INR, TCA).

Entre le jour de la présélection et celui du don, une batterie de tests de dépistage de maladies transmissibles sont réalisés. Ces tests ont pour vocation de détecter ou non la présence d'agents pathogènes dans le sang ou dans les selles du donneur potentiel. La liste des pathogènes à rechercher est évolutive et est régulièrement réévaluée en fonction des données disponibles (figure 60).

Le délai entre le dépistage et le don doit être le plus court possible afin de minimiser le risque de contamination pendant cette période critique. Certains auteurs décrivent une durée maximale de 21 jours, alors que l'ANSM préconise de ne pas dépasser 14 jours (<https://ansm.sante.fr/>). Il est à noter que lorsque des selles fraîches sont utilisées pour le don, le matériel faisant l'objet du dépistage n'est pas celui effectivement administré au receveur. Toutefois, il semble possible de conserver les selles par congélation à une température de -80°C pour une utilisation ultérieure, et ce sans altérer l'efficacité attendue du traitement. Ce procédé qui nécessite l'adjonction d'un cryoprotecteur au NaCl à 0,9% (glycérine) permettrait une durée de conservation allant jusqu'à 8 semaines (*Hamilton, 2012*). La congélation du matériel fécal présenterait un avantage logistique considérable en permettant la réalisation d'un stock de matériel préparable à l'avance, dès le moment du dépistage.

Les selles recueillies pour le dépistage peuvent faire l'objet d'une étude macroscopique (aspect, absence de sang ou de glaires) voire microscopique (absence de traînées de *mucus*, de globules blancs ou d'hématies) (*Batista, 2015*). Un test de dépistage du cancer colorectal est également préconisé chez les donneurs de plus de 50 ans.

	SANG	SELLES
Bactéries	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Treponema pallidum</i> 	Coproculture standard et orientée: <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Clostridium difficile</i> ▪ <i>Listeria monocytogenes</i> ▪ <i>Vibrio cholerae</i> / <i>Vibrio parahemolyticus</i> ▪ <i>Salmonella</i> ▪ <i>Shigella</i> ▪ Bactéries multirésistantes aux antibiotiques ▪ <i>Campylobacter sp</i>
Virus ¹	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Virus de l'immunodéficience humaine (HIV)² ▪ Virus T-lymphotropique humain (HTLV) ▪ Virus des hépatites B et C (HVB² HVC²) ▪ Cytomégalovirus (CMV) / Virus Epstein-Barr (EBV)³ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Adénovirus ▪ Astrovirus ▪ Calcivirus (norovirus, sapovirus) ▪ Picornavirus (entérovirus, Virus Aichi) ▪ Rotavirus ▪ Virus des hépatites A et E
Parasites	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Strongyloides stercoralis</i> ▪ <i>Toxoplasma gondii</i>³ ▪ <i>Trichinella sp.</i> ▪ Amibiase 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Strongyloides stercoralis</i> ▪ <i>Cryptosporidium sp.</i> ▪ <i>Cyclospora sp.</i> ▪ <i>Entamoeba histolytica</i> ▪ <i>Giardia intestinalis</i> ▪ <i>Isospora sp.</i> ▪ <i>Microsporidies</i> ▪ <i>Blastocystis hominis</i> ▪ <i>Dientamoeba fragilis</i>

Figure 60 : Agents infectieux à rechercher systématiquement dans le sang ou dans les selles du candidat au don (<https://ansm.sante.fr/>).

IV.5.2 Déroutement du TMF

Le MI représente une communauté de cellules vivantes très sensibles à l'oxygène de l'air car en majorité anaérobies, et susceptibles d'être affectées par la manipulation. Ainsi, les étapes de collecte, de préparation et de conditionnement des échantillons ont probablement un impact sur l'efficacité de la TF et doivent être prises en compte lors de sa fabrication (Fumery, 2013). Toutefois, Les étapes de préparation du matériel fécal à transplanter ne font pas l'objet d'un consensus de la communauté scientifique et les méthodes décrites dans la littérature sont diverses.

IV.5.2.1 Locaux de fabrication

Le statut de médicament adopté en France par l'ANSM depuis 2014 impose que la réalisation d'un échantillon destiné à la BF soit menée sous la responsabilité légale du Pharmacien en chef d'une PUI. Les établissements de santé qui ne disposent pas de matériels et de locaux adaptés à la préparation du transplant peuvent signer un contrat de sous-traitance avec une autre PUI. Un laboratoire de biologie médicale, s'il en a les moyens, peut aussi faire l'objet d'une sous-traitance par une PUI.

La préparation est réalisée à température ambiante, dans un environnement permettant d'éviter la contamination croisée de la préparation (hotte aspirante ou poste de sécurité microbiologique). Les préparateurs doivent aussi garantir leur sécurité par le port de matériels adéquats (casque, lunettes, masque et gants à usage unique). Les bonnes pratiques de préparation imposent la documentation des procédures de nettoyage des locaux et des matériels à usage multiple (*Batista, 2015*).

IV.5.2.2 Préparation du transplant

Pour obtenir une solution administrable au receveur, les selles recueillies (fraîches ou non, moulées et d'aspect normal) sont diluées dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9%, ce qui permet de conserver l'isotonie du prélèvement. La littérature à ce sujet rapporte aussi l'utilisation de lait de vache à 4% (*Bakken, 2011*) ou d'eau distillée en tant que diluants. Pour 100 à 150 grammes de selles, il faut compter environ 500 mL de diluant (<http://cpias-auvergnhonealpes.fr>).

L'homogénéisation des selles se fait à l'aide d'un appareil mélangeur (Sterilmixer® ou Ultra-Turrax®) qui évitera autant que possible l'incorporation de bulles d'air à la préparation pour ne pas l'oxygéner. Le diluant peut aussi être saturé en gaz (hélium, azote) pour limiter son taux d'oxygène dissous. La consistance finale de sa suspension sera de type « bouillie liquide » avec degré de dilution compris entre 1/5 et 1/10 v/v.

La préparation diluée est ensuite débarrassée de ses particules solides et des débris alimentaires par une étape de filtration sur compresses de gaze stériles ou des tamis en acier. Cette étape a pour but de rendre la préparation facilement administrable par coloscope ou sonde, sans risque d'obstruction des appareils (*Batista, 2015*).



Figure 61 : Méthode de préparation du transplant : à gauche, dilution des selles fraîches avec du sérum physiologique ; à droite : filtration des selles diluées sur tamis (Detail, 2018).

IV.5.2.3 Administration du transplant

IV.5.2.3.1 Conditionnement de l'échantillon

Une fois la suspension fécale prête, elle doit être administrée rapidement, au maximum 24 heures après l'émission de selles (de préférence dans un intervalle de temps allant jusqu'à 6 heures après

émission). Le conditionnement se fait dans des seringues de volume variable en fonction de la voie d'administration. Les seringues sont raccordées à une sonde naso-gastrique/naso-jéjunale ou à un coloscope. Si la coloscopie n'est pas réalisable, la préparation peut aussi être reliée à une poche à lavement dont la tubulure est lubrifiée à la vaseline et perforée à son extrémité (Batista, 2015).

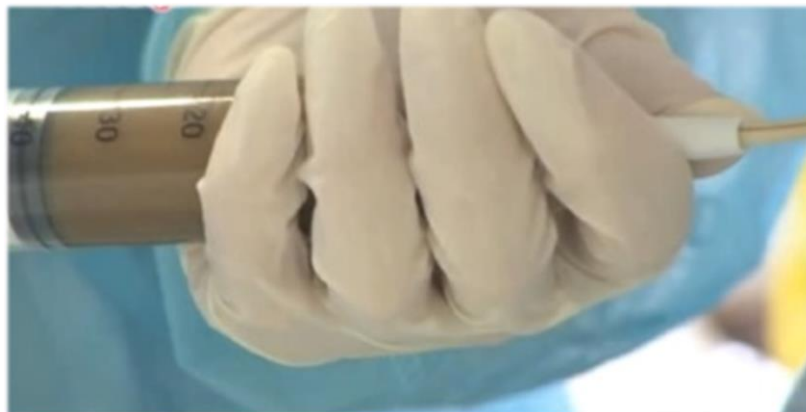


Figure 62 : Conditionnement du mélange dans une seringue avant administration (Detail, 2018)

IV.5.2.3.2 Préparation du receveur

Le TMF est réalisé uniquement en milieu hospitalier, lors d'un séjour de 48 heures. La veille de l'intervention, il est conseillé de faire boire au patient un grand volume de préparation colique, quelle que soit la voie d'administration, afin d'éliminer le maximum de fèces présentes dans le TD. A noter que cette étape n'est pas toujours réalisable au regard de la gravité de la maladie du patient (Bakken, 2011).

Pour une administration par sonde naso-gastrique, un IPP peut être donné la veille au soir et le matin de l'intervention dans le but de limiter les désagréments associés au geste.

Pour le donneur, on préconise l'utilisation d'un laxatif osmotique doux la nuit précédant le recueil de selles. Les aliments pouvant être à l'origine d'allergies doivent être évités jusqu'à 5 jours avant la procédure (Bakken, 2011). Certains établissements préconisent l'administration *per os* d'un antibiotique à large spectre (vancomycine) les 4 jours qui précèdent le TMF, mais cette utilisation est discutée.

IV.5.2.3.3 L'administration

L'administration du transplant peut se faire de deux manières : par voie basse (rectale) par le biais d'une coloscopie ou d'un lavement, ou par voie haute, *via* une Sonde Naso-Gastrique (SNG) ou une Sonde Naso-Duodénale (SND).

Bien qu'un volume d'administration « standard » optimal ne soit pas établi, celui-ci est adapté en fonction de la voie d'administration. Pour la voie haute, les volumes sont plus petits, généralement compris entre 25 et 60 mL mais peuvent aller jusqu'à 100 mL. Pour la voie basse, de plus grands volumes sont administrés, allant de 250 à 500 mL. Il semblerait ainsi que dans le cas du TMF par voie basse, le taux de réussite soit lié à la quantité de matière première utilisée pour la dilution et au volume total administré (Owens, 2013) ; (Orenstein, 2013).

Il est important dans tous les cas d'administrer la suspension avec lenteur, afin d'augmenter le taux d'implantation tout en limitant les risques de reflux. Dans le cas d'une administration par voie rectale, il est conseillé aux patients de retenir le matériel le plus longtemps possible (la durée recommandée est de plus de 4 heures, ou au moins 30 à 45 minutes) afin que les MO aient le temps de s'implanter. Si cela est jugé nécessaire, un ralentisseur du transit intestinal (lopéramide, VO) peut être donné juste après le transfert.

IV.5.2.3.4 Surveillance des effets indésirables

Les effets indésirables du TMF rapportés dans la littérature sont, dans la plupart des cas, directement liés à la voie d'administration elle-même. L'administration par voie basse comporte un risque hémorragique au niveau du côlon ou de perforation, liés à une mauvaise utilisation du matériel, d'où sa réalisation par un médecin qualifié (gastro-entérologue). La voie haute est moins invasive et ne nécessite pas d'anesthésie générale, mais comporte un risque d'inconfort gastrique et de vomissements surtout si l'administration est trop rapide ou le volume trop grand. En revanche, très peu d'effets indésirables propres au TMF ont été signalés. Chaque membre de l'équipe pluridisciplinaire est chargé de notifier sans délai tout effet indésirable soupçonné d'être lié au TMF à un centre régional de pharmacovigilance.

Les patients, durant leur séjour hospitalier (48 heures) et jusqu'à 15 jours après leur sortie doivent être suivis de près afin de déceler tout événement post-don (événements indésirables, complications). Une surveillance continue d'être menée pour une durée d'au moins 2 ans (<https://ansm.sante.fr>) avec des examens réguliers afin d'apprécier l'évolution de la maladie et la survenue éventuelle de récurrences. Enfin, des échantillons de selles réalisés à auprès de chaque donneur à partir de selles brutes le jour du 1^{er} bilan de dépistage et le jour du don sont consignés dans une fécalothèque (figure 57) où ils sont conservés à une température de – 80°C pendant 2 ans au minimum, ce qui est corrélé au temps de suivi du receveur (<https://ansm.sante.fr>).

IV.6 Résultats expérimentaux

IV.6.1 Résultats sur la colite à *Clostridium difficile*

Dans le cadre de récurrences d'infections à *C.difficile*, le TMF est à l'heure actuelle la méthode de traitement qui dispose du niveau de preuve le plus élevé. Elle dispose d'un certain nombre

d'avantages logistiques : la matière première, en plus d'être directement disponible auprès du donneur, est manipulée de manière très simple et peu coûteuse. Les méthodes d'administration sont elles aussi très simples à mettre en œuvre et peu contraignantes pour le patient au regard du bénéfice escompté.

Le TMF tend aujourd'hui à s'imposer comme une alternative pratique à l'antibiothérapie. Des cas de plus en plus nombreux de la littérature scientifique considèrent cette pratique efficace dans le traitement de la cCD récurrente, avec dans plusieurs cas guérison de la maladie après une seule administration. Une étude de 2012 s'est penchée sur le taux de guérison de la maladie chez une cohorte de patients (n = 26, 2 hommes et 24 femmes) ayant subi une TMF unique dans le cadre d'une cCD récidivante existant depuis plusieurs mois (en moyenne 12,6 mois). Le transplant était administré par voie rectale. Il est apparu que sur 26 patients, pour une durée de suivi allant de 2 à 30 mois (en moyenne 10,7 mois), 24 n'ont pas connu de symptômes intestinaux ou de récurrence, ce qui porte le taux d'efficacité à 92%. L'une des patientes ayant connu un épisode diarrhéique 2 mois après le TMF a été traitée 1 semaine par vancomycine et n'a plus connu de récurrence (*Kelly, 2012*).

Son efficacité comparativement aux ATB a été démontrée en particulier dans le cas de l'utilisation de vancomycine, qui est l'antibiotique traditionnellement utilisé dans le cas de cCCD récidivante et actuellement en première intention. Une étude randomisée a cherché à comparer l'efficacité de l'emploi de vancomycine avec l'utilisation de TMF par voie haute (SNG). Menée en 2013, elle incluait 42 patients (16 recevant un TMF et 26 traités par vancomycine per os à raison de 500mg 4 fois par jour pendant 14 jours). Le critère d'efficacité lors de cette analyse était la disparition de la diarrhée sans rechute dans les 10 semaines suivant le traitement. Il a ainsi été montré que le TMF était efficace dans 81% des cas (13 des 16 patients) alors que l'ATB, avec 4 patients sur 13, ne l'était que dans 31% des cas (*Van Nood, 2013*).

Cependant, en cas de récurrence, le nombre de traitements possibles par TMF n'est pas limité du fait de l'absence de toxicité connue. En cas de réapparition des symptômes, une nouvelle administration peut être proposée 1 mois après la première (*Batista, 2015*). Ainsi, au cours de l'essai mené par Van Nood, 19% des patients (soit 3 sur 13) ont fait l'objet d'un deuxième TMF, qui s'est révélé efficace pour 2 patients sur 3. Les autres individus inclus dans le groupe TMF étaient quant à eux définitivement guéris (*Van Nood, 2013*).

En cas de colite sévère ou compliquée, le TMF semble aussi être une solution thérapeutique intéressante. Une analyse très récente (2016) conduite dans plusieurs centres cliniques a évalué le taux d'efficacité du TMF en se basant sur le suivi au long terme d'un groupe de patients traités. Un total de 17 individus (hommes et femmes) a été inclus dans cette analyse, d'âge moyen de 66,4 ans. Dans ce groupe, 13 patients avaient une infection sévère et compliquée à *C.difficile*, et les 4 restants avaient soit une infection sévère, soit une infection compliquée. Après un premier TMF, un suivi a été mené pendant près d'un an (11,4 mois en moyenne) pour les symptômes diarrhée et douleurs abdominales. Sur les 16 patients ayant présenté une diarrhée, 12 d'entre eux ont été guéris et 4 d'entre eux soulagés. Sur les 11 patients ayant présenté des douleurs abdominales, 8 d'entre eux ont été guéris et 3 d'entre eux soulagés. Deux patients (11,8%) ont expérimenté une récurrence dans les

90 jours et ont nécessité un 2^{ème} TMF, qui a guéri définitivement l'un d'eux. Le taux global de guérison était donc de 88,2% (15 sur 17) après le 1^{er} TMF et de 94,1% (16 sur 17) après la 2^{ème} ligne thérapeutique (Arionadis, 2016).

Encore utilisé en dernière ligne de traitement pour les récurrences d'infection ou de colites sévères à *C.difficile*, le TMF fait l'objet d'une littérature de plus en plus abondante sur le bénéfice thérapeutique qu'il procure. Son efficacité et sa grande tolérance pourraient à l'avenir plaider en faveur de son utilisation plus précoce dans les formes sévères. Parallèlement à son efficacité clinique, le TMF exerce une action bénéfique sur le MI et normalise la composition bactérienne de patients sujets aux récurrences de colite (Fumery, 2013). L'instillation par voie rectale, chez 6 patients traités pour une colite récidivante à *C.difficile*, d'une préparation destinée au TMF provenant d'un individu sain a provoqué une disparition de *C.difficile* et de ses toxines dans leurs fèces ainsi qu'une colonisation du TD par des bactéries du genre *Bacteroides* qui étaient absentes avant le traitement, ce qui suggère aussi que le genre *Bacteroides* joue un rôle protecteur vis-à-vis de la colonisation par *C.difficile* (Grehan, 2010).

Le TMF apparaît donc comme une alternative thérapeutique innovante et séduisante dans cette indication car elle permet l'élimination de l'agent pathogène par le rétablissement des mécanismes de protection inhérents à l'individu.

IV.6.2 Résultats sur d'autres pathologies

Afin que son application puisse s'étendre à d'autres pathologies, le TMF fait l'objet de recherche biomédicale. Des protocoles sont actuellement menés pour d'autres pathologies intestinales, comme les MICI ou les Troubles Fonctionnels Intestinaux (TFI), mais également pour des pathologies extra-intestinales liées directement ou indirectement à la dysbiose.

IV.6.2.1 Pathologies intestinales

IV.6.2.1.1 Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales

Les premières preuves d'efficacité du TMF contre les MICI ont été observées lors du traitement de colites pseudomembraneuses compliquant la RCH chez des patients à une époque où l'étiologie bactérienne de la CPM était inconnue. L'instillation de fèces de donneurs sains entraînait de façon prolongée chez ces patients une rémission clinique graduelle de la RCH et une meilleure réponse à leur traitement (Borody et Campbell, 2012).

Une revue de la littérature systématique partant du principe que les MICI sont liées à des désordres du MI et suivant les résultats d'une base de données rigoureuse a regroupé 41 patients atteints de MICI (27 de RCH, 12 de MC et 2 non classifiés). Ces patients ont tous fait l'objet d'un TMF, administrée soit par colonoscopie ou lavement, soit par sonde naso-gastrique. Le suivi de ces patients durait entre 2 semaines et 13 ans. La majeure partie de ces patients observaient une réduction des symptômes

liés à leur maladie (76%), voire arrêtaient leur traitement de fond (77%). A terme, 63% d'entre eux présentaient une rémission de leur maladie (*Anderson, 2012*).

Le TMF fait actuellement l'objet d'essais cliniques dans le cadre de MICI chez l'adulte et l'enfant.

IV.6.2.1.2 Troubles Fonctionnels intestinaux

Le TMF pourrait également être une option thérapeutique vis-à-vis d'autres troubles intestinaux liés à une altération du MI. Depuis son avènement dans le traitement de la CPM, le TMF a aussi été utilisé dans le but de soigner d'autres pathologies du TD telles que le syndrome du Côlon Irritable (CI) et la constipation chronique fonctionnelle.

Le CI est le désordre fonctionnel le plus courant dans les pays développés. Il toucherait 10 à 15 % de la population (*Lovell, 2012*) et altère grandement la qualité de vie. Les symptômes typiquement associés à un CI sont les douleurs abdominales chroniques, les flatulences, les mouvements anormaux du transit (avec des épisodes réguliers de diarrhée ou de constipation qui parfois se font suite) et une sensibilité intestinale à certains aliments (*Khanna, 2014*). La pathogenèse du CI semble complexe et n'est pas entièrement résolue. Il est souvent décrit une absence de cause organique ou structurelle à la pathologie, et des preuves de plus en plus nombreuses incriminent le MI et les altérations de celui-ci en tant que facteur déclenchant. D'autres facteurs tels que l'exacerbation de la sensibilité viscérale, les états post-infectieux, la sensibilité aux aliments ou des troubles psychologiques peuvent en être la cause ou y contribuer (*Halkjær, 2017*).

En 2013, une étude réalisée avec suivi a évalué l'effet du TMF sur la symptomatologie du CI. Des patients atteints de CI sur la base des critères de Rome III et non répondants aux traitements symptomatiques traditionnels (probiotiques, antibiotiques, modification du régime alimentaire) ont été inclus dans l'étude. Un total de 13 patients groupés selon le symptôme prédominant : diarrhée ($n_1 = 9$), constipation ($n_2 = 3$) ou CI mixte, ($n_3 = 1$) a subi un TMF et a été suivi pour une durée moyenne de 11 mois (minimum : 6 mois ; maximum 18 mois). Les modalités d'administration du TMF n'étaient pas précisées. A l'issue du suivi, un questionnaire permettant de mesurer les symptômes ressentis a été proposé aux patients. Il en est ressorti que le TMF a résolu, ou pour le moins soulagé des symptômes chez 70% des patients avec un taux variable en fonction des symptômes. Le taux d'amélioration le plus significatif était pour les douleurs abdominales (72%), suivi du transit anormal (69%), de la dyspepsie (67%), des ballonnements (50%), et des flatulences (42%). Au total, 42% des patients ont rapporté une amélioration globale de leur qualité de vie (*Pinn, 2013*).

Chez des patients atteints de constipation chronique sévère, Andrews et Al. ont démontré le bénéfice thérapeutique de la TMF en observant, chez 40 des 45 patients inclus dans l'étude, une amélioration des symptômes associés, en particulier une accélération du transit et le soulagement des désagréments intestinaux tels que les douleurs abdominales et les ballonnements. Par la suite, plus de la moitié des patients (60%) ont témoigné de la régularisation de leur transit et n'ont plus rapporté d'utilisation de laxatifs sur une durée de suivi longue allant de 9 à 19 mois (*Andrews, 1992*).

Toujours dans le cadre du traitement de la constipation, Une étude clinique randomisée a montré la supériorité du TMF par rapport à la conduite thérapeutique habituelle (modification de l'alimentation, activité physique, laxatifs oraux). Le suivi de deux groupes : un groupe contrôle ($n_1=30$) et un groupe ayant reçu un TMF pendant 6 jours par sonde nasogastrique ($n_2=30$) sur une durée de 12 semaines a montré de façon plus significative une amélioration des symptômes liés à la constipation, une meilleure consistance des selles et une accélération générale du transit chez les sujets TMF. Le principal critère d'évaluation était le nombre de selles émises par semaine. Celui-ci passait de $1,8 \pm 0,7$ en moyenne à $2,2 \pm 0,8$ chez les patients contrôle, et de $1,5 \pm 0,5$ à $3,7 \pm 1,7$ chez les patients TMF. En outre, chez 36,7% des patients, la constipation avait disparu après le TMF contre 13,3% chez les sujets contrôle (Tian, 2017).

Des questions restent encore à élucider. En particulier, une connaissance plus fine des fonctions associées au MI est nécessaire afin d'évaluer fonctionnellement le MF du donneur et des patients. Le ciblage d'espèces particulières en mesure de restaurer un microbiote sain et stable chez le sujet transplanté. Néanmoins, ces expérimentations montrent une utilité certaine au TMF et invitent à une meilleure compréhension de l'impact du MI sur l'étiologie et physiopathologie des TFI.

IV.6.2.2 Pathologies extra-intestinales avec terrain dysbiotique

IV.6.2.2.1 Syndrome métabolique

Des altérations du MI ont été associées à l'obésité et à des troubles métaboliques tels que l'insulinorésistance. Dans une étude réalisée en 2012, qui incluait des patients obèses atteints de syndrome métabolique, l'effet du TMF a été étudié. Ces sujets étaient séparés en deux groupes qui recevaient respectivement des instillations de fèces allogéniques (provenant de donneurs sains) ou des instillations de fèces autologues (auto-TMF). Six semaines plus tard, la sensibilité à l'insuline des receveurs de TMF allogénique augmentait (le taux moyen de disparition du glucose sanguin chez ces patients passait de 26,2 à 45,3 $\mu\text{mol/kg/min}$). De façon intéressante, la sensibilité à l'insuline s'améliorait à mesure qu'augmentait la diversité microbienne intestinale. Ainsi, la période post-transplantation voyait se développer des bactéries productrices d'AGCC telles que *Roseburia intestinalis* et *Eubacterium* sp. de façon bien plus importante que chez les sujets obèses autotransplantés. De la même manière, le taux de triglycérides sanguins diminuait chez ces sujets à la suite d'un TMF provenant de fèces de sujets minces, alors que ce taux demeurait inchangé après une auto-transplantation (Vrieze, 2012).

Le traitement par TMF, qui fait l'objet d'études actuellement, pourrait donner naissance à des outils thérapeutiques intéressants pour traiter l'obésité maligne et les désordres métaboliques comme le prédiabète observé chez les sujets obèses.

IV.6.2.2.2 Maladies neurologiques

Certaines maladies affectant le Système Nerveux Central (SNC) semblent être associées à des anomalies de composition du MI. La Maladie de Parkinson (MP) en est un exemple. La relation entre le MI et l'atteinte neurologique reposerait sur une augmentation de la perméabilité intestinale, avec translocation bactérienne excessive à l'origine d'une dérégulation de la réponse immunitaire de l'hôte et baisse de production d'AGCC. Des phénomènes inflammatoires affecteraient les cellules du SNC comme les cellules gliales, tandis que de bas niveaux d'AGCC pourraient être à l'origine d'un déficit en neurotransmetteurs comme le GABA. Des fibres d' α -synucléine, protéine délétère à l'origine de la détérioration neuronale et des symptômes moteurs de la MP, ont été retrouvées non seulement au niveau du SNC, mais aussi dans le SN intestinal (*Dutta, 2019*).

L'inconfort intestinal, en particulier la constipation, est, avec les symptômes neurologiques, l'un des principaux problèmes que vit une personne atteinte de MP au quotidien. On estime que de 60 à 80% des patients atteints souffrent de constipation chronique (*Ueki et Otsuka, 2004*).

Des auteurs ont aussi suggéré que la restauration d'un MI sain permettrait de freiner l'évolution clinique de la maladie. Des patients parkinsoniens traités pour constipation ont ainsi pu observer une amélioration transitoire de leurs symptômes neurologiques après résolution de leurs troubles du transit (*Fumery, 2013*). Très récemment, un TMF a été réalisé chez un sujet parkinsonien de 71 ans sujet à des tremblements de repos des membres supérieurs et inférieurs depuis 7 ans, et à une constipation chronique depuis plus de 3 ans. Les résultats ont montré une nette augmentation de la fréquence des selles durant toute la durée du suivi. Quant aux tremblements, ils ont disparu à une semaine de la TMF mais ont commencé à réapparaître à l'extrémité des membres inférieurs à 2 mois (*Huand, 2019*).

Des cas de TMF mise en œuvre pour constipation sévère chez des patients atteints de sclérose en plaque ont pu également donner lieu à des améliorations de la symptomatologie liée à la maladie sur le long terme (*Fumery, 2013*).

Le TMF suscite l'intérêt des cliniciens pour d'autres pathologies du SNC. L'autisme est une affection dont l'étiologie et la pathogenèse ont fait l'objet de nombreuses hypothèses. Parmi celles-ci, existe celle d'une administration d'ATB à un âge précoce, qui déstabiliserait les populations microbiennes fragiles de l'enfant, en favorisant certaines souches toxigènes, précipitant ainsi le déclenchement de la maladie (*Finegold, 2002*).

Durant l'enfance, ces individus semblent eux aussi montrer des anomalies du MI. La même équipe qui a étudié le MF d'enfants autistes et l'a comparé avec celui d'un groupe d'enfants contrôle a montré une présence plus forte de bactéries aérotolérantes chez les individus autistes, avec une diversité plus grande d'espèces du genre *Clostridium* (9 espèces de plus que le groupe témoin) et une présence de bactéries spécifiques du MF autiste telles que *Desulfovibrio* sp.

Un traitement antibiotique à la vancomycine réalisé sur un groupe de 11 enfants au cours d'un essai clinique thérapeutique a montré une amélioration temporaire des manifestations extra-digestives de l'autisme chez ces derniers, avec une amélioration comportementale chez 8 des 10 enfants suivis par

un psychologue. L'amélioration n'a en revanche pas persisté après l'arrêt du traitement et a été perdue au cours du suivi (*Sandler, 2000*).

En conclusion, même si ces traitements et essais n'avaient pas pour vocation de traiter la maladie neurologique elle-même, il a été observé, dans tous les cas, une amélioration transitoire de la symptomatologie. Cela nous amène à nous questionner sur la possibilité d'envisager une thérapie normalisatrice du MI chez ces patients qui ont tous en commun de présenter une communauté bactérienne perturbée. Le TMF semble être un bon candidat car il présente l'avantage de modifier le profil du MI en remplaçant les espèces déjà implantées et potentiellement nocives pour la santé de l'hôte. Il permet aussi une normalisation sur le « long terme » que n'ont pas les antibiotiques, et ne présente pas les risques encourus par l'usage de ces derniers.

IV.7 Limitations de la pratique

A l'heure actuelle, la cCD récidivante est la seule indication validée du TMF. Pour les autres pathologies (intestinales ou non) les résultats sont encourageants, mais l'utilisation du TMF est récente et le recul manque pour attester d'une efficacité avérée sur le long terme.

De plus, de nombreuses inconnues demeurent sur les conditions de l'efficacité du TMF même lorsque l'efficacité de celui-ci est validée. Existe-t-il un type de microbiote plus à même de guérir l'individu transplanté ? Dans quelle mesure cela est-il possible ?

IV.7.1 Absence de standardisation des méthodes.

Il est aujourd'hui impossible de proposer une méthode standardisée de préparation et d'administration du matériel à transplanter. Il n'existe aucun consensus entre les pays et au sein des établissements de santé d'un même pays. Pourtant, la complexité du MI prélevé, sa sensibilité et le caractère dynamique de sa composition laisse entendre que chaque étape est importante à prendre en compte.

IV.7.1.1 Un profil idéal de donneur ?

Notre connaissance du MI demeure partielle et le rôle de toutes les espèces dans le maintien de l'homéostasie intestinale n'est pas connu avec précision. Existerait-il un type de microbiote plus à même d'entraîner la guérison dans certains cas ? Un profil de maladie doit-il correspondre à un profil « idéal » de bactéries à recevoir ?

De récentes recherches ont été menées pour tenter d'élucider le mécanisme d'action du MI transplanté. Des patients atteints de cCD récurrente ont bénéficié d'un TMF provenant de plusieurs donneurs. Le suivi de ces patients pendant 10 semaines a montré que certains donneurs avaient un impact plus grand sur l'environnement intestinal du patient. L'analyse de MI des patients à 70 jours

à montré une plus grande stabilité dans le temps (similarité par rapport à l'échantillon administré) lorsque le TMF provenait d'un certain donneur. Des espèces associées à la rémission (particulièrement le genre *Bacteroidetes* avec *B. intestinalis*, *B. uniformis* et *B. plebeius*) se trouvaient en abondance relative 4 fois plus élevée chez ce donneur, et à l'inverse, des groupes généralement considérés comme pathogènes (*B. fragilis*, *B. vulgatus*) étaient moins représentés. Ces découvertes suggèrent que la composition du MI donneur joue un rôle dans la réussite du traitement mais aussi sur la nature de l'écosystème bactérien post-transplantation. Il pourrait ainsi exister des MI plus bénéfiques que d'autres pour la transplantation (Fuentes, 2014).

Nous ne sommes pas en mesure non plus de déterminer le moment plus adéquat pour effectuer un TMF. Le matériel fécal est-il plus bénéfique lorsqu'il est transplanté en période d'exacerbation des symptômes ? En période de rémission ? Existe-t-il des facteurs qui influencent l'interaction entre le MI propre et le MI allogénique ? Peuvent-ils être déterminants pour la guérison et si oui, sont-ils adaptables ?

IV.7.1.2 L'efficacité du TMF est influencée par la méthode de préparation

Dans le cadre de la cCD, des observations semblent montrer que l'efficacité de la méthode et le taux de guérison associé est dépendant des conditions de mise en œuvre du TMF. La méthode de préparation jouerait directement sur le succès du TMF. La solution saline (NaCl à 0,9%) est le diluant préférentiellement utilisé car il préserve l'isotonie du transplant, mais d'autres diluants tels que le lait à 4% et l'eau pure sont utilisables. Or le NaCl et le lait donneraient des résultats inférieurs à l'eau en termes d'efficacité (respectivement de 86,2 et 88,6% contre 98,5% pour l'eau). En revanche, les taux de récurrence après un TMF unique seraient supérieurs en cas d'utilisation d'eau : 7,8% contre 3,0 % pour le NaCl et 3,2% pour le lait (Fumery, 2013).

Concernant le volume de solution préparée, on rapporte un taux d'efficacité de 97,3 % de la TF et un taux de rechute de 4,7% pour des volumes transplantés supérieurs à 500 mL. Les malades qui reçoivent un volume inférieur à 200mL, le taux de réussite est 80 % et la probabilité de rechute de 6,2%. L'utilisation d'un poids de selles dépassant 50g a quant à elle montré un taux de succès de 86,2% avec un taux de rechute de 1,0% contre respectivement 82% et 3,8% lorsque le poids de départ était inférieur à 50g (Fumery, 2013) ; (Batista, 2015).

Parmi les méthodes utilisables pour administrer la suspension fécale, c'est la coloscopie qui montre le meilleur taux de réussite. En effet, le taux moyen d'efficacité de la coloscopie dans le traitement de l'infection à *C.difficile* est évalué à 91%. Lorsque le transplant est administré par voie haute (fibroscopie gastro-duodénale, SNG ou SND), celui-ci est compris entre 76 et 79% (Fumery, 2013).

De la même manière, nous avons évoqué plus tôt que les chances de succès du TMF étaient un peu plus grandes lorsque la matière première était issue d'un donneur apparenté (93%) comparativement à un donneur non apparenté (84 %) (Gough, 2011), probablement en raison du fait que les sujets apparentés partagent un environnement microbiologique similaire et ont dans leur MI davantage d'espèces communes. Plus précisément, le TMF provenant d'un époux ou d'un concubin

a montré un taux de réussite moyen de 96% tandis qu'il était de 87% pour un membre de la famille ne vivant pas sous le même toit.

La littérature scientifique montre souvent qu'une administration unique suffit à restaurer un équilibre durable du MI et souvent à guérir une pathologie associée. Mais existe-t-il un bénéfice supérieur à effectuer plusieurs TMF chez un même individu ? Cela a-t-il une valeur prédictive sur la réussite thérapeutique au long terme ? Si oui, quelles seraient les conditions idéales d'administration (fréquence, quantités à utiliser, nombre de donneurs...?)

IV.7.2 Innocuité, oui, mais sur le long terme ?

Bien que le bénéfice clinique du TMF soit établi, il s'agit d'une thérapie relativement récente et plusieurs inconnues demeurent à son sujet :

- La composition exacte de l'*inoculum*, impossible à déterminer.
- Les modes d'action précis (métabolique, immunologique et pharmacologique).

Le MF constitue la matière première de l'*inoculum*. C'est un milieu complexe d'une grande variabilité selon les individus et dans le temps (un don est unique). Très sensible aux facteurs environnementaux, il est également influencé par et les contraintes logistiques et les gestes qui l'accompagnent. La standardisation de la méthode dans le temps et l'espace est compliquée à mettre en œuvre et ne peut prétendre à une équivalence parfaite entre les dons.

Il est important de mentionner aussi que nous ne sommes pas encore en mesure de prouver l'innocuité de cette méthode sur le long terme, car sa pratique est récente. A l'heure actuelle, rien ne garantit que cette méthode curative ne puisse pas transmettre d'autres maladies, infectieuses ou non, connues ou pas. Le suivi des patients transplantés est pris très au sérieux par l'ANSM qui préconise la notification immédiate de tout événement indésirable survenant dans les heures et jours qui suivent le TMF une surveillance qui se poursuit jusqu'à 2 ans. Un dispositif de traçabilité rigoureux est mis en place grâce à une fécothèque avec conservation à basse température des selles brutes émises lors du dépistage du donneur et d'une coprothèque sur le transplant lui-même.

Malgré la sélection rigoureuse du donneur et les mesures de sécurité, il existe des cas où la dangerosité du don n'est pas prédictible. Ainsi, en 2013, des patients ont reçu une TMF d'un patient sain de 28 ans qui a développé, un an plus tard, une MC atteignant l'iléo-côlon. Cet individu n'avait, au moment du dépistage, aucun antécédent médical rédhibitoire et ne suivait aucun traitement. Les 31 receveurs ont été suivis cliniquement de façon très rigoureuse à l'annonce du diagnostic. Fort heureusement, aucun d'eux n'a développé de symptômes correspondant à une IBD sur une durée moyenne de 19,8 mois. Sur 5 patients atteints initialement d'IBD (3 RCH et 2 MC), deux ont observé une amélioration clinique de leurs symptômes (1 RCH et 1 MC). Quatre patients sont décédés de complications à *C.difficile* mais ne présentaient pas d'IBD. Ce rapport souligne la nécessité d'un suivi rigoureux et soulève certaines questions relatives à la transmission de maladies. Nous ne savons pas

à l'heure actuelle si la MC est transmissible par transfert de MI mais nous savons qu'elle est liée, au moins partiellement, à des déséquilibres du MI. Même si aucune signature microbiologique caractéristique de la MC (diminution de *Bacteroidetes* et *Firmicutes*) n'a été détectée chez les receveurs, ces observations ne constituent pas une preuve de la parfaite innocuité d'un don pour des pathologies en lien avec des déséquilibres du MI (Fischer, 2017).

Conclusion de la partie IV

Si la thérapie par TMF peut sembler étrange, ou d'une autre époque, elle se base sur un principe simple qui est celui de restaurer un écosystème bactérien au cours de maladies durant lesquelles le MI est déséquilibré et devient responsable de susceptibilités à des pathologies parfois graves. Un intérêt croissant est porté à ce type de thérapeutique grâce aux connaissances nouvellement acquises sur le rôle bénéfique du microbiote sur son organisme hôte. Le TMF est le traitement aujourd'hui reconnu comme étant le plus efficace pour traiter l'infection à *C. difficile* et a permis d'améliorer les conditions de vie de nombreux patients. Sa relative simplicité d'utilisation et son efficacité dès la première administration a suscité l'engouement des scientifiques et motivé la recherche de nouvelles applications. Son utilisation commence à s'étendre à d'autres pathologies de la sphère intestinale, et des résultats encourageants dans le domaine de la neurologie laissent entrevoir que le TMF pourrait même devenir l'un des traitements de maladies neurologiques comme la Maladie de Parkinson. Même si les risques liés à la pratique du TMF semblent très limités à la lumière des résultats actuels, la diversification de ses indications et la volonté d'établir des standards réglementaires et techniques va obliger les autorités de santé à émettre des recommandations afin de mieux encadrer les processus de sélection et d'harmoniser les méthodes de préparation et d'administration entre les établissements de santé.

Ouverture : vers d'autres microbiotes ?

Ce travail ne saurait être complet s'il se cantonnait à la description de notre communauté bactérienne intestinale. Notre organisme héberge en effet une myriade de microbiomes comme nous l'avons évoqué précédemment. Chaque interface entre nos organes et le milieu extérieur constitue un écosystème à part qui héberge des communautés de MO.

En guise d'ouverture, j'ai décidé de m'intéresser à deux autres types de microbiotes : le microbiote des voies respiratoires et le microbiote cutané, et de citer quelques unes de leurs spécificités, sans toutefois les étudier en profondeur.

1. Le microbiote cutané

1.1 Généralités sur la peau

La peau représente l'organe le plus grand du corps humain, qu'il s'agisse de sa masse (16% du poids total) ou de sa surface (environ 1,5 m²). Cette immense barrière, plus ou moins perméable, permet de nombreux échanges entre le corps et le milieu extérieur. Elle est constituée de trois couches cellulaires bien distinctes, histologiquement différentes. La couche la plus superficielle s'appelle l'épiderme. Sous l'épiderme se trouve le derme, couche intermédiaire de tissu conjonctif riche en vaisseaux sanguins, puis l'hypoderme, couche la plus profonde constituée de tissu graisseux. Ces structures sont visibles sur la figure 63.

L'épiderme est un épithélium pavimenteux pluristratifié kératinisé et pigmenté. Il se trouve en contact direct avec l'extérieur. Il comporte plusieurs types cellulaires dont les kératinocytes représentent le plus abondant. Ces cellules contiennent une protéine fibreuse, la kératine, dont la rigidité est un élément structurel pour la peau. L'épaisseur de l'épiderme varie beaucoup en fonction de sa localisation : d'environ 50µm au niveau des paupières, il peut atteindre 1mm d'épaisseur dans les régions palmo-plantaires (*Venus, 2011*). L'épiderme est lui-même subdivisé en quatre couches. La couche cornée (ou *stratum corneum*), la plus externe, est formée de cornéocytes (kératinocytes issus de l'apoptose, de forme aplatie et constitués uniquement de kératine.) Les MO commensaux se retrouvent principalement dans les couches supérieures du *stratum corneum* ainsi que dans les canaux des glandes sudoripares et des follicules pilosébacés (figure 63).

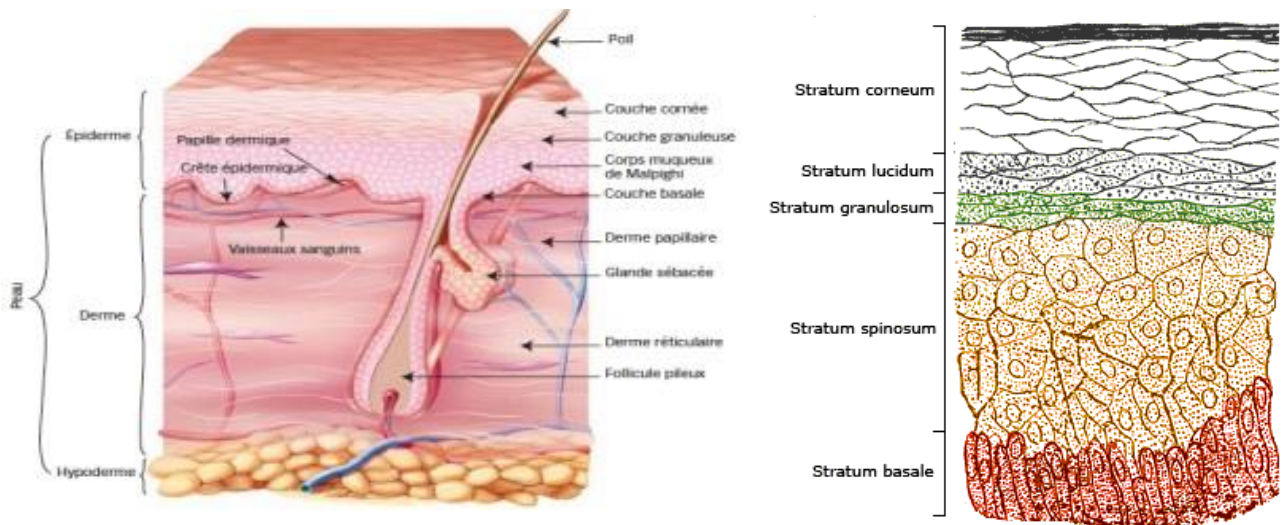


Figure 63 (à gauche) : Coupe histologique de la peau montrant l'épiderme, le derme, l'hypoderme ainsi que l'unité pilo-sébacée (Goetz, 2017)

Figure 64 (à droite) : Les sous-couches de l'épiderme (wikipedia.org)

Dans la figure 64, la couche cornée (« *stratum corneum* ») est représentée d'une épaisse couche de cellules vides, représentées en noir

1.2 Les micro-organismes de la peau et leur rôle

L'étude de la peau a souvent été réduite à la description histologique de ses différentes couches et de leurs fonctions métaboliques. Cependant, les techniques moléculaires d'identification ont mis en évidence que le revêtement cutané héberge d'un ensemble complexe et varié de MI (Bactéries, Champignons, Archées, Virus) et de quelques organismes pluricellulaires (acariens...). Près de 20 *phyla* bactériens seraient connus pour faire partie du MI cutané, dont les 4 principaux seraient les mêmes que ceux du MI intestinal, dans des proportions différentes : *Actinobacteria* (51,8%), *Firmicutes* (24,4%), *Proteobacteria* (16,5%) et *Bacteroidetes* (6,3%). Les genres les plus abondants sont *Corynebacterium* (*Phy. Actinobacteria*), *Propionibacterium* et *Staphylococcus* (Dunyach-Remy, 2015) (figure 69) bien que l'abondance relative des groupes phylogéniques soit largement dépendante de la localisation. Ainsi, le microbiote des zones sébacées, comme celui présent à l'arrière des oreilles, est très riche en *Corynebacterium* sp. ce qui n'est pas le cas des zones humides comme les aisselles ou le tronc. Au niveau de la fosse antécubitale (pli du coude, zone humide), le genre *Corynebacterium* est toujours majoritaire mais la répartition est plus en faveur d'autres *phyla* comme *Proteobacteria*, qui arrive en deuxième position, ou *Bacteroidetes*. Les zones sèches telles que l'avant-bras hébergeraient quant à elles plus de représentants de *Proteobacteria* (figure 66). Les champignons microscopiques de la surface de la peau sont des levures du genre *Malassezia*. Les acariens appartiennent au genre *Demodex* et colonisent surtout les unités pilo-sébacées du visage des adultes.

Les rôles de la flore cutanée sont peu connus mais semblent très variés. On lui attribue notamment une action protectrice contre les bactéries pathogènes. La biodiversité bactérienne limite le risque de colonisation de la peau par des MO pathogènes et constitue une protection contre l'inflammation de la peau. Les mécanismes de défense passent par des mécanismes de compétition pour l'accès aux nutriments (issus du sébum et de la sueur) et pour des sites d'adhésion nécessaires à la sédentarisation de la bactérie (Goetz, 2017). Il semblerait d'autre part que les bactéries résidentes aient la capacité de sécréter des bactériocines, c'est le cas par exemple de *Staphylococcus* spp. qui produit l'épidermine et la gallidermine (Götz, 2014).

Certaines bactéries du microbiote cutané auraient aussi la capacité d'activer le SI. Cette capacité passerait notamment par l'activation dans les nœuds lymphatiques de LT producteurs d'IL-17 par les CD résidant au niveau du derme (figure 65). Des études montrent que des bactéries commensales particulières sont plus à même de stimuler le SI, c'est le cas par exemple de *Staphylococcus epidermidis* très efficace pour induire la production d'IL-17 (Goetz, 2017)

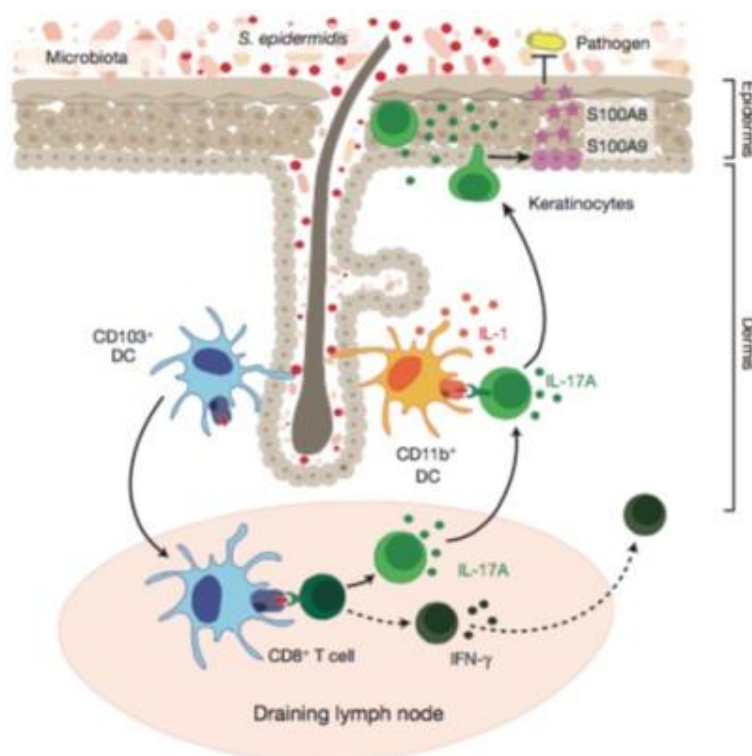


Figure 65 : Induction de la réponse immunitaire cutanée par *S. epidermidis* (Goetz, 2017)

Les CD dermiques captent et présentent l'antigène situé dans le follicule pilosébacé. La présentation de l'antigène à des LT au niveau d'un nœud lymphatique conduit à plusieurs mécanismes : la cellule T peut se mettre à produire l'IL-17 qui stimule la production par les kératinocytes S100A8 et S100A9, substances qui amplifient la réponse immunitaire. On peut aussi avoir production d'IFN- γ par la cellule T

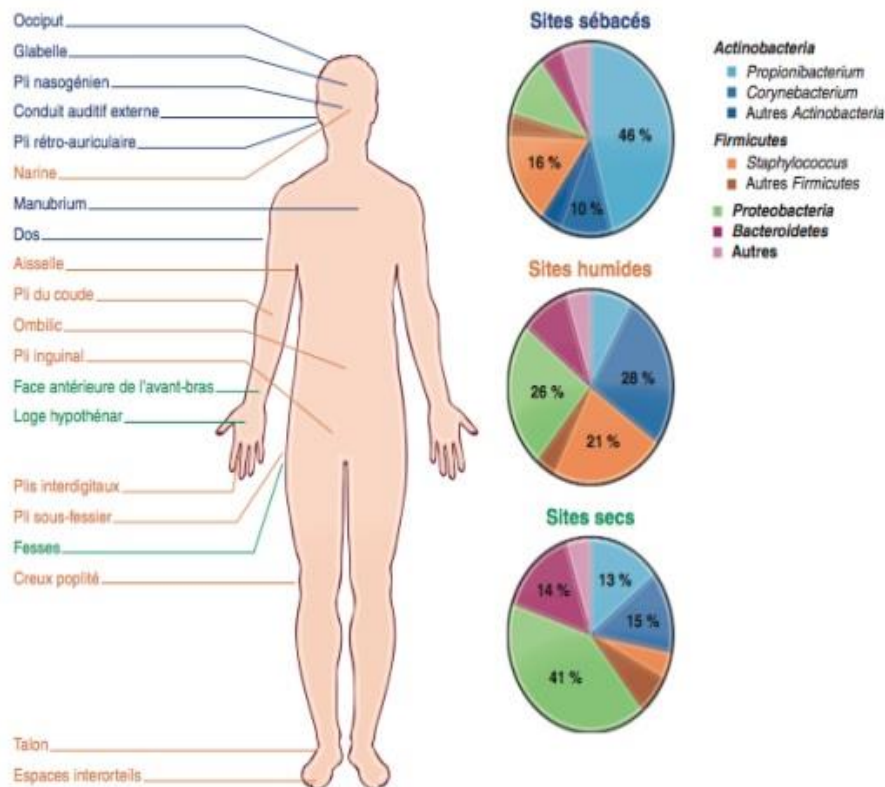


Figure 66 : Spécificité de la colonisation bactérienne cutanée en fonction des caractéristiques de la peau (Goetz, 2017)

1.3 Pathologies liées à la dysbiose cutanée

Un déséquilibre entre bactéries bénéfiques et bactéries pathogènes peut être le point de départ de plusieurs pathologies. Un lien a été établi entre la dysbiose au niveau cutané et des désordres inflammatoires chroniques de la peau comme la dermatite atopique ou le psoriasis (Pascal, 2018). L'acné est une affection communément retrouvée chez l'adolescent et le jeune adulte qui consiste en une infection des unités pilosébacées par une bactérie aérobie, *Propionibacterium acnes*. Les modifications hormonales liées à la puberté ont été associées à l'altération de la composition du microbiote (<https://biocodexmicrobiotainstute.com>).

Les levures peuvent aussi être impliquées dans des affections cutanées chroniques : ainsi, des situations menant à un excès de production du sébum entraînent la prolifération locale de *Malassezia furfur* alors en compétition avec les autres constituants. En métabolisant les composants du sébum elle déclenche la réaction inflammatoire. La dermatite séborrhéique est une dermatose inflammatoire volontiers récurrente qui a été associée à la prolifération de levures commensales du genre *Malassezia* (Schwartz, 2013) au détriment de la flore protectrice.

Enfin, la présence de bactéries pathogènes peut être à l'origine de sensibilité aux infections et de difficultés de cicatrisation, participant à la chronicité de certaines plaies (Duynach-Remy, 2015).

2. Le microbiote des voies respiratoires

2.1 Généralités sur les voies respiratoires

Le système respiratoire est l'ensemble des organes qui assurent à l'organisme l'apport d'oxygène et permettent l'élimination du gaz carbonique. Il prend la forme d'une succession de tubes qui acheminent l'air de l'extérieur jusqu'aux poumons. On distingue une partie conductrice et une partie purement respiratoire, où se produisent les échanges gazeux : les alvéoles pulmonaires (figure 68). On peut schématiquement diviser les voies aériennes en voies aériennes supérieures et inférieures (ou profondes). Le diaphragme est le muscle respiratoire principal. Il permet la mécanique de respiration en se contractant et en se relâchant à tour de rôle (<http://www.isto.ucl.ac.be>) (figure 67).

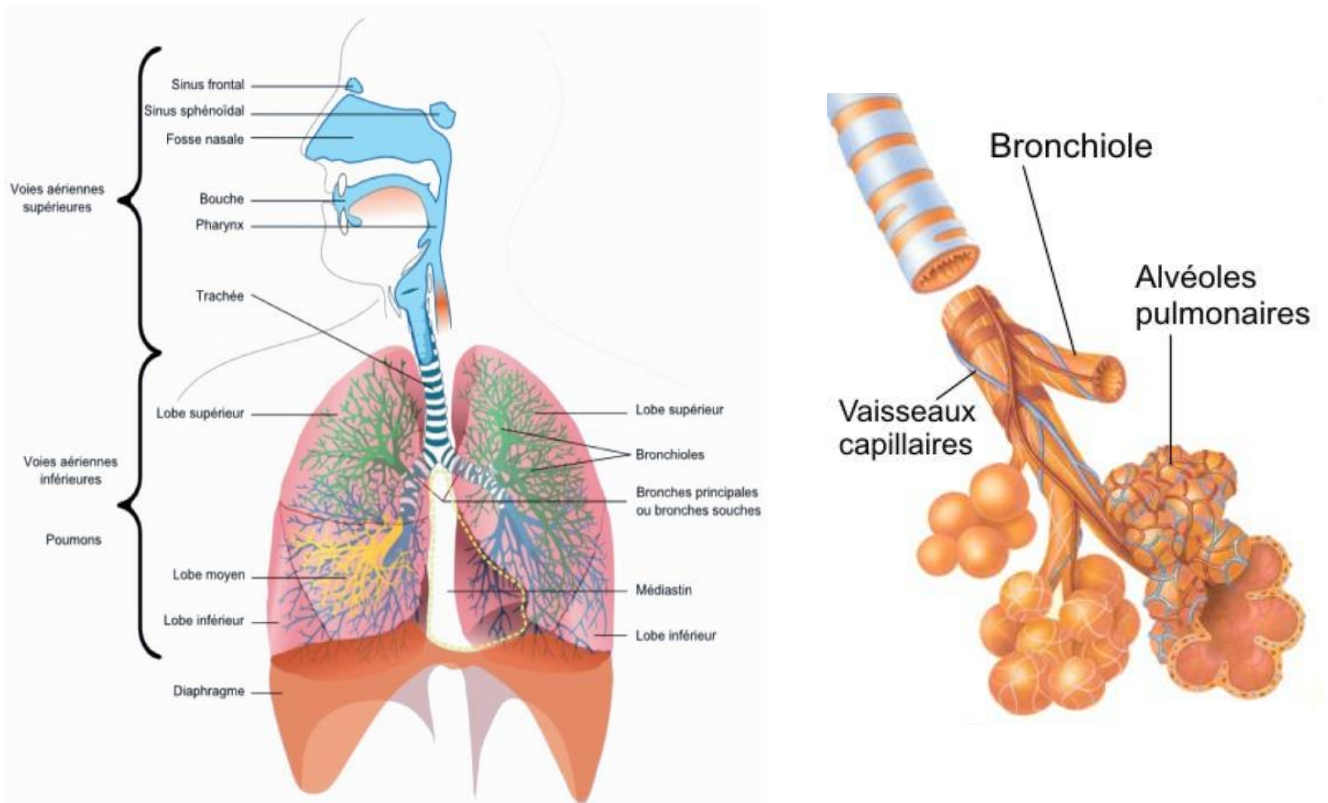


Figure 67 : Voies respiratoires supérieures et inférieures de l'Homme
(<https://blogglophys.wordpress.com>)

Figure 68 : Bronchioles terminales et alvéoles pulmonaires (<https://svt-ccc.pagesperso-orange.fr>)

Les voies aériennes supérieures débutent avec la bouche et les fosses nasales, et se poursuivent avec le pharynx (subdivisé en nasopharynx, oropharynx et laryngopharynx) et enfin le larynx. Les voies aériennes inférieures comportent la trachée qui se sépare en deux bronches souches qui pénètrent dans les poumons par le hile et se divisent dans le poumon droit en trois bronches lobaires et, dans le poumon gauche, en deux bronches lobaires.

Les bronches se ramifient successivement dans le poumon pour donner des bronchioles, jusqu'au stade terminal de ramification qui débouche sur des alvéoles, siège des échanges gazeux. Chaque alvéole reçoit le sang par une artériole pulmonaire (en bleu) et le renvoie vers le cœur par une veinule (en rouge).

Des fosses nasales aux bronchioles, la surface interne du conduit respiratoire porte une muqueuse de type respiratoire, tapissée d'un épithélium cilié et recouverte de *mucus*, sécrété par les cellules caliciformes. L'épithélium de type pseudostratifié (fosses nasales) ou pluristratifié. Dans les bronches segmentaires et les alvéoles, l'épithélium est de type cylindrique (<http://www.isto.ucl.ac.be>)

2.2 Rôle des microorganismes des voies respiratoires

Pendant longtemps, on a cru les voies aériennes inférieures stériles du fait de leur capacité de clairance muco-ciliaire, et parce que les cultures bactériologiques utilisées restaient négatives. L'on sait aujourd'hui, grâce aux techniques d'identification moléculaire (ARN 16S) que le système respiratoire possède une flore variée.

La densité bactérienne des voies respiratoires est considérée comme faible, allant de 10^3 à 10^5 UFC par gramme de contenu (*Remot, 2017*). C'est au niveau du poumon qu'elle est la plus élevée avec environ 10^5 UFC par mL de contenu, ce qui reste très inférieur à la densité bactérienne intestinale. (<https://bpco-asso.com/>). Cependant, cette « rareté » relative serait compensée par une forte biodiversité. On trouverait environ 2000 génomes bactéries par cm^2 de surface prélevée, ce qui serait comparable aux deux tiers de la diversité génétique du TD. (<https://hal-pasteur.archives-ouvertes.fr>). Le microbiote respiratoire « physiologique » est d'origine environnementale et intestinale, mais à la différence du MI, près de la moitié des bactéries qu'il héberge sont aérobies ou aérotolérantes (*Guilloux, 2018*).

Le microbiote respiratoire se met en place dès la naissance et évolue rapidement au cours des premières années de vie, avant de se stabiliser. Les premières bactéries colonisatrices sont couramment *Corynebacterium* ou *Staphylococcus* (*Teo, 2015*).

Ce microbiote varie qualitativement et quantitativement tout au long de l'arbre respiratoire. C'est dans le poumon que l'on retrouve la plus grande diversité bactérienne, avec plus de 200 taxons identifiés. Les bactéries majoritaires sont issues de 2 *phyla* : les **Protéobactéries** (*Neisseria spp.*, *Haemophilus spp.*) mais aussi les **Bacteroidetes** (*Prevotella spp.*). Les voies respiratoires supérieures (l'oropharynx et les fosses nasales) sont aussi porteuses d'une population bactérienne particulière, mais celle-ci diffère de celle des voies respiratoires inférieures à de nombreux égards. L'oropharynx porte les *phyla* *Bacteroidetes* (*Prevotella spp.*), *Firmicutes* (*Veilonella spp.*) et *Proteobacteria* (*Neisseria spp.*). Les tonsilles palatines ont une quantité importante de **Firmicutes** (*Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*). Au niveau des fosses nasales, le microbiote respiratoire s'apparente davantage au microbiote cutané avec notamment des Actinobactéries (*Corynebacterium spp.*) et des *Firmicutes* (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*) (<https://hal-pasteur.archives-ouvertes.fr>).

Les membranes muqueuses des voies respiratoires sont constamment exposées aux MO présents dans l'air qu'on respire, et doivent elles aussi assurer leur défense. Au-delà des mécanismes de phagocytose et d'épuration par le *mucus* et les cils, la défense repose aussi sur le rôle du microbiote dans l'immunité. Sa présence limite la colonisation par les pathogènes par compétition et stimulation de la production de *mucus*. Des observations montrent qu'un microbiote pulmonaire sain est en lien avec la maturation du SI pulmonaire et est un facteur régulateur de la réponse immunitaire.

Une étude comparative sur des souris axéniques et conventionnelles a montré que la colonisation des poumons n'avait pas d'effet majeur sur la teneur en cellules immunitaires : les niveaux de LB et LT (CD4 et CD8) et des CD étaient sensiblement les mêmes pour les deux populations de souris (Remot, 2017). Cependant, les poumons de souris axéniques portent 2,5 fois plus de cellules NK (Olszak, 2012) et moins de LTreg (Gollwitzer, 2014). En outre, le microbiote augmente l'expression de gènes associés à l'immunité, ce qui se traduit par de plus hauts niveaux d'IL-5, IL-10 et IFN γ (Gollwitzer, 2014).

A l'instar du TD, la reconnaissance des commensaux et des pathogènes par le SI passe par les PRRs (TLR, NLR, CLR...). Les réponses TLR4 seraient particulièrement influencées par la composition du microbiote pulmonaire (Segal, 2016).

Des études épidémiologiques menées sur de jeunes enfants ont démontré un rôle protecteur des bactéries sur le risque de développer de l'asthme. Il a été démontré que des enfants évoluant en milieu rural (en contact avec des animaux de ferme), porteurs de deux souches bactériennes présentes dans les étables (*Acinetobacter lwoffii* et *Lactococcus lactis*) étaient protégés contre l'affection. Chez des souris sensibilisées, l'instillation intra-nasale de ces souches a supprimé l'allergie des voies respiratoires, ce qui a été expliqué par la diminution des éosinophiles dans les sécrétions bronchiques (Bernard David, 2010). L'exposition précoce des enfants à des souches bactériennes du milieu rural favoriserait les réponses immunitaires de type Th1 qui contrebalanceraient les réponses Th2 à l'origine d'asthme et d'allergies (Armann et Von Mutius, 2010).

Cela n'est pas sans rappeler la théorie hygiéniste déjà évoquée qui propose que la fréquence de MA et inflammatoires chez l'adulte soit en lien avec une faible exposition antigénique durant l'enfance.

2.3 La dysbiose des voies respiratoires

On note aussi que le microbiote est souvent altéré au cours d'affections de l'arbre bronchique. La dysbiose au niveau des muqueuses respiratoires est associée à deux affections fréquentes : l'asthme et la Bronchopneumopathie Chronique Obstructive (BPCO). Il existe des similitudes entre le microbiote typiquement retrouvé dans les deux pathologies, et celui-ci diffère de celui présent chez les sujets sains. Notamment, il existe chez les sujets malades une surreprésentation de certaines espèces (<https://hal-pasteur.archives-ouvertes.fr>). Ainsi, les patients asthmatiques et BPCO ont en commun une abondance anormale de Proteobactéries (*Haemophilus* spp.) très caractéristique. Elle est généralement associée à une diminution du *phylum* des *Bacteroidetes* (*Prevotella*) à qui on attribue au contraire un rôle protecteur (probablement par inhibition de la croissance d'autres

bactéries (<https://hal-pasteur.archives-ouvertes.fr>). L'excès de Protéobactéries est corrélé à la sévérité de l'inflammation probablement du fait d'une surexpression de gènes liés à la réponse Th17 (Hilty, 2010).

Chez les enfants souffrant d'asthme sévère, le genre *Staphylococcus* (*Firmicutes*) colonise en excès les voies respiratoires. Certaines bactéries retrouvées précocement représentent un facteur de risque d'asthme, comme c'est le cas de *Neisseria* spp. ou *Haemophilus* spp. dans les prélèvements de gorge de nouveaux-nés (<https://hal-pasteur.archives-ouvertes.fr>). Enfin, la mucoviscidose est aggravée par l'inflammation des voies respiratoires causée par l'infection chronique par des agents pathogènes tels que *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Burkholderia cepacia*. Cette maladie génétique qui affecte la qualité du *mucus* bronchique est aussi à l'origine d'une hyperproduction de ce dernier, ce qui offre à ces bactéries des conditions favorables à leur croissance (<https://www.universalis.fr>)

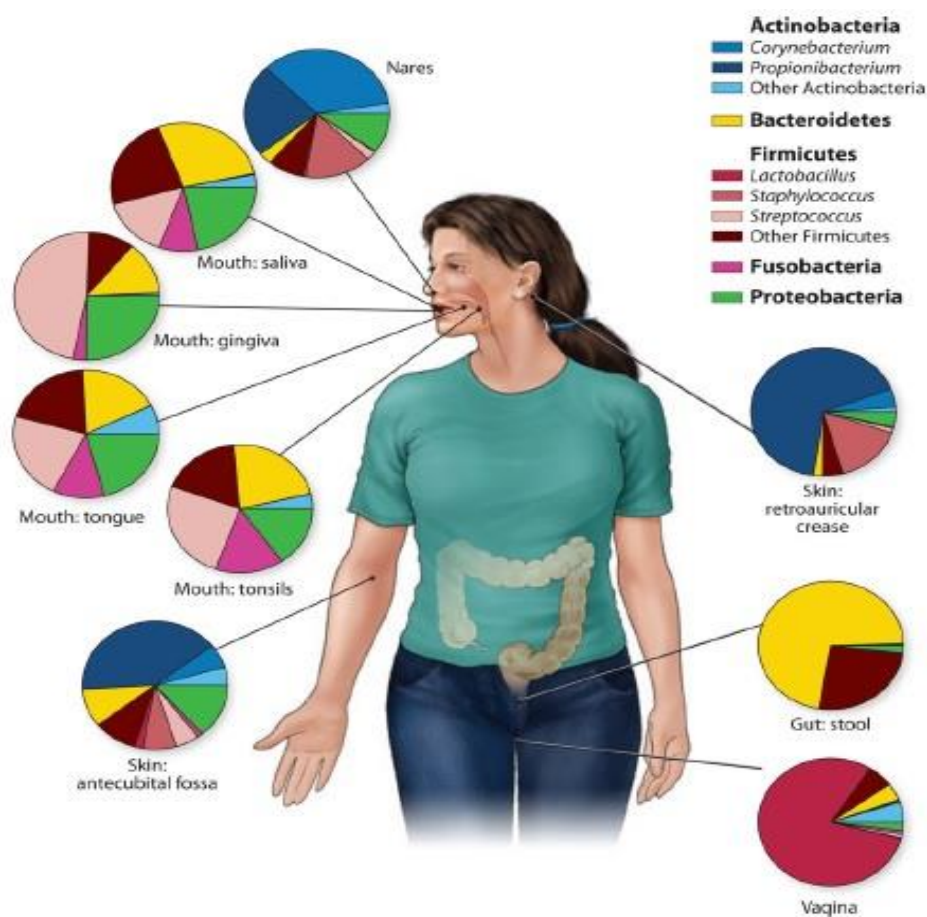


Figure 69 : Diversité des microbiotes abrités par l'Homme et des populations bactériennes qui les composent (Sansoneetti, 2017).

Conclusion générale

Le microbiote intestinal, encore mal connu jusqu'à récemment, est aujourd'hui un élément incontournable de notre santé et il semble presque impossible d'expliquer notre physiologie sans évoquer son existence. Son importance est telle que la communauté scientifique n'hésite pas à le qualifier d'« organe » à part entière, occupant un espace propre et métaboliquement indépendant.

Au cours de ce travail, nos observations nous ont permis de mieux comprendre un certain nombre de rôles dévolus aux bactéries intestinales. Bien que de nombreux points doivent encore être précisés au sujet des liens qui nous unissent à notre flore, nous savons aujourd'hui que cette entité qui cohabite avec nous depuis si longtemps a une très grande influence sur notre organisme en même temps qu'elle trouve en nous un milieu adapté à sa survie. Les bienfaits d'un microbiote sain ne sont plus à démontrer : régulation du métabolisme, protection contre les pathogènes, stimulation de l'immunité, extraction et production de métabolites essentiels à la santé. Malmené, le microbiote peut néanmoins se retourner contre son hôte et lui causer des dommages. De nombreux travaux font état d'un rapport entre déséquilibre bactérien et apparition de certaines pathologies.

Ainsi, notre microbiote n'est que le « reflet » de notre mode de vie. Parfaitement adapté à notre physiologie, il se construit et évolue avec nous dès notre venue au monde. Chaque microbiote est unique et comparable à une empreinte qui demeure très stable au cours de la vie mais sait se modifier en réponse à notre environnement et à nos changements d'habitudes.

La connaissance des modes de fonctionnement du MI revêt d'énormes potentialités. Les chercheurs s'intéressent de très près aux techniques de modulation de la flore dans un but thérapeutique. Bien que l'usage de probiotiques soit un recours banal pour compenser les désagréments liés à une flore altérée, peu de résultats permettent de statuer sur leur efficacité. Les recherches actuelles misent plutôt sur le rétablissement d'une flore intestinale saine sur le long terme. La bactériothérapie fécale, déjà pratiquée pour la colite à *C. difficile* pourrait bien s'étendre à d'autres pathologies qui impliquent le microbiote, qu'elles soient intestinales ou extra-intestinales. Quant aux potentialités du génome microbien, il y a fort à parier que l'étude moléculaire révélera dans un futur proche d'intéressantes corrélations entre le profil microbien et la tolérance voire la réponse à certains traitements. À une époque où investir dans la recherche de nouveaux médicaments devient de plus en plus difficile, l'exploration de notre carte d'identité microbienne pourrait aboutir à une utilisation plus raisonnée de notre arsenal thérapeutique.

L'avènement probable de nouvelles thérapies ne devra pas faire perdre de vue l'importance primordiale d'une bonne hygiène de vie dans la santé. Comme dit l'adage, la prévention est le meilleur des remèdes, et les meilleures habitudes à prendre sont souvent les plus simples : une alimentation saine et équilibrée, un exercice physique peu intense mais régulier, des loisirs et une vie sociale équilibrée contribuent sans doute à éloigner la plupart des maux du quotidien. Le pharmacien d'officine, en tant que professionnel de santé, a un rôle évident de guide et de conseiller auprès d'un patient toujours plus éclairé et avide d'informations. L'arrivée massive de probiotiques dans les officines devra s'accompagner de conseils pratiques et d'explications, y compris sur les risques liés à l'introduction de souches bactériennes chez les sujets plus fragiles. La bonne connaissance de leur fonctionnement est donc nécessaire au pharmacien qui souhaite exploiter de la meilleure manière possible l'effet thérapeutique de ces produits et améliorer la relation professionnel-patient.

Liste des références

- Abrahamsson T-R., Jakobsson H-E., Andersson A-F., Björkstén B., Engstrand L., Jenmalm M-C. Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2012; 129(2): 434-40, 440.e1-2.
- Abrahamsson T-R., Jakobsson H-E., Andersson A-F., Björkstén B., Engstrand L., Jenmalm M-C. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clinical and Experimental Allergy*. 2014; 44(6): 842-50.
- Amon P., Sanderson I. What is the microbiome? *Archives of disease in childhood - Education & practice*. 2017; 0: 1-4.
- Amos Aegerter V., Bally F., Prévention et traitement des diarrhées dues aux antibiotiques : rôle des probiotiques, *Revue Médicale Suisse*. 2012; (8): 1907-1910.
- ANSM. La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques, 2016.
- Akdis C-A. Review Allergy and hypersensitivity: mechanisms of allergic disease. *Current Opinion in Immunology*. 2006; 18(6): 718-26.
- Albac S., Lopez-Alayon C., Schmitz A., d'Enfert C. , Sautour M., Labruère-Chazal C., Laue M., Holland G., Bonnin A., Dalle F. Les cellules M : une porte d'entrée pour le franchissement de la barrière intestinale par *Candida albicans*. *Journal de Mycologie Médicale*. 2015; 25(2): e102-e103
- Albesharat R., Ehrmann M-A., Korakli M., Yazaji S., Vogel R-F. Phenotypic and genotypic analyses of lactic acid bacteria in local fermented food, breast milk and faeces of mothers and their babies. *Systematic and applied microbiology*. 2011; 34(2): 148-155.
- Alexander K-L., Targan S-R., Elson C-O. Microbiota activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Immunol Rev*. 2014; 260(1): 206-20.
- Aloisio I., Mazzola G., Corvaglia L-T., Tonti G., Faldella G., Biavati B., Di Gioia D. Influence of intrapartum antibiotic prophylaxis against group b streptococcus on the early newborn gut composition and evaluation of the anti-streptococcus activity of bifidobacterium strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014; 98(13): 6051-6060.
- Ananthakrishnan A-N., Higuchi L-M., Huang E-S., Khalili H., Richter J-M., Fuchs C-S., Chan A-T. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drug use, and risk for Crohn disease and ulcerative colitis: a cohort study. *Annals of Internal Medicine*. 2012; 156(5): 350-9.
- Anderson C-A., et al. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nature Genetics* 2011; 43: 246–52.
- Anderson J-L., Edney R-J., Whelan K. Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2012; 36: 503-16.
- Andrews P-J., Barnes P., Borody T-J. Chronic constipation reversed by restoration of bowel flora. A case and a hypothesis. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 1992; 4: 245—7.

- Arbolea S., et al. Impact of prematurity and perinatal antibiotics on the developing intestinal microbiota: A functional inference study. *International journal of molecular sciences*. 2016; 17(5): pii: E649.
- Armann J., von Mutius E. Do bacteria have a role in asthma development? *The European Respiratory Journal*. 2010; 36(3): 469-71.
- Aroniadis O-C., et al. Long-term follow-up study of fecal microbiota transplantation (FMT) for severe or complicated *Clostridium difficile* infection (CDI). *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2016; 50(5): 398-402.
- Arumugam M., et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473(7346): 174–180. [published correction appears in *Nature*, 474(7353):666, 2011] [published correction appears in *Nature* 506(7489):516, 2014].
- Atarashi K., et al. Th17 Cell Induction by Adhesion of Microbes to Intestinal Epithelial Cells. *Cell*. 2015; 163(2): 367-80.
- Azad M-B., et al. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CMAJ*. 2013; 185(5): 385–394.
- Bäckhed F., Ding H., Wang T., Hooper L-V., Koh G-Y., Nagy A., Semenkovich C-F., Gordon J-I., The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004; 101(44): 15718-23.
- Backhed F., Ley R-E., Sonnenburg J-L., Peterson D-A., Gordon J-I. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005; 307: 1915–20.
- Bäckhed F., Manchester J-K., Semenkovich C-F., Gordon J-I. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007; 104(3): 979-984.
- Baelde D., et al. Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte. 2005, AFSSA, Maisons-Alfort.
- Bakken J-S., et al. Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2011; 9(12): 1044–9.
- Barcenilla A., Pryde S-E., Martin J-C., Duncan S-H., Stewart C-S, Henderson C., Flint H-J. Phylogenetic relationships of butyrate-producing bacteria from the human gut. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000; 66: 1654-1661.
- Barreau F., et al. Nod2 regulates the host response towards microflora by modulating T cell function and epithelial permeability in mouse Peyer's patches. *Gut*. 2010; 59: 207–17.
- Batista R., Kapelb N., Megerlinc F., Chaumeild J-C., Barbute F., Bourlioux P., Chasta F. Le transfert de microbiote fécal lors d'infections récidivantes à *Clostridium difficile*. Cadre et aspects pharmacotechniques. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2015; 73(5): 323-331.
- Baumgart D-C., Metzke D., Schmitz J., Scheffold A., Sturm A., Wiedenmann B., Dignass A-U. Patients with active inflammatory bowel disease lack immature peripheral blood plasmacytoid and myeloid dendritic cells. *Gut*. 2005; 54(2): 228-36.
- Baumgart D-C., Sandborn W-J. Chron's disease. *The Lancet*. 2012; 380: 1590–1605.

- Beaugerie L., Massot N., Carbonnel F., Cattan S., Gendre J-P., Cosnes J. Impact of cessation of smoking on the course of ulcerative colitis. *American Journal of Gastroenterology*. 2001; 96: 2113–16.
- Bernalier-Donadille A. Activités métaboliques du microbiote intestinal humain. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. 2010; 34(1): S16-22.
- Bernard David. Biodiversité : microbiome et microbiote. 2012, Suze-la-Rousse, France.
- Bertaiola Monnerat L., Chuard C. Diagnostic microbiologique des infections à *Clostridium difficile*. *Revue Médicale Suisse*. 2015; 11: 1840-1843.
- Biard N., Le microbiote intestinal, les probiotiques et leur place dans les pathologies digestives basses du nourrisson. 2016, Nancy.
- Blottière H.M., Doré J. Impact des nouveaux outils de métagénomique sur notre connaissance du microbiote intestinal et de son rôle en santé humaine. *Médecine/Sciences*. 2016; 32: 944–951.
- Bode L., Kunz C., Muhly-Reinholz M., Mayer K., Seeger W., Rudloff S. Inhibition of monocyte, lymphocyte, and neutrophil adhesion to endothelial cells by human milk oligosaccharides. *Thrombosis and Haemostasis*. 2004; 92(6): 1402-10.
- Boix-Amoros A., Collado M-C., Mira A. Relationship between milk microbiota, bacterial load, macronutrients, and human cells during lactation. *Frontiers in microbiology*. 2016; 7: 492.
- Bonnemaison E., Lanotte P., Cantagrel S., Thionois S., Quentin R., Chamboux C., Laugier J. Comparison of fecal flora following administration of two antibiotic protocols for suspected maternofetal infection. *Biology of the Neonate*. 2003; 84(4): 304-10.
- Borody T-J., Campbell J. Fecal microbiota transplantation: techniques, applications, and issues. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2012; 41(4): 781-803.
- Borte S., Pan-Hammarström Q., Liu C., Sack U., Borte M., Wagner U., Graf D., Hammarström L. Interleukin-21 restores immunoglobulin production ex vivo in patients with common variable immunodeficiency and selective IgA deficiency. *Blood*. 2009; 114(19): 4089-98.
- Bourlioux P., et al. Actualité du microbiote intestinal. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2013 ; 72(1): 15-21.
- Bourlioux P., Megerlin F., Corthier G., Gobert J-G., Butel M-J. Why could gut microbiota become a medication? *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2014; 72(5): 325-9.
- Brière F., Bridon J-M., Chevet D., Souillet G., Bienvenu F., Guret C., Martinez-Valdez H., Banchereau J. Interleukin 10 induces B lymphocytes from IgA-deficient patients to secrete IgA. *Journal of Clinical Investigation*. 1994; 94(1): 97-104.
- Brock J-H. The physiology of lactoferrin. *Biochemistry and Cell Biology*. 2002; 80(1): 1-6.
- Buisine MP., et al. Abnormalities in mucin gene expression in Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 1999; 5(1): 24–32.
- Buts J-P., De Keyser N., Kolanowski J., Sokal E., Van Hoof F. Maturation of villus crypt cell functions in rat small intestine. Role of dietary polyamines. *Digestive Diseases and Sciences*. 1993; 38: 1091–8.

- Buyse S., Azoulay E., Barbut F., Schlemmer B. Infection à *Clostridium difficile* : physiopathologie, diagnostic et traitement. *Réanimation*. 2005; 14: 255–263.
- Cadwell K., et al. A key role for autophagy and the autophagy gene *Atg16l1* in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature*. 2008; 456: 259–63.
- Campeotto F., Waligora-Dupriet A-J., Doucet-Populaire F., Kalach N., Dupont C., Butel M-J. Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. 2007; 31(5): 533-542.
- Canfora E-E., Jocken J-W., Blaak E-E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat Rev Endocrinol*. 2015 ; 11(10): 577-91.
- Cani P-D., Delzenne N-M. The gut microbiome as therapeutic target. *Pharmacology Therapeutics*. 2011; 130(2): 202-12.
- Cani P-D., et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007; 56(7): 1761-72.
- Carroll K-C., Bartlett J-G. Biology of *Clostridium difficile*: Implications for Epidemiology and Diagnosis. *Annual Review of Microbiology*. 2011; 65:501–521.
- Carvalho F-A., et al. Transient inability to manage proteobacteria promotes chronic gut inflammation in TLR5-deficient mice. *Cell Host Microbe*. 2012; 12: 139–152.
- Carvalho F-A., et al. Interleukin-1beta (IL-1beta) promotes susceptibility of Toll-like receptor 5 (TLR5) deficient mice to colitis. *Gut*. 2012; 61: 373–384.
- Carver J-D. Dietary nucleotides: effects on the immune and gastrointestinal systems. *Acta Paediatrica*. 1999; 88(430): 83-8.
- Cash H-L., Whitham C-V., Behrendt C-L., Hooper L-V. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science*. 2006; 313(5790): 1126-30.
- Castrillon Ohanessian B., Prendki V., Harbarth S. Infections à *Clostridium difficile* : spécificités chez le sujet âgé. *Revue Médicale Suisse*. 2013; 9: 2044-2048.
- Cerf-Bensussan N., Gaboriau-Routhiau V. The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10(10): 735-44.
- Chalabi S. Probiotiques et troubles fonctionnels intestinaux : Conseils à l'officine. 2017, Toulouse.
- Chassaing B., Darfeuille-Michaud A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011; 140(6): 1720-8.
- Chang H-K, Jeongho P., Myunghoo K. Gut Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids, T Cells, and Inflammation. *Immune Network*. 2014 ; 14(6): 277–288.
- Chen J., Rao J-N., Zou T., Liu L., Marasa B-S., Xiao L., Zeng X., Turner D-J., Wang J-Y. Polyamines are required for expression of Toll-like receptor 2 modulating intestinal epithelial barrier integrity. *American Journal of Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2007; 293(3): G568-76.
- Chen W-X., Ren L-H., Shi R-H. Enteric microbiota leads to new therapeutic strategies for ulcerative colitis. *World Journal of Gastroenterology*. 2014; 20(42): 15657–15663.

Chen G-L., Zhang Y., Wang W-Y., Ji X-L., Meng F., Xu P-S., Yang N-M., Ye F-Q., Bo X-C. Partners of patients with ulcerative colitis exhibit a biologically relevant dysbiosis in fecal microbial metacommunities. *World Journal of Gastroenterology*. 2017; 23: 4624-4631.

Cheng J., Palva A-M., de Vos W-M., Satokari R. Contribution of the intestinal microbiota to human health: from birth to 100 years of age. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2013; 358: 323-46.

Cherbuy C., Thomas M., Langella P. Le microbiote intestinal: une composante santé qui évolue avec l'âge. *Innovations Agronomiques*. 2013; 33: 37-46.

Chiu C-Y., Chan Y-L., Tsai M-H., Wang C-J., Chiang M-H., Chiu C-C. Gut microbial dysbiosis is associated with allergen-specific IgE responses in young children with airway allergies. *World Allergy Organ Journal*. 2019; 12(3): 100021.

Christl S-U., Murgatroyd P-R., Gibson G-R., Cummings J-H. Production, metabolism, and excretion of hydrogen in the large intestine. *Gastroenterology*. 1992; 102(4): 1269–77.

Choung R-S., et al. Serologic microbial associated markers can predict Crohn's disease behaviour years before disease diagnosis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2016; 43(12): 1300-10.

Chowdhury S-R., King D-E., Willing B-P., Band M-R., Beever J-E., Lane A-B., Loor J-J., Marini J-C., Rund L-A., Schook L-B., Van Kessel A-G., Gaskins H-R. Transcriptome profiling of the small intestinal epithelium in germfree versus conventional piglets. *BMC Genomics*. 2007; 8: 215.

Clayburgh D-R., Barrett T-A., Tang Y., Meddings J-B., Van Eldik L-J., Watterson D-M., Clarke L-L., Mrsny R-J., Turner J-R. Epithelial myosin light chain kinase-dependent barrier dysfunction mediates T cell activation-induced diarrhea in vivo. *Journal of Clinical Investigation*. 2005; 115(10): 2702-15.

Colarelli M. Les probiotiques, du conseil officinal à la prise en charge micronutritionnelle. *Sciences pharmaceutiques*. 2010, Nancy.

Collado M-C., Rautava S., Aakko J., Isolauri E., Salminen S. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Scientific reports*. 2016 ; 6: 23129.

Cong Y., Feng T., Fujihashi K., Schoeb T-R., Elson C-O. A dominant, coordinated T regulatory cell-IgA response to the intestinal microbiota. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009; 106(46): 19256-61.

Corr S-C., Gahan C-C., Hill C. M-cells: origin, morphology and role in mucosal immunity and microbial pathogenesis., *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2008; 52(1): 2-12.

Coudeyras S., Forestier C. Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine, *Revue Canadienne de Microbiologie*. 2010; 56(8) : 611-650.

Cox L-M., et al. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell*. 2014; 158(4): 705-721.

Cummings J-H., Pomare E-W., Branch W-J., Naylor C-P., Macfarlane G-T. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut*. 1987; 28: 1221–1227.

David L-A., et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014; 505 (7484): 559-563.

Davidson D-W., McKey D. The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. *Journal of Hymenoptera Research*. 1993; 2: 13-83.

De Filippo C., Cavalieri D., Di Paola M., Ramazzotti M., Poullet J-B., Massart S., Collini S., Pieraccini G., Lionetti P. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010; 107 (33): 14691-6.

Deplancke B., Gaskins H-R. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2001; 73(6): 1131S-1141S.

Detail F. *La Transplantation de Microbiote Fécal : Une Nouvelle Stratégie Thérapeutique Dans la Prise en Charge des Infections à Clostridium Difficile*, 2018, Amiens.

Di Martino M-L., Campilongo R., Casalino M., Micheli G., Colonna B., Prosseda G. Polyamines: emerging players in bacteria-host interactions. *Int J Med Microbiol*. 2013; 303(8): 484-91.

Dominguez-Bello M-G., Costello E-K., Contreras M., Magris M., Hidalgo G., Fierer N., Knight R. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010; 107(26): 11971-5.

Doré J., Corthier G., Le microbiote intestinal humain. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. 2010; 34(S1): 7-16.

Doré J., et al. The human gut microbiome as source of innovation for health: Which physiological and therapeutic outcomes could we expect? *Therapies*. 2017; 72 :21-38.

Dray X., Pautrat K., Marteau P., Vahedi K., Valleur P., Pocard M. Maladie de Crohn et Cancer. *Hépatogastro & Oncologie Digestive*. 2008; 15 (3): 225-38.

Dusko Ehrlich S, et al. Metagenomics of the intestinal microbiota: potential applications. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. 2010; 34(1) : 23–28.

Dutta S-K., Verma S., Jain V., Surapaneni B-K., Vinayek R., Phillips L., Nair P-P. Parkinson's Disease: The Emerging Role of Gut Dysbiosis, Antibiotics, Probiotics, and Fecal Microbiota Transplantation, *Journal of Neurogastroenterology and Motility*. 2019; 25(3): 363–376.

Dunyach-Remy C., Sotto A., Lavigne J-P. Le microbiote cutané : étude de la diversité microbienne et de son rôle dans la pathogénicité. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2014; 2015(469): 51-58.

Eckburg P-B., Bik E-M., Bernstein C-N., Purdom E., Dethlefsen L., Sargent M., Gill S-R, Nelson K-E, Relman D-A. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005; 308(5728): 1635-8.

Eckert C., Barbut F. Infections à *Clostridium difficile*. *Med Sci (Paris)*. 2010; 26: 153–158.

Eiseman B., Silen W., Bascom G-S., Kauvar A-J. Fecal enema as adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery*. 1958; 44(5): 854-9.

Eliakim R., Fan Q-X., Babyatsky M-W. Chronic nicotine administration differentially alters jejunal and colonic inflammation in interleukin-10 deficient mice. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2002; 14(6): 607-14.

Elinav E., et al. NLRP6 inflammasome regulates colonic microbial ecology and risk for colitis. *Cell*. 2011; 145: 745–757.

Fadlallah J. Impact du déficit en IgA sur la symbiose hôte/microbiote intestinal chez l'homme. 2016, Paris VI.

Falk P-G., Hooper L-V., Midtvedt T., Gordon J-I. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998; 62(4): 1157-70.

Fallani M., et al. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 2010; 51(1): 77-84.

Fallani M. et al. Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres. *Microbiology.* 2011; 157: 1385–1392.

Farooq P-D., Urrunaga N-H., Tang D-M., von Rosenvinge E-C. Pseudomembranous colitis. *Disease a Month : DM.* 2015; 61(5): 181-206.

Feng T., Cong Y., Alexander K., Elson C. Regulation of Toll-like receptor 5 gene expression and function on mucosal dendritic cells. *PloS One.* 2012; 7: e35918.

Fernandez L., Langa S., Martin V., Maldonado A., Jimenez E., Martin R., Rodriguez J.M. The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological research.* 2013; 69(1): 1-10.

Finegold S., et al. Gastrointestinal microflora studies in late onset autism. *Clinical Infectious Diseases.* 2002; 35(1) : s6-s16.

Fischer M., Bittar M., Papa E., Kassam Z., Smith M. Can you cause inflammatory bowel disease with fecal transplantation? A 31-patient case-series of fecal transplantation using stool from a donor who later developed Crohn's disease. *Gut Microbes.* 2017; 8(3): 205–207.

Fitzpatrick L-R., Hertzog K-L., Quatse A-L., Koltun W-A., Small J-S., Vrana K. Effects of the probiotic formulation VSL#3 on colitis in weanling rats. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007; 44(5): 561-70.

Francavilla R., et al. Effect of lactose on gut microbiota and metabolome of infants with cow's milk allergy. *Pediatric Allergy and Immunology.* 2012; 23(5): 420-7.

Frank D-N., St Amand A-L., Feldman R-A., Boedeker E-C., Harpaz N., Pace N-R. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2007; 104: 13780–85.

Frayssinhes L. Implication du microbiote intestinal dans la santé et enjeux thérapeutiques, 2017, Toulouse.

Freeman, J., et al. Pan-European longitudinal surveillance of antibiotic resistance among prevalent *Clostridium difficile* ribotypes. *Clinical Microbiology and Infection.* 2014; 21(3): 248-e9.

Freter R., Brickner H., Fekete J., Vickerman M-M., Carey K-E. Survival and implantation of *Escherichia coli* in the intestinal tract. *Infect Immun.* 1983; 39: 686-703.

Fuentes S., Van Nood E., Tims S., Heikamp-de Jong I., Ter Braak C-J., Keller J-J., Zoetendal E-G., de Vos W-M. Reset of a critically disturbed microbial ecosystem: faecal transplant in recurrent *Clostridium difficile* infection. 2014; 8(8): 1621–1633.

Fukuda S., Toh H., Taylor T-D., Ohno H., Hattori M. Acetate-producing bifidobacteria protect the host from enteropathogenic infection via carbohydrate transporters. *Gut Microbes.* 2012; 3(5): 449-54.

- Fumery M., Corcos O., Kapel N., Stefanescu C., Thomas M., Joly F. Intérêt et technique de la transplantation fécale. *Journal des Anti-infectieux*. 2013; 15(4): 187-192.
- Funkhouser L-J., Bordenstein S-R. Mom Knows Best: The Universality of Maternal Microbial Transmission. *PLoS Biology*. 2013; 11(8): e1001631.
- Furrie E., Macfarlane S., Cummings J-H., Macfarlane G-T. Systemic antibodies towards mucosal bacteria in ulcerative colitis and Crohn's disease differentially activate the innate immune response, *Gut*. 2004; 53(1): 91–98.
- Gaboriau-Routhiau V., et al. The key role of segmented filamentous bacteria in the coordinated maturation of gut helper T cell responses. *Immunity*. 2009; 31(4): 677-89.
- García Rodríguez L-A., Ruigómez A., Panés J. Acute gastroenteritis is followed by an increased risk of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2006; 130: 1588-94.
- Gao Z., Yin J., Zhang J., Ward R-E., Martin R-J., Lefevre M., Cefalu W-T., Ye J. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes*. 2009; 58(7): 1509-17.
- Gewirtz A-T., Navas T-A., Lyons S., Godowski P-J., Madara J-L. Cutting edge: bacterial flagellin activates basolaterally expressed TLR5 to induce epithelial proinflammatory gene expression. *J Immunol*. 2001; 167: 1882–1885.
- Gié O., Clerc D., Demartines N., Giulieri S. Prise en charge de la colite à *Clostridium difficile*, *Revue Médicale Suisse*. 2014; 10: 1309-1313.
- Gillor O., Etzion A., Riley M-A. The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2008; 81(4): 591–606.
- Goetz A. Le microbiote cutané. Université du Québec, Chicoutimi, 2017.
- Gollwitzer E-S., Saglani S., Trompette A., Yadava K., Sherburn R., McCoy K-D., Nicod L-P., Lloyd C-M., Marsland B-J. Lung microbiota promotes tolerance to allergens in neonates via PD-L1. *Nat Med*. 2014; 20(6):642-7.
- Gosalbes M-J., Llop S., Valles Y., Moya A., Ballester F., Francino M-P. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2013; 43(2): 198-211.
- Gotteland M., Cruchet S. Suppressive effect of frequent ingestion of *Lactobacillus johnsonii* La1 on *Helicobacter pylori* colonization in asymptomatic volunteers. *J Antimicrob Chemother*. 2003; 51: 1317–1319.
- Götz F., Perconti S., Popella P., Werner R., Schlag M. Epidermin and gallidermin: Staphylococcal lantibiotics. *International Journal of Medical Microbiology*. 2014; 304(1): 63-71.
- Gough E., Shaikh H., Manges A-R. Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2011; 53(10): 994–1002.
- Gradel K-O., Nielsen H-L., Schønheyder H-C., Ejlersen T., Kristensen B., Nielsen H. Increased short- and long-term risk of inflammatory bowel disease after salmonella or campylobacter gastroenteritis. *Gastroenterology*. 2009; 137(2): 495-501.

- Grehan M-J., Borody T-J., Leis S-M., Campbell J., Mitchell H., Wettstein A. Durable alteration of the colonic microbiota by the administration of donor fecal flora. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2010; 44: 551-61.
- Grönlund M-M., Lehtonen O-P., Eerola E., Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery : permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediat Gastroenterol Nutr*. 1999; 28: 19-25.
- Grosdemange A. Impact du microbiote intestinal sur le système immunitaire de l'enfant. 2014, Nancy.
- Guilloux C-A., Lamoureux C., Héry-Arnaud G. Les bactéries anaérobies, ces inconnues du microbiote pulmonaire. *Med Sci (Paris)*. 2018; 34(3): 253-260.
- Guslandi M., Mezzi G., Sorghi M., Testoni P-A. *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci*. 2000; 45: 1462-4.
- Hamouch T. Maladie de Crohn, étude des facteurs de risque en lien avec le microbiote intestinal. 2018, Lille.
- Halfvarson J., Bodin L., Tysk C., Lindberg E., Järnerot G. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology*. 2003; 124(7): 1767-73.
- Halkjær S-I., Boolsen A-W., Günther S., Christensen A-H., Petersen M-K. Can fecal microbiota transplantation cure irritable bowel syndrome? *World Journal of Gastroenterology*. 2017; 23(22): 4112–4120.
- Hamilton M-J., Weingarden A-R., Sadowsky M-J., Khoruts A. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *The American Journal of Gastroenterology*. 2012; 107(5): 761-7.
- Hapfelmeier S., et al. Reversible microbial colonization of germ-free mice reveals the dynamics of IgA immune responses. *Science*. 2010; 328: 1705–9.
- Heikkilä M-P, Saris P-E. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *J Appl Microbiol*. 2003; 95(3): 471-8.
- Hempel S., Newberry S-J., Maher A-R., Wang Z., Miles J-N., Shanman R., Johnsen B., Shekelle P-G. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2012; 307(18): 1959-69.
- Hilty M., et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One*. 2010; 5(1): e8578.
- Hooper L-V., Macpherson A-J. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10(3): 159-69.
- Hou J-K., El-Serag H., Thirumurthi S. Distribution and manifestations of inflammatory bowel disease in Asians, Hispanics, and African Americans: a systematic review. *Am J Gastroenterol*. 2009; 104: 210–09.
- Hrcir T., Stepankova R., Kozakova H., Hudcovic T., Tlaskalova-Hogenova H. Gut microbiota and lipopolysaccharide content of the diet influence development of regulatory T cells: studies in germ-free mice. *BMC Immunol*. 2008; 9: 65.
- Hu J., Nomura Y., Bashir A., Fernandez-Hernandez H., Itzkowitz S., Pei Z., Stone J., Loudon H., Peter I. Diversified microbiota of meconium is affected by maternal diabetes status. *PloSone*. 2013; 8(11): e78257.

- Huang H., Xu H., Luo Q., He J., Li M., Chen H., Tang W., Nie Y., Zhou Y. Fecal microbiota transplantation to treat Parkinson's disease with constipation: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2019; **98(26)**: e16163.
- Hunt K-M., Foster J-A., Forney L-J., Schutte U-M., Beck D-L., Abdo Z., Fox L-K., Williams J-E., McGuire M-K., McGuire M-A. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS one*. 2011; **6(6)**: e21313.
- Iliev I-D., Spadoni I., Mileti E., Matteoli G., Sonzogni A., Sampietro G-M., Foschi D., Caprioli F., Viale G., Rescigno M. Human intestinal epithelial cells promote the differentiation of tolerogenic dendritic cells. *Gut*. 2009; **58(11)**: 1481-9.
- InterAct Consortium. Dietary fibre and incidence of type 2 diabetes in eight European countries: The epic-interact study and a meta-analysis of prospective studies. *Diabetologia*. 2015; **58(7)**: 1394-1408.
- Ishikawa H., Tanaka K., Maeda Y., Aiba Y., Hata A., Tsuji N-M., Koga Y., Matsumoto T. Effect of intestinal microbiota on the induction of regulatory CD25+ CD4+ T cells. *Inn Exp Immunol*. 2008; **153(1)**: 127-35.
- Ismail I-H., Oppedisano F., Joseph S-J., Boyle R-J., Licciardi P-V., Robins-Browne R-M., Tang M-L. Reduced gut microbial diversity in early life is associated with later development of eczema but not atopy in high-risk infants. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2012; **23(7)**: 674-81.
- Israeli E., Grotto I., Gilburd B., Balicer R-D., Goldin E., Wiik A., Shoenfeld Y. Anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease. *Gut*. 2005; **54(9)**: 1232-6.
- Ivanov I-I., et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*. 2009; **139(3)** : 485-98.
- Jacquier V. Approches génomiques des interactions entre l'implantation du microbiote digestif chez le lapereau et la maturation du système immunitaire. 2014, Toulouse.
- Jakobsson H-E., Abrahamsson T-R., Jenmalm M-C., Harris K., Quince C., Jernberg C., Bjorksten B., Engstrand L., Andersson A-F. Decreased gut microbiota diversity, delayed bacteroidetes colonisation and reduced th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut*. 2014; **63(4)**: 559-566.
- Jess T., Simonsen J., Nielsen N-M., Jørgensen K-T., Bager P., Ethelberg S., Frisch M. Enteric Salmonella or Campylobacter infections and the risk of inflammatory bowel disease. *Gut*. 2011; **60**: 318-24.
- Jimenez E., Fernandez L., Marin M-L., Martin R., Odriozola J-M., Nueno-Palop C., Narbad A., Olivares M., Xaus J., Rodriguez J-M. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Current microbiology*. 2005; **51(4)**: 270-274.
- Joossens M., Simoens M., Vermeire S., Bossuyt X., Geboes K., Rutgeerts P. Contribution of genetic and environmental factors in the pathogenesis of Crohn's disease in a large family with multiple cases. *Infl amm Bowel Dis*. 2007; **13**: 580-84.
- Jost T., Lacroix C., Braegger C-P., Rochat F., Chassard C. Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breastfeeding. *Environmental microbiology*. 2014; **16(9)**: 2891-2904.
- Kabeerdoss J., Sankaran V., Pugazhendhi S., Ramakrishna B-S. Clostridium leptum group bacteria abundance and diversity in the fecal microbiota of patients with inflammatory bowel disease: a case-control study in India. *BMC Gastroenterol*. 2013; **13**: 20.

- Kalliomäki M., Isolauri E. Role of intestinal flora in the development of allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2003; 3(1): 15-20.
- Kaser A., Blumberg R-S. Endoplasmic reticulum stress and intestinal inflammation. *Mucosal Immunol* 2010; 3(1): 11–16.
- Kato K., et al. Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004; 20(10): 1133-41.
- Kedia S., Rampal R., Paul J., Ahuja V. Gut microbiome diversity in acute infective and chronic inflammatory gastrointestinal diseases in North India. *Journal of Gastroenterology.* 2016; 51(7): 660-71.
- Kee V-R. Clostridium difficile infection in older adults : A review and update on its management. *Am J Geriatr Pharmacother.* 2012; 10(1): 14-24.
- Kelly C-R., de Leon L., Jasutkar N.** Fecal microbiota transplantation for relapsing Clostridium difficile infection in 26 patients: methodology and results. **Journal of Clinical Gastroenterology.** 2012; 46(2): 145-9.
- Kelly C-P., LaMont J-T. Clostridium difficile – More difficult than ever. *New Eng J Med.* 2008; 359: 1932-40.
- Khalili H., Higuchi L-M., Ananthakrishnan A-N., Manson J-E., Feskanich D., Richter J-M., Fuchs C-S., Chan A-T. Hormone therapy increases risk of ulcerative colitis but not Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2012; 143(5): 1199-1206.
- Khan M-J., Gerasimidis K., Edwards C-A., Shaikh M-G. Role of Gut Microbiota in the Aetiology of Obesity: Proposed Mechanisms and Review of the Literature. *J Obes.* 2016; 2016: 7353642.
- Khanna S., Tosh P-K. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clinic Proceedings.* 2014; 89: 107-114.
- Khoruts A., Dicksved J., Jansson J-K., Sadowsky M-J. Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent Clostridium difficile-associated diarrhea. *J Clin Gastroenterol.* 2010; 44(5): 354-60.
- Kibe R, et al. Upregulation of colonic luminal polyamines produced by intestinal microbiota delays senescence in mice. *Scientific Reports.* 2014; 4: 4548.
- Kim C-H., Park J., Kim M. Gut microbiota-derived short-chain Fatty acids, T cells, and inflammation. *Immune Network.* 2014; (6): 277-88.
- Kim M-H., Kang S-G, Park J-H., Yanagisawa M, Kim C-H. Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells to promote inflammatory responses in mice. *Gastroenterology.* 2013; 145(2): 396-406.
- Kindt T-J., Goldsby R-A., Osborne, B-A. *Kuby immunology.* 2007, W-H. Freeman.
- Kinnebrew M-A., Buffie C-G., Diehl G-E., Zenewicz L-A., Leiner I., Hohl T-M., Flavell R-A., Littman D-R., Pamer E-G. Interleukin 23 production by intestinal CD103(+)CD11b(+) dendritic cells in response to bacterial flagellin enhances mucosal innate immune defense. *Immunity.* 2012; 36(2): 276-87.
- Kiss E-A., Vonarbourg C., Kopfmann S., Hobeika E., Finke D., Esser C., Diefenbach A. Natural aryl hydrocarbon receptor ligands control organogenesis of intestinal lymphoid follicles. *Science.* 2011; 334(6062): 1561-5

- Koenig J-E., Spor A., Scalfone N., Fricker A-D., Stombaugh J., Knight R., Angenent L-T., Ley R-E. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011; 108(1): S4578–S4585.
- Kostic A-D., Xavier R-J., Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterology*. 2014; 146: 1489-1499.
- Kotlowski R., Bernstein C-N., Sepehri S., Krause D-O. High prevalence of *Escherichia coli* belonging to the B2+D phylogenetic group in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2007; 56(5): 669-75.
- Kruis W., et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut*. 2004; 53(11): 1617-23
- Kuitunen M. Probiotics and prebiotics in preventing food allergy and eczema. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013; 13(3): 280-6.
- Laffargue C. Intérêt des probiotiques dans la prévention de pathologies et conseils à l'officine, 2015, Toulouse.
- Landman C. , Quévrain E., Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de Médecine Interne*. 2016; 37: 418–423.
- Langhendries J-P., Paquay T., Hannon M., Darimont J. Acquisition de la flore intestinale néonatale : rôle sur la morbidité et perspectives thérapeutiques. *Archives de Pédiatrie*. 1998; 5(6): 644-653.
- Laursen M-F., Andersen L-B., Michaelsen K-F., Molgaard C., Trolle E., Bahl M-I., Licht T-R. Infant gut microbiota development is driven by transition to family foods independent of maternal obesity. *mSphere*. 2016; 1(1): e00069-15.
- Lay C., Sutren M., Rochet V., Saunier K., Doré J., Rigottier-Gois L. Design and validation of 16S rRNA probes to enumerate members of the *Clostridium leptum* subgroup in human faecal microbiota. *Environmental Microbiology*. 2005; 7(7): 933-46.
- Layden B-T., Angueira A-R., Brodsky M., Durai V., Lowe W-L Jr. Short chain fatty acids and their receptors: new metabolic targets. *Transl Res*. 2013; 161(3): 131-40.
- Le Bourgot C. La supplémentation périnatale en fibres prébiotiques (fructo-oligosaccharides à courte chaîne, scFOS) modifie le microbiote intestinal et programme le phénotype métabolique et immunitaire du porc, pris comme modèle de l'Homme. *Alimentation et Nutrition*, 2016, Agrocampus Ouest, Rennes.
- Leclercq S., et al. Intestinal permeability, gut-bacterial dysbiosis, and behavioral markers of alcohol-dependence severity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014; 111(42): E4485-4493
- Lee Y-K., Ho P-S., Low C-S., Arvilommi H., Salminen S. Permanent colonization by *Lactobacillus casei* is hindered by the low rate of cell division in mouse gut. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004; 70(2): 670-4.
- Lee Y-K., Menezes J-S., Umesaki Y., Mazmanian S-K. Proinflammatory T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011; 108(1): 4615-22.
- Le Huërou-Luron I., Blat S., Boudry G. Breast- v. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. *Nutr Res Rev*. 2010; 23(1): 23-36.

Lehner M., Bailo M., Stachel D., Roesler W., Parolini O., Holter W. Caspase-8 dependent apoptosis induction in malignant myeloid cells by TLR stimulation in the presence of IFN α . *Leukemia Research*. 2007; 31: 1729-1735.

Lemas D-J., et al. Alterations in human milk leptin and insulin are associated with early changes in the infant intestinal microbiome. *Am J Clin Nutr*. 2016; 103(5): 1291-300.

Li J., et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nature Biotechnology*. 2014; 32(8): 834-41.

Li Y., Innocentin S., Withers D-R., Roberts N-A., Gallagher A-R., Grigorieva E-F., Wilhelm C., Veldhoen M. Exogenous stimuli maintain intraepithelial lymphocytes via aryl hydrocarbon receptor activation. *Cell*. 2011; 147(3): 629-40.

Lichtenstein A-H. Intestinal cholesterol metabolism. *Ann Med*. 1990; 22: 49–52.

Lichtenstein G-R., et al. Management of Crohn's Disease in Adults. *Am J Gastroenterol*. 2009; 104(2): 465-83.

Liévin-Le Moal V., Servin A-L. The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: mucins, antimicrobial peptides, and microbiota. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19(2): 315-37.

Lindberg E., Adlerberth I., Hesselmar B., Saalman R., Strannegård I-L., Aberg N., Wold A-E. High rate of transfer of *Staphylococcus aureus* from parental skin to infant gut flora. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42(2): 530-4.

Lindner C. et al. Diversification of memory B cells drives the continuous adaptation of secretory antibodies to gut microbiota. *Nature immunology*. 2015; (16): 880-8.

Liong M-T. Safety of probiotics: translocation and infection. *Nutr Rev*. 2008; 66(4): 192-202.

Lis-Kuberka J., Orczyk-Pawłowicz M. Sialylated Oligosaccharides and Glycoconjugates of Human Milk. The Impact on Infant and Newborn Protection, Development and Well-Being. *Nutrients*. 2019; 11(2): 306.

Liu Q., Duan Z-P., Ha D-K., Bengmark S., Kurtovic J., Riordan S-M. Symbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2004; 39(5): 1441-9.

Liu H-Q., et al. NOD2-mediated innate immune signalling regulates the eicosanoids in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013; 33(9): 2193–2201.

Löser C., Eisel A., Harms D., Fölsch U-R. Dietary polyamines are essential luminal growth factors for small intestinal and colonic mucosal growth and development. *Gut*. 1999; 44: 12–16.

Louie T-J., Miller M-A., Crook D-W., Lentnek A., Bernard L., High K-P., Shue Y-K., Gorbach S-L. Effect of age on treatment outcomes in *Clostridium difficile* infection. *J Am Geriatr Soc*. 2013; 61(2): 222-30.

Louis E., Marteau P., *Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin*, 2009, DOIN.

Lovell R-M., Ford A-C. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2012; 10: 712–721.

Marchiando A-M., et al. Caveolin-1-dependent occludin endocytosis is required for TNF-induced tight junction regulation in vivo. *J Cell Biol*. 2010; 189: 111–26.

- Lukas M., Bortlik M., Maratka Z. What is the origin of ulcerative colitis? Still more questions than answers. *Postgrad Med J.* 2006; 82(972): 620-5.
- Lundequist B., Nord C-E., Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle-fed infants from birth to eight weeks. *Acta Paediat Scand.* 1985; 74: 45-51.
- Machiels K., et al. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut.* 2014; 63(8): 1275-83.
- Macia L., et al. Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nature Communications.* 2015; 6: 6734.
- Macpherson A-J., Harris N-L. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nature Reviews Immunology.* 2004; 4(6): 478-85.
- Macpherson A-J., Uhr T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science.* 2004; 303(5664): 1662-5.
- Makino H. et al. Transmission of intestinal *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* strains from mother to infant, determined by multilocus sequencing typing and amplified fragment length polymorphism. *Appl Environ Microbiol.* 2011; 77(19): 6788-93.
- Makino H., et al. Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS One.* 2013; 8(11): e78331.
- Martín R., Heilig H-G., Zoetendal E-G., Jiménez E., Fernández L., Smidt H., Rodríguez J-M. Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk among healthy women. *Res Microbiol.* 2007; 158(1): 31-7.
- Maslowski K-M., Vieira A-T., Ng A., Kranich J., Sierro F., Yu D., Schilter H-C., Rolph M-S., Mackay F., Artis D., Xavier R-J., Teixeira M-M., Mackay C-R. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature.* 2009; 461(7268): 1282-6.
- Matsumoto M., Kurihara S., Kibe R., Ashida H., Benno Y. Longevity in mice is promoted by probiotic-induced suppression of colonic senescence dependent on upregulation of gut bacterial polyamine production. *PLoS ONE.* 2011; 6: e23652.
- Mazmanian S-K., Liu C-H., Tzianabos A-O., Kasper D-L. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell.* 2005; 122(1): 107-18.
- McFarland L-V., Elmer G-W., Surawicz C-M. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97(7): 1769-75.
- McGuckin M-A., Lindén S-K., Sutton P., Florin T-H. Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nature Reviews, Microbiology.* 2011; 9(4): 265-78.
- Megerlina F., Fouassier E. Le transfert de microbiote intestinal à finalité thérapeutique : quel droit applicable en France ? *Annales Pharmaceutiques Françaises.* 2014; 72 (5): 363-374.
- Menni C., et al. Gut microbial diversity is associated with lower arterial stiffness in women. *European Heart Journal.* 2018; 39(25): 2390–2397.

- Milani C., et al. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2017; 81(4): e00036-17,
- Miller T-L., Wolin M-J. Pathways of acetate, propionate, and butyrate formation by the human fecal microbial flora. *Appl Environ Microbiol.* 1996; 62(5): 1589-92.
- Minois N., Carmona-Gutierrez D., Madeo F. Polyamines in aging and disease. *Aging (Albany NY).* 2011; 3: 716–732.
- Mir H., et al. Occludin deficiency promotes ethanol-induced disruption of colonic epithelial junctions, gut barrier dysfunction and liver damage in mice. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2016; 1860(4): 765-74.
- Mirande C. Dégradation des fibres pariétales et système xylanolytique de *Bacteroides xylanisolvens* XB1AT et *Roseburia intestinalis* XB6B4, espèces bactériennes du microbiote intestinal humain, 2009, Clermont-Ferrand.
- Montgomery S-M., Morris D-L., Pounder R-E., Wakefield A-J. Asian ethnic origin and the risk of inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1999; 11(5): 543-6.
- Morin S. Influence de la présence et de la composition du microbiote intestinal sur le développement et la prévention des allergies alimentaires. 2012, Université René Descartes, Paris V.
- Moro G., Minoli I., Mosca M., Fanaro S., Jelinek J., Stahl B., Boehm G. Dosage-related bifidogenic effects of galacto- and fructooligosaccharides in formula-fed term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002; 34(3): 291-5.
- Mosoni P. Dégradation des fibres alimentaires par le microbiote colique de l'Homme. *Innovations Agronomiques.* 2014; 36: 83-96.
- Moynagh P-N. TLR signalling and activation of IRFs : revisiting old friends from the NFkappaB pathway. *Trends in Immunology.* 2005; 26: 469-476.
- Mullié C., Yazourh A., Thibault H., Odou M-F., Singer E., Kalach N., Kremp O., Romond M-B. Increased poliovirus-specific intestinal antibody response coincides with promotion of *Bifidobacterium longum-infantis* and *Bifidobacterium breve* in infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatr Res.* 2004; 56(5): 791-5.
- Mulligan P., White N-R., Monteleone G., Wang P., Wilson J-W., Ohtsuka Y., Sanderson I-R. Breast milk lactoferrin regulates gene expression by binding bacterial DNA CpG motifs but not genomic DNA promoters in model intestinal cells. *Pediatr Res.* 2006; 59(5): 656-61.
- Nemoto H., Kataoka K., Ishikawa H., Ikata K., Arimochi H., Iwasaki T., Ohnishi Y., Kuwahara T., Yasutomo K. Reduced diversity and imbalance of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci.* 2012; 57(11): 2955-64.
- Nguyen G-C., et al. Inflammatory bowel disease characteristics among African Americans, Hispanics, and non-Hispanic Whites: characterization of a large North American cohort. *Am J Gastroenterol.* 2006; 101(5): 1012-23.
- Niess J-H., Leithäuser F., Adler G., Reimann J. Commensal gut flora drives the expansion of proinflammatory CD4 T cells in the colonic lamina propria under normal and inflammatory conditions. *J Immunol.* 2008; 180(1): 559-68.

- Odes H-S., et al. Effects of current cigarette smoking on clinical course of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Dig Dis Sci*. 2001; 46: 1717–21.
- Okai S., Usui F., Ohta M., Mori H., Kurokawa K., Matsumoto S., Kato T., Miyauchi E., Ohno H., Shinkura R. Intestinal IgA as a modulator of the gut microbiota. *Gut Microbes*. 2017; 8(5): 486-492.
- Okai S., et al. High-affinity monoclonal IgA regulates gut microbiota and prevents colitis in mice. *Nat Microbiol*. 2016; 1(9): 16103.
- Orbie J. L'importance d'une flore intestinale mature équilibrée sur la santé de l'Homme, 2015, Lille.
- Orenstein R., Griesbach C-L., DiBaise J-K. Moving fecal microbiota transplantation into the mainstream. *Nutr Clin Pract*. 2013; 28(5): 589-98.
- Orrhage K., Nord C-E. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. *Acta Paediatr Suppl*. 1999; 88(430): 47-57.
- Olszak T., et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science*. 2012; 336(6080): 489-93.
- Owens C., Broussard E., Surawicz C. Fecal microbiota transplantation and donor standardization. *Trends Microbiol*. 2013; 21(9): 443-5.
- Palmer C., Bik, E-M., DiGiulio, D-B., Relman, D-A., and Brown, P-O. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biology*. 2017; 5(7): e177.
- Pascal M., et al. Microbiome and Allergic Diseases. *Frontiers in Immunology*. 2018; 9 :1584.
- Penders J., Thijs C., Vink C., Stelma F-F., Snijders B., Kummeling I., van den Brandt P-A., Stobberingh E-E. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 2006; 118(2): 511-21.
- Pépin J., Valiquette L., Alary M-E., Villemure P., Pelletier A., Forget K., Pépin K., Chouinard D. Clostridium difficile-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *Canadian Medical Association Journal*. 2004; 171(5): 466-72.
- Perez-Cano F-J., González-Castro A., Castellote C., Franch A., Castell M. Influence of breast milk polyamines on suckling rat immune system maturation. *Developmental and Comparative Immunology*. 2010; 34: 210–218.
- Peterson D-A., McNulty N-P., Guruge J-L., Gordon J-I. IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. *Cell host & microbe*. 2007; 2: 328-339.
- Peyrin-Biroulet L., Loftus E-V Jr., Colombel J-F., Sandborn W-J. The natural history of adult Crohn's disease in population-based cohorts. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105: 289–97.
- Pinn D., Aroniadis O., Brandt L. Follow-up study of fecal microbiota transplantation (FMT) for the treatment of refractory irritable bowel syndrome (IBS). *American Journal of Gastroenterology*. 2013; 108: 163.
- Planer J-D., Peng Y., Kau A-L., Blanton L-V., Ndao I-M., Tarr P-I., Warner B-B., Gordon J-I. Development of the gut microbiota and mucosal IgA responses in twins and gnotobiotic mice. *Nature*. 2016; 534(7606): 263-6.
- Prantera C., Scribano M-L., Falasco G., Andreoli A., Luzi C. Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease : A randomised controlled trial with Lactobacillus GG. *Gut*. 2002; 51: 405-9.

- Price A-B., Davies D-R. Pseudomembranous colitis. *Journal of Clinical Pathology*. 1977; 30(1): 1–12.
- Pryde S-E., Duncan S-H., Hold G-L., Stewart C-S., Flint H-J. The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiol Lett*. 2002; 217: 133–9.
- Rahimi R., Nikfar S., Rahimi F., Elahi B., Derakhshani S., Vafaie M., Abdollahi M. A meta-analysis on the efficacy of probiotics for maintenance of remission and prevention of clinical and endoscopic relapse in Crohn's disease. *Dig Dis Sci*. 2008; 53: 2524-31.
- Rahmouni O., Dubuquoy L., Desreumaux P., Neut, C. Microbiote intestinale et développement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, *Med Sci (Paris)*. 2016; 32 (11): 968-973.
- Rakoff-Nahoum S., Paglino J., Eslami-Varzaneh F., Edberg S., Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*. 2004; 118(2): 229-41.
- Rimbaud J-C., Buts J-P., Corthier G. Flore microbienne intestinale : Physiologie et pathologie digestives, 2004; John Libbey Eurotext.
- Rao K., Safdar N. Fecal microbiota transplantation for the treatment of Clostridium difficile infection. *Journal of Hospital Medicine*. 2016; 11(1): 56-61.
- Razani-Boroujerdi S., et al. T cells express alpha7-nicotinic acetylcholine receptor subunits that require a functional TCR and leukocyte-specific protein tyrosine kinase for nicotine-induced Ca²⁺ response. *J Immunol*. 2007; 179(5): 2889-98.
- Remot A, et al. Bacteria isolated from lung modulate asthma susceptibility in mice. *The ISME Journal*. 2017; 11(5): 1061-1074.
- Richaud-Patin Y., Soto-Vega E., Llorente L. The gut: beyond immunology. *Reumatol Clin*. 2005; 1(2): 121-8.
- Ridaura V-K., et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*. 2013; 341(6150): 1241214.
- Ridlon J-M., Kang D-J., Hylemon P-B. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J Lipid Res*. 2006; 47: 241–59.
- Riley M-A., Wertz J-E. Bacteriocins: evolution, ecology, and application. *Annu Rev Microbiol*. 2002; 56: 117-37.
- Rinne M-M., Gueimonde M., Kalliomäki M., Hoppu U., Salminen S-J., Isolauri E. Similar bifidogenic effects of prebiotic-supplemented partially hydrolyzed infant formula and breastfeeding on infant gut microbiota. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2005; 43(1): 59-65.
- Round J-L., Mazmanian S-K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2009; 9(5): 313-23.
- Rooks M-G., Garrett W-S. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2016; 16(6): 341-52.
- Rudloff S., Kunz C. Milk Oligosaccharides and Metabolism in Infants. *Adv Nutr*. 2012; 3(3): 398S–405S.

- Sakata H., Yoshioka H., Fujita K. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *European Journal of Pediatrics*. 1985; 144(2): 186-90.
- Sandler R-H., Finegold S-M., Bolte E-R, Buchanan C-P., Maxwell A-P., Väisänen M-L, Nelson M-N., Wexler H-M. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *Journal of Child Neurology*. 2000; 15: 429-35.
- Sansonetti P-J. Effet de barrière du microbiote: symbiose et antibiose. 2017. Collège de France, Paris.
- Sasaki M., et al. Invasive *Escherichia coli* are a feature of Crohn's disease. *Lab Invest*. 2007; 87(10): 1042-54. Epub 2007 Jul 30.
- Schwartz J-R., et al. A comprehensive pathophysiology of dandruff and seborrheic dermatitis - towards a more precise definition of scalp health. *Acta Dermato-Venereologica*. 2013; 93(2): 131–137.
- Schwartz A., Taras D., Schafer K., Beijer S., Bos N-A., Donus C., Hardt P-D. Microbiota and scfa in lean and overweight healthy subjects. *Obesity*. 2010; 18(1): 190-195.
- Sczesnak A., Segata N., Qin X., Gevers D., Petrosino J-F., Huttenhower C., Littman D-R., Ivanov I-I. The genome of th17 cell-inducing segmented filamentous bacteria reveals extensive auxotrophy and adaptations to the intestinal environment. *Cell Host Microbe*. 2011; 10(3): 260-72.
- Segal LN., et al. Enrichment of the lung microbiome with oral taxa is associated with lung inflammation of a Th17 phenotype. *Nature Microbiology*. 2016; 1: 16031.
- Sela D-A., Li Y., Lerno L., Wu S., Marcobal A-M., German J-B., Chen X., Lebrilla C-B., Mills D-A. An infant-associated bacterial commensal utilizes breast milk sialyloligosaccharides. *J Biol Chem*. 2011; 286(26): 23620.
- Shi M-J., Stavnezer J. CBF alpha3 (AML2) is induced by TGF-beta1 to bind and activate the mouse germline Ig alpha promoter. *Journal of immunology*. 1998; 161: 6751-6760.
- Singh N., et al. Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity*. 2014; 40: 128–139.
- Singh N., Thangaraju M., Prasad P-D., Martin P-M., Lambert N-A., Boettger T., Offermanns S., Ganapathy V. Blockade of dendritic cell development by bacterial fermentation products butyrate and propionate through a transporter (Slc5a8)-dependent inhibition of histone deacetylases. *Journal of Biological Chemistry*. 2010; 285: 27601–27608.
- Slack E., et al. Innate and adaptive immunity cooperate flexibly to maintain host-microbiota mutualism. *Science*. 2009; 325: 617-620.
- Slavin J-L. Dietary fiber and body weight. *Nutrition*. 2005; 21(3): 411-418.
- Smith P-M., Howitt M-R., Panikov N., Michaud M., Gallini C-A., Bohlooly-Y M., Glickman J-N., Garrett W-S. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science*. 2013; 341: 569–573.
- Sokol H., et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008; 105: 16731–36.

- Sommer F., Bäckhed F. The gut microbiota--masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol.* 2013; 4: 227-38.
- Sorrentino D. Microbial dysbiosis in spouses of ulcerative colitis patients: Any clues to disease pathogenesis? *World J Gastroenterol.* 2017; 23(37): 6747-6749.
- Söderholm J-D., Olaison G., Peterson K-H., Franzén L-E., Lindmark T., Wirén M., Tagesson C., Sjö Dahl R. Augmented increase in tight junction permeability by luminal stimuli in the non-inflamed ileum of Crohn's disease. *Gut.* 2002; 50(3): 307-13.
- Sood A., Midha V., Makharia G-K., Ahuja V., Singal D., Goswami P., Tandon R-K. The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2009; 7(11): 1202-9, 1209.e1.
- Spehlmann M-E., Begun A-Z., Burghardt J., Lepage P., Raedler A., Schreiber S. Epidemiology of inflammatory bowel disease in a German twin cohort: results of a nationwide study. *Inflamm Bowel Dis.* 2008; 7: 968-76.
- Standaert-Vitse A., Jouault T., Vandewalle P., Mille C., Seddik M., Sendid B., Mallet J-M., Colombel J-F., Poulain D. *Candida albicans* is an immunogen for anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody markers of Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2006; 130(6): 1764-75.
- Sukonina V., Lookene A., Olivecrona T., Olivecrona G. Angiopoietin-like protein 4 converts lipoprotein lipase to inactive monomers and modulates lipase activity in adipose tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2006; 103(46): 17450-17455.
- Swidsinski A., Weber J., Loening-Baucke V., Hale L-P., Lochs H. Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(7): 3380-9.
- Swords W-E., Wu C-C., Champlin F-R., Buddington R-K. Postnatal changes in selected bacterial groups of the pig colonic microflora. *Biology of the neonate.* 1993; 63(3): 191-200.
- Tan T-G., et al. Identifying species of symbiont bacteria from the human gut that, alone, can induce intestinal Th17 cells in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2016; 113(50): E8141-E8150.
- Tanaka S., Kobayashi T., Songjinda P., Tateyama A., Tsubouchi M., Kiyohara C., Shirakawa T., Sonomoto K., Nakayama J. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2009; 56(1): 80-7.
- Tao R., de Zoeten E-F., Ozkaynak E., Chen C., Wang L., Porrett P-M., Li B., Turka L-A., Olson E-N., Greene MI., Wells A-D., Hancock W-W. Deacetylase inhibition promotes the generation and function of regulatory T cells. *Nat Med.* 2007; 13(11): 1299-307.
- Teo S-M., et al. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. *Cell Host Microbe.* 2015; 17(5): 704-15.
- Teixeira T-F., Grzeskowiak L., Franceschini S-C., Bressan J., Ferreira C-L., Peluzio M-C. Higher level of faecal scfa in women correlates with metabolic syndrome risk factors. *The British journal of nutrition.* 2013; 109(5): 914-919.
- Thaiss C-A., Zmora N., Levy M., Elinav E. The microbiome and innate immunity. *Nature.* 2016; 535(7610): 65-74.

Thia K-T., Sandborn W-J., Harmsen W-S., Zinsmeister A-R., Loftus E-V Jr. Risk factors associated with progression to intestinal complications of Crohn's disease in a population-based cohort. *Gastroenterology*. 2010; 139: 1147–55.

Tian H., Ge X., Nie Y., Yang L., Ding C., McFarland L-V., Zhang X., Chen Q., Gong J., Li N. Fecal microbiota transplantation in patients with slow-transit constipation: A randomized, clinical trial. *PloS One*. 2017; 12(2): e0171308

Tolhurst G., Heffron H., Lam Y-S., Parker H-E., Habib A-M., Diakogiannaki E., Cameron J., Grosse J., Reimann F., Gribble F-M. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*. 2012; 61(2): 364-71.

Tomoda K., Kubo K., Asahara T., Andoh A., Nomoto K., Nishii Y., Yamamoto Y., Yoshikawa M., Kimura H., Cigarette smoke decreases organic acids levels and population of bifidobacterium in the caecum of rats. *J Toxicol Sci*. 2011; 36(3): 261-6.

Trompette A., Gollwitzer E-S., Yadava K., Sichelstiel A-K., Sprenger N., Ngom-Bru C., Blanchard C., Junt T., Nicod L-P., Harris N-L, Marsland B-J. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nature Medicine*. 2014; 20:159–166.

Turnbaugh P-J., Bäckhed F., Fulton L., Gordon J-I. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe*. 2008; 3(4): 213-23.

Turnbaugh P-J., Ley R-E., Mahowald M-A., Magrini V., Mardis E-R., Gordon J-I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006 ; 444(7122): 1027-1031.

Ueki A., Otsuka M. Lifestyle risks of Parkinson's disease: association between decreased water intake and constipation. *Journal of Neurology*. 2004; 251: 18-23.

Underwood M-A., German J-B., Lebrilla C-B., Mills D-A. *Bifidobacterium longum* subspecies *infantis*: champion colonizer of the infant gut. 2015; 77(1-2): 229-35.

Umesaki Y., Setoyama H., Matsumoto S., Imaoka A., Itoh K. Differential roles of segmented filamentous bacteria and clostridia in development of the intestinal immune system. *Infect Immun*. 1999; 67(7): 3504-11.

Ungaro R., Bernstein C-N., Geary R., Hviid A., Kolho KL., Kronman M-P., Shaw S., Van Kruiningen H., Colombel J-F., Atreja A. Antibiotics associated with increased risk of new-onset Crohn's disease but not ulcerative colitis: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2014; 109(11): 1728-38.

Ungaro R., Mehandru S., Allen P-B., Peyrin-Biroulet L., Colombel J-F. Ulcerative colitis. *The Lancet*. 2017; 389(10080): 1756-70.

FDA. Enforcement Policy Regarding Investigational New Drug Requirements for Use of Fecal Microbiota for Transplantation to Treat *Clostridium difficile* Infection Not Responsive to Standard Therapies, 2016.

Vallès Y., Artacho A., Pascual-Garcia A., Ferrus M-L., Gosalbes M-J., Abellan J-J., Francino M-P. Microbial succession in the gut : directional trends of taxonomic and functional change in a birth cohort of Spanish infants. *PLoS Genet*. 2014; 10(6): e1004406.

Van der Sluis M., De Koning B-A., De Bruijn A-C., Velcich A., Meijerink J-P., Van Goudoever J-B., Büller H-A., Dekker J., Van Seuningen I., Renes I-B., Einerhand A-W. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology*. 2006; 131(1): 117-29.

- Van Nood E., et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *The New England Journal of Medicine*. 2013; 368: 407-15.
- Vanhoutte T., Huys G., Brandt E., Swings J. Temporal stability analysis of the microbiota in human feces by denaturing gradient gel electrophoresis using universal and group-specific 16S rRNA gene primers. *FEMS Microbiol Ecol*. 2004; 48: 437-46.
- Vaishampayan P-A., Kuehl J-V., Froula J-L., Morgan J-L., Ochman H., Francino M-P. Comparative metagenomics and population dynamics of the gut microbiota in mother and infant. *Genome biology and evolution*. 2010; 2: 53-66.
- Varela E., Manichanh C., Gallart M., Torrejón A., Borrueal N., Casellas F., Guarner F., Antolin M. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013; 38(2): 151-61.
- Venus M., Waterman J., McNab I. Basic physiology of the skin. 2011. *Surgery*; 29(10): 471–474.
- Vester-Andersen M-K., et al. Increased abundance of proteobacteria in aggressive Crohn's disease seven years after diagnosis. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 13473
- Vinolo M-A., Rodrigues H-G., Hatanaka E., Sato F-T., Sampaio S-C., Curi R. Suppressive effect of short-chain fatty acids on production of proinflammatory mediators by neutrophils. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2011; 22:849–855.
- Vrieze A, et al. Transfer of Intestinal Microbiota From Lean Donors Increases Insulin Sensitivity in Individuals With Metabolic Syndrome. *Gastroenterology*. 2012; 143(4): 913-916.
- Wang H., Zhao J-X., Hu N., Ren J., Du M., Zhu M-J. Side-stream smoking reduces intestinal inflammation and increases expression of tight junction proteins. *World J Gastroenterol*. 2012; 18(18): 2180-7.
- Ward R-E., Niñonuevo M., Mills D-A., Lebrilla C-B., German J-B. In vitro fermentability of human milk oligosaccharides by several strains of bifidobacteria. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2007; 51: 1398–1405.
- Weber C-R., Raleigh D-R., Su L., Shen L., Sullivan E-A., Wang Y., Turner J-R. Epithelial myosin light chain kinase activation induces mucosal interleukin-13 expression to alter tight junction ion selectivity. *J Biol Chem*. 2010; 285(16): 12037-46.
- West C-E. Gut microbiota and allergic disease: new findings. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2014; 17(3): 261-6.
- West C-E., Rydén P., Lundin D., Engstrand L., Tulic M.K, Prescott S-L. Gut microbiome and innate immune response patterns in IgE-associated eczema. *Clinical and Experimental Allergy*. 2015; 45(9): 1419-29.
- Willemsen L-E-M., Koetsier M-A., Van Deventer S-J-H., Van Tol E-A-F. Short chain fatty acids stimulate epithelial mucin 2 expression through differential effects on prostaglandin E1 and E2 production by intestinal myofibroblasts. *Gut*. 2003; 52: 1442–1447.
- Willing B-P., Dicksved J., Halfvarson J., Andersson A-F., Lucio M., Zheng Z., Järnerot G., Tysk C., Jansson J-K., Engstrand L. A pyrosequencing study in twins shows that gastrointestinal microbial profiles vary with inflammatory bowel disease phenotypes. *Gastroenterology*. 2010; 139(6): 1844-1854.e1

- Wrzosek L., et al. *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biol.* 2013; 11: 61.
- Wu GD., et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science.* 2011; 334 (6052): 105–8.
- Yamanaka T., Helgeland L., Farstad I-N., Fukushima H., Midtvedt T., Brandtzaeg P. Microbial colonization drives lymphocyte accumulation and differentiation in the follicle-associated epithelium of Peyer's patches. *J Immunol.* 2003; 170(2): 816-22.
- Yan A-W., Fouts D-E., Brandl J., Stärkel P., Torralba M., Schott E., Tsukamoto H., Nelson K-E., Brenner D-A., Schnabl B. Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease. *Hepatology.* 2011; 53(1): 96-105.
- Yanagibashi T., et al. IgA production in the large intestine is modulated by a different mechanism than in the small intestine: *Bacteroides acidifaciens* promotes IgA production in the large intestine by inducing germinal center formation and increasing the number of IgA+ B cells. *Immunobiology.* 2013; 218(4): 645-51.
- Yang Y., et al. Focused specificity of intestinal TH17 cells towards commensal bacterial antigens. *Nature.* 2014; 510(7503): 152-6.
- Yassour M., et al. Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. *Sci Transl Med.* 2016; 8(343): 343ra81.
- Zar F-A., Bakkanagari S-R., Moorthi K-M., Davis M-B. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clin Infect Dis.* 2007; 45(3): 302-7.
- Zeissig S., Bürgel N., Günzel D., Richter J., Mankertz J., Wahnschaffe U., Kroesen A-J., Zeitz M., Fromm M., Schulzke J-D. Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut.* 2007; 56(1): 61-72.
- Zelante T., et al. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22. *Immunity.* 2013; 39: 372–385.
- Zhang F., Luo W., Shi Y. Fan Z., Ji G. Should we standardize the 1700- year-old fecal microbiota transplantation? *Am J Gastro.* 2012; 107(1755): 1755-6.
- Zocco M-A., et al. Efficacy of *Lactobacillus GG* in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 23(11): 1567-74.

Sites Internet (par ordre d'apparition)

1. <http://dridk.me/metagenomique.html>, Sacha Schultz, Introduction à la métagénomique
2. (<http://jacob.cea.fr/drf/ francoisjacob/Pages/Departements/Genoscope/Les-projets-de-Genoscope/METAHIT.aspx>)
3. <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>)
4. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Actinobacteria>
5. http://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli
6. https://www.snfge.org/sites/default/files/SNFGE/Formation/chap-13_fondamentaux-pathologie-digestive_octobre-2014.pdf
7. <https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/medecine-lait-maternel-source-bacteries-bienfaitrices-48511/>
8. <http://chimphys.smauernco.free.fr/pages%20chimphys/BTS/DM1/Les%20fibres%20naturelles.pdf>
9. <https://slideplayer.com> (diapositive : <https://slideplayer.com/slide/5664160/>)
10. <https://www.3trois3.com/articles/immunit%C3%A9-digestive-du-porcelet-sous-la-m%C3%A8re-et-sevr%C3%A9-361/>
11. http://virologie.free.fr/documents/virologie/06-CMH_2/CMH_II.htm
12. <https://www.cours-pharmacie.com/immunologie/activation-des-lymphocytes.html>
13. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Bact%C3%A9riocine> (Page 55)
14. <https://microbenotes.com/immunoglobulin-a-iga-structure-subclasses-and-functions/>
15. http://aipu2010rabat.refer.org/raisil/raisil/L02_files/page82-16.-immunit%C3%A9-muqueuse.pdf
16. <http://antibiotiques-tpe-by-eca.e-monsite.com/pages/conditions-d-actions-1.html>
17. <http://vanaroms47.canalblog.com/archives/2015/11/16/32938517.html>
18. <https://www.afa.asso.fr/categorie/maladie-de-crohn-rch.html>
19. https://fr.wikipedia.org/wiki/Burrill_Bernard_Crohn.
20. <http://hepatoweb.com/Crohn-Frequence.php>

21. <http://www.observatoire-crohn-rch.fr/les-mici-en-france/>
22. <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/rectocolite-hemorragique/definition-facteurs-favorisants>
23. <https://www.digestscience.com/fr/pathologies/rectocolite-hemorragique-rch>
24. <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/rectocolite-hemorragique/definition-facteurs-favorisants>
25. <https://eurekasante.vidal.fr/maladies/estomac-intestins/rectocolite-hemorragique.html>
26. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Stachyose>
27. https://www.ameli.fr/bouches-du-rhone/assure/sante/themes/eczema-contact/reconnaitre-eczema-contact#text_4206
28. <https://www.who.int/topics/obesity/fr/>
29. <http://dietetique.1ere-page.net/calculer-son-imc-indice-de-masse-corporelle/>
30. http://invs.santepubliquefrance.fr/beh/2016/35-36/2016_35-36_5.html.
31. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
32. <https://www.who.int/features/qa/49/fr/>
33. <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-french-2011.pdf>
34. https://www.vidal.fr/Medicament/ultra_levure-16997-pharmacocinetique.htm
35. https://www.fmcgastro.org/textes-postus/no-postu_year/diarrhee-post-antibiotiques/
36. <https://www.gftf.fr/49+parcours-de-soin-donneur.html>
37. http://www.cpias-auvergnerhonealpes.fr/Antennes/Auvergne/Journee/2014/15_04_14/8_transplantation_microbiote_fecale.pdf
38. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Corn%C3%A9ocyte>
39. <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/peau/acne>
40. <https://blogglophys.wordpress.com/2016/10/07/appareil-respiratoire/>
41. https://svt-ccc.pagesperso-orange.fr/5/5_part1_ch2.html
42. <http://www.isto.ucl.ac.be/safe/resp1.htm>

43. <https://bpco-asso.com/dossier-le-microbiote-respiratoire-kezaco/>.
44. https://hal-pasteur.archives-ouvertes.fr/pasteur-01349062/file/Annexe_Microbiote.pdf
45. <https://www.universalis.fr/encyclopedie/microbiome-et-sante/5-le-microbiote-pulmonaire/>

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**

- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**

- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.**

- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.