



**HAL**  
open science

## Exposition antigénique dans la petite enfance: intérêt à l'officine

David Castagnet

► **To cite this version:**

David Castagnet. Exposition antigénique dans la petite enfance: intérêt à l'officine. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02431844

**HAL Id: dumas-02431844**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02431844>**

Submitted on 8 Jan 2020

**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.

**U.F.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

Année 2020

Thèse n°21

Thèse pour l'obtention du

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement

Par CASTAGNET David

Né le 09/07/1992 à SAINT-DOULCHARD

le 17/12/2019

**EXPOSITION ANTIGÉNIQUE DANS LA PETITE ENFANCE:  
INTÉRÊT A L'OFFICINE.**

Directrice de thèse :

Docteur Dorothee DULUC

Membres du Jury :

- Maria MAMANI-MATSUDA (Présidente : PU Immunologie, PhD)
- Jacqueline DULIN (Examinatrice : Pharmacien d'officine)
- Fabienne LUCHESE (Examinatrice : Assistante Universitaire)

## REMERCIEMENTS

En premier lieu, je tiens à adresser ma gratitude à Madame DULUC qui a accepté de m'apporter son aide et ses précieux conseils pour ce travail fastidieux.

Je remercie Madame MAMMANI-MATSUDA d'avoir accepté de présider le jury.

Je remercie les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail qui clôture six années d'études.

Je remercie l'ensemble des enseignants de l'Université et de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques pour leurs enseignements.

Je remercie également les membres de l'équipe de la pharmacie de CAPEYRON qui m'ont apporté leur aide lors de mon stage en officine.

Je remercie enfin ma famille qui m'a apporté son soutien durant six années jusqu'à la soutenance de cette thèse.

# SOMMAIRE

<b>Remerciements</b>	(p.2)
<b>Sommaire</b>	(p.3)
<b>Liste des figures</b>	(p.7)
<b>Objectifs de la thèse</b>	(p.9)

## **CHAPITRE 1 : Contexte et Immaturité du système immunitaire d'un nouveau-né.**

<b>1) Contexte global et généralités.</b>	(p.10)
1.1) Généralités sur la réponse immunitaire.	(p.10)
1.1.1) La réponse innée	(p.11)
1.1.2) La réponse adaptative ou spécifique	(p.11)
1.1.2.1) Réponse adaptative à médiation humorale.	(p.13)
1.1.2.2) Réponse adaptative à médiation cellulaire.	(p.13)
1.1.3) Régulation de la réponse immunitaire.	(p.13)
1.2) Le contexte particulier du nouveau-né.	(p.14)
<b>2) L'immaturité des réponses immunitaires après la naissance.</b>	(p.15)
2.1) L'Immaturité du système immunitaire inné.	(p.16)
2.2) L'immaturité des lymphocytes et du système immunitaire adaptatif.	(p.17)
2.3) Vers la maturité immunitaire	(p.22)
<b>3) Rôle de la mère dans les premiers temps de vie</b>	(p.23)
3.1) Transferts placentaires	(p.23)
3.1.1) Récepteur spécifique placentaire du fragment Fc	(p.24)
3.1.2) Passage placentaire des IgG au cours du temps	(p.27)
3.1.3) Immunisation maternelle et passage des IgG	(p.27)
3.2) Le lait maternel	(p.28)
3.2.1) Le colostrum	(p.28)
3.2.2) Le lait mature	(p.29)

## **CHAPITRE 2 : Exposition aux antigènes du monde extérieur et Microbiome : intérêts et implications pour la vie future**

<b>1) Généralités.</b>	(p.31)
<b>2) Apparition, mise en place et implications des flores commensales</b>	(p.32)
2.1) Apparition de flores commensales propres au nouveau-né	(p.33)
2.2) La colonisation spécifique des différents territoires de l'organisme.	(p.37)
2.2.1) Le cas de la peau.	(p.37)
2.2.2) Le cas de l'intestin	(p.41)
2.2.2.1) L'exposition aux antigènes du microbiote intestinal dans l'éducation du système immunitaire	(p.42)
2.2.2.2) Quels effets, quels constats en l'absence de microbiote ?	(p.43)
2.2.2.3) Comportement des acteurs locaux de l'immunité	(p.46)
2.2.2.4) Relations entre microbiote et production d'immunoglobulines	(p.49)
2.2.3) Au niveau des voies Respiratoires	(p.55)

## **CHAPITRE 3 : L'Exposition antigénique dans les théories hygiénistes.**

<b>1) Données épidémiologiques et exposition aux pathogènes</b>	(p.58)
<b>2) Théorie hygiéniste</b>	(p.61)
2.1) Naissance de l'hypothèse	(p.61)
2.2) Mode d'action dans la théorie hygiéniste selon David Strachan	(p.61)
2.3) Limites et remise en cause de la théorie de Strachan	(p.63)
<b>3) Description de la théorie des vieux amis</b>	(p.64)
3.1) Naissance de l'hypothèse	(p.64)
3.2) Mécanismes d'action des vieux amis	(p.67)
3.3) De quels changements d'exposition parle-t-on ?	(p.68)

3.4) De quels vieux amis parle-t-on ?	(p.68)
3.5) Conséquences de l'hypothèse des vieux amis	(p.70)
<b>4) Le cas des helminthes</b>	(p.71)
4.1) État des lieux de l'exposition aux helminthes.	(p.71)
4.2) Mécanismes des helminthes pour influencer les réponses immunitaires (p.72)	
4.2.1) Étude des cellules dendritiques.	(p.73)
4.2.2) Étude des réponses Th1/Th2/Th17	(p.75)
4.2.3) Étude des lymphocytes B	(p.77)
4.2.4) Étude des macrophages M2	(p.77)
<b>5) Importance d'une exposition en début de vie</b>	(p.78)

## **CHAPITRE 4 : Exposition antigénique ciblée: la vaccination**

<b>1) Objectifs de la vaccination</b>	(p.82)
<b>2) Réponse physiologique à la vaccination</b>	(p.84)
2.1) Réponse B et production d'anticorps	(p.84)
2.2) Réponse B et vaccination	(p.88)
2.3) Autres types de réponses à la vaccination	(p.90)
2.3.1) De l'importance de la réponse innée à un antigène vaccinal	(p.90)
2.3.2) L'importance de la mémoire des cellules T	(p.91)
2.4) Des particularités selon le type de vaccin	(p.92)
<b>3) Exposition spécifique aux antigènes vaccinaux dans le contexte d'un système immunitaire immature</b>	(p.94)
<b>4) Intérêt de l'exposition antigénique par la vaccination: diversification du répertoire d'anticorps</b>	(p.97)
<b>5) Effets non spécifiques de l'exposition antigénique par la vaccination</b>	(p.98)

## **CHAPITRE 5 : Exposition antigénique dans la petite enfance : intérêt officinal**

<b>1) Fenêtre de susceptibilité et d'opportunité</b>	(p.103)
<b>2) Influence du mode d'accouchement</b>	(p.104)
2.1) Contexte	(p.104)
2.2) Conséquences microbiennes de la césarienne	(p.104)
2.3) Conséquences cliniques pour les enfants nés par césarienne	(p.106)
<b>3) Nutrition : allaitement et lait maternisé</b>	(p.108)
<b>4) L'environnement</b>	(p.110)
4.1) Statut socio-économique	(p.110)
4.2) Le contact avec la biodiversité	(p.111)
<b>5) Exposition aux antibiotiques</b>	(p.114)
5.1) Contexte	(p.114)
5.2) Action sur le microbiome	(p.115)
5.3) Preuves expérimentales	(p.116)
<b>6) L'hygiène</b>	(p.118)
6.1) Contexte actuel	(p.118)
6.2) De quelle hygiène s'agit-il ?	(p.119)
6.3) Hygiène et infection	(p.122)
<b>7) Futures thérapies et probiotiques</b>	(p.123)
7.1) Utilisation de prébiotiques	(p.124)
7.2) Traitements par probiotiques	(p.125)
7.3) Thérapies symbiotiques	(p.125)
7.4) L'utilisation des helminthes	(p.126)
7.5) L'importance constante de l'âge	(p.127)
<b>CONCLUSION</b>	(p.128)

## LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : L'immunité innée et adaptative dans le temps lors d'une infection. (p.10)*
- Figure 2: La mémoire immunitaire. (p.12)*
- Figure 3 : Niveaux d'anticorps de l'enfant au cours du temps de la période in utero à 18 mois. (p.15)*
- Figure 4: Activation des cellules B et production d'anticorps. (p.18)*
- Figure 5 : Voies d'activation des Lymphocytes B. (p.20)*
- Figure 6 : Concentrations totales en IgG dans des échantillons de sérum de cordon de nouveau-nés en fonction du temps (semaines de gestation). (p.24)*
- Figure 7: Transferts d'IgG de la mère au fœtus à travers le syncytiotrophoblaste. (p.25)*
- Figure 8: Structure schématique d'une immunoglobuline (A), et du récepteur FcRn (B). (p.26)*
- Figure 9: Composition du microbiote en fonction de la localisation corporelle. (p.34)*
- Figure 10: Établissement du microbiote au cours des premières années de vie. (p.36)*
- Figure 11: Colonisation de la peau par des cellules Treg induisant la tolérance aux bactéries commensales. (p.38)*
- Figure 12 : Induction par le microbiote de la différenciation cellulaire en cellule régulatrice ou effectrice Treg/Teff. (p.47)*
- Figure 13 : Développement des follicules lymphoïdes isolés. (p.48)*
- Figure 14: Contrôle du système immunitaire par le microbiote. (p.53)*
- Figure 15 : Rôle du microbiote dans la maturation du système immunitaire intestinal. (p.54)*
- Figure 16: Chronologie des hypothèses traitant de l'influence de l'exposition globale aux antigènes de l'environnement. (p.57)*
- Figure 17 : Deux grandes tendances mondiales en matière de biodiversité et de santé publique. (p.58)*
- Figure 18 : Augmentation séquentielle de trois pathologies allergiques au cours du temps. (p.59)*
- Figure 19 : Nombre de patients consultants pour des troubles asthmatiques en Angleterre et au Pays de Galles sur une période d'une cinquantaine d'années. (p.60)*
- Figure 20 : Incidence des pathologies infectieuses et inflammatoires au cours du temps. (p.61)*

*Figure 21 : Immuno-modulation par les microbes. (p.66)*

*Figure 22 : Capacités d'immuno-régulation des helminthes. (p.73)*

*Figure 23 : Activité des cellules dendritiques dans la théorie des vieux amis. (p.74)*

*Figure 24 : La tolérance immunitaire en fonction de l'âge. (p.80)*

*Figure 25: Efficacité des vaccins en France. (p.83)*

*Figure 26 : Schéma simplifié des réponses T-dépendantes et T-indépendantes. (p.86)*

*Figure 27 : Catégories et caractéristiques physico-chimiques des vaccins. (p.93)*

*Figure 28 : Equilibre entre microbes et système immunitaire de la grossesse à la petite enfance. (p.100)*

*Figure 29 : Interventions améliorant globalement la défense de l'hôte contre les maladies infectieuses au début de la vie. (p.102)*

*Figure 30 : Facteurs d'altération de l'interaction avec les organismes immunorégulateurs. (p.112)*

## **OBJECTIFS DE LA THÈSE**

Les maladies immunitaires telles que les allergies ou les pathologies auto-immunes sont causées notamment par une conjonction de facteurs génétiques et environnementaux, et sont un enjeu de santé publique de par l'augmentation de leur prévalence au cours des dernières décennies.

Il s'avère que l'exposition aux antigènes de l'environnement extérieur après la naissance et durant la petite enfance pourrait être un des facteurs impliqués dans l'apparition de pathologies immunitaires diverses plus tard dans la vie.

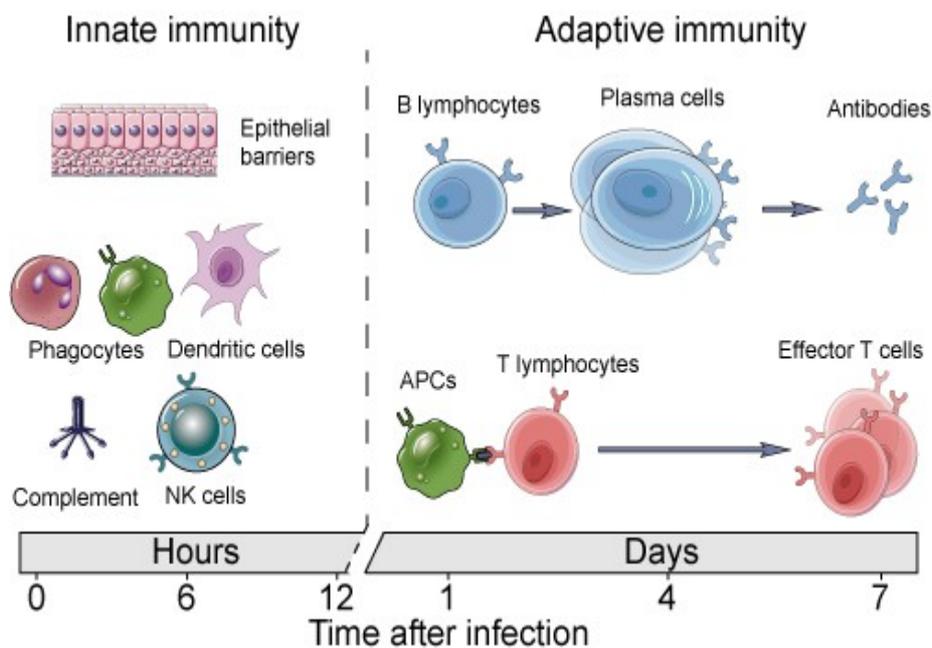
Cette thèse propose donc d'effectuer une revue des connaissances en la matière, en étudiant les divers aspects de l'exposition antigénique durant la petite enfance et d'étudier les liens qui peuvent exister avec la survenue de ce type de pathologies à un âge plus avancé, en exposant diverses théories pouvant expliquer ces phénomènes.

# CHAPITRE 1 : Contexte et Immaturité du système immunitaire d'un nouveau-né.

## 1) Contexte global et généralités.

### 1.1) Généralités sur la réponse immunitaire.

Sans détailler, présentons brièvement les grandes lignes d'une réponse immunitaire. La réponse par les cellules B sera revue plus tard dans le cadre de la réponse vaccinale.



**Figure 1 : L'immunité innée et adaptative dans le temps lors d'une infection.**

Figure adaptée de [www.creative-diagnostics.com/innate-and-adaptive-immunity.htm](http://www.creative-diagnostics.com/innate-and-adaptive-immunity.htm) consulté le 03/06/2019.

Lors d'une infection par un agent pathogène, le système immunitaire déclenche une réaction dans laquelle il y a intervention de cellules immunitaires dont le rôle est de détruire l'antigène (Ag) étranger. (figure 1). Les mécanismes de l'immunité innée fournissent la première ligne de défense face aux infections. Les réponses immunitaires adaptatives se

développent plus tard, sont spécifiques de l'antigène et nécessitent l'activation des lymphocytes. (figure 1)

### **1.1.1) La réponse innée**

La première réaction du système immunitaire après une agression par un agent pathogène consiste à mettre en œuvre l'immunité innée, non spécifique du pathogène, afin de l'éliminer. La réponse immunitaire innée fait suite à un signal émis après l'interaction entre des récepteurs du soi appelés PRR (Pattern Recognition Receptors) et des molécules du non-soi appelées PAMP (Pathogen Associated Molecular Patterns). Cette réponse est immédiate, elle reste fonctionnelle environ 4 jours et nécessite l'action de cellules phagocytaires telles que les macrophages, capables d'ingérer et tuer un agent pathogène. Cette réponse innée voit aussi intervenir les monocytes, et les cellules dendritiques, ou encore les polynucléaires neutrophiles. Suite au signal mettant en œuvre le système inné, il y a mise en place d'une inflammation ou l'on observe la sécrétion de facteurs solubles, les cytokines, telles que le TNF- $\alpha$ , les chimiokines et les interleukines IL-1, IL-6, IL-12 et IL18 qui permettent le recrutement des cellules immunitaires sur le site inflammatoire. (1)

Après cette réaction inflammatoire, les cellules dendritiques locales capturent le micro-organisme. Des morceaux de protéines de celui-ci sont alors présentées à la surface des cellules présentatrices de l'antigène. Cette exposition se fait au sein du complexe majeur d'histocompatibilité ou CMH, qui piège le peptide antigénique. Les cellules dendritiques ensuite vers des organes lymphoïdes, comme les ganglions lymphatiques où elles vont rencontrer des lymphocytes T immatures.

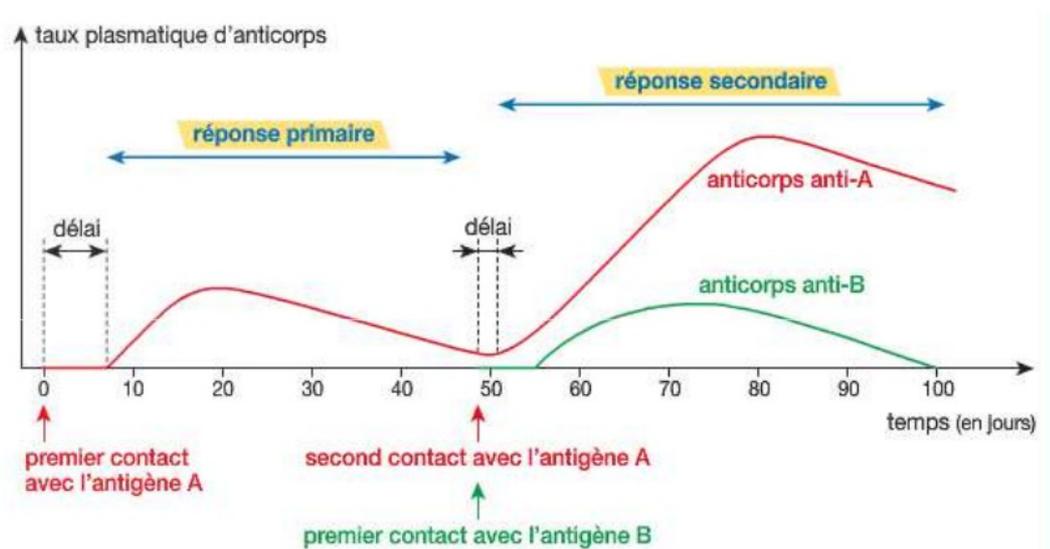
### **1.1.2) La réponse adaptative ou spécifique**

Si la défense de l'hôte par l'immunité innée s'avère être insuffisante, la réponse immunitaire adaptative ou acquise, prend le relais. Contrairement à l'immunité innée elle est spécifique du pathogène. En effet, les cellules lymphocytaires ont à leur surface des récepteurs d'antigène spécifiques qui reconnaissent les antigènes d'un micro-organisme pour déclencher leur réaction.

Il existe deux types de lymphocytes : les lymphocytes T et B. Les lymphocytes T comprennent eux les lymphocytes T CD4 et les lymphocytes T CD8. Les premiers dits

« helpers » ou auxiliaires, ont un rôle de régulation de la réponse adaptative. Les LT CD8 évoluent en LT cytotoxiques.

Les lymphocytes B sont des cellules spécialisées impliquées dans cette la réponse adaptative. Ils sont capables de produire des anticorps spécifiques de l'antigène porté par l'agent pathogène, qui persistent après l'infection pour éviter une ré-infection immédiate. De plus, ces lymphocytes sont la base de l'immunité de long terme, générée après le succès de la réponse apportée contre le pathogène. La réaction lors d'un rencontre ultérieure avec le même micro-organisme sera plus rapide et plus puissante (figure 2). (1)



**Figure 2: La mémoire immunitaire.**

La figure montre les réponse primaire et secondaire lors de contact avec un antigène de micro-organisme pathogène. La réponse secondaire, grâce à la mémoire immunitaire des lymphocytes B, est plus efficace et plus rapide que la réponse primaire. Figure adaptée du cours « Phénotype immunitaire au cours de la vie » de l'Université de Grenoble.

Les LT CD4+ ont à leur surface le récepteur CD4 et le TCR qui interagit avec le peptide antigénique présenté par le CMH de classe II des cellules dendritiques. Cela entraîne l'activation des LT CD4+ qui produisent alors l'interleukine 2 (IL2) qui induit la prolifération puis la différenciation de ces LT en lymphocytes T helpers, eux mêmes sécrétant des molécules activant d'autres cellules immunitaires.

### **1.1.2.1) Réponse adaptative à médiation humorale.**

La reconnaissance de l'antigène par le LB naïf est la première étape de cette réponse : c'est la sélection clonale. Ce LB va alors proliférer de façon clonale, tous les clones présenteront à leur surface le même anticorps membranaire. Une partie de ces lymphocytes se transforme alors en plasmocytes sécréteurs d'anticorps, et l'autre en cellules mémoires. Les anticorps produits et sécrétés par les plasmocytes vont alors former avec l'antigène des complexes immuns qui seront éliminés par phagocytose ou ADCC (ou par cyotoxicité médiée par le complément). La réponse par les cellules B sera détaillée ultérieurement (paragraphe 2.2).

### **1.1.2.2) Réponse adaptative à médiation cellulaire.**

Les cellules présentatrices d'antigène activent les lymphocytes T CD4 et T CD8. Une fois l'antigène présenté à la surface de ces cellules, les lymphocytes ayant sur leur membrane les récepteurs T complémentaires à l'antigène donné sont sélectionnés et activés à l'aide de signaux de co-activation. Les lymphocytes T CD4 activés se multiplient puis se différencient en lymphocytes T helpers ou deviennent des lymphocytes T mémoires de durée de vie plus longue.

Une fois activés par les LT CD4 helpers, les lymphocytes T CD8 se multiplient et se différencient en lymphocytes T cytotoxiques qui en libérant les perforines entraînent la lyse d'une cellule infectée par un virus.

### **1.1.3) Régulation de la réponse immunitaire.**

Afin d'éviter d'endommager les cellules et tissus sains au cours de la réaction immunitaire, il convient de la réguler et d'y mettre un terme une fois l'agent infectieux neutralisé en inhibant l'activité des cellules effectrices. Ainsi, par exemple, les Lymphocytes T régulateurs permettent par leur action anti-inflammatoire de conclure la réaction. En effet, ils sécrètent notamment des molécules immunosuppressives telles que l'IL-10 et le TGF $\beta$ . (2)

## **1.2) Le contexte particulier du nouveau-né.**

Le nouveau-né vient d'un environnement utérin stérile et nécessite donc par la suite une maturation pour atteindre les performances d'un système immunitaire efficace.

Il est ensuite rapidement exposé à une multitude d'antigènes à la naissance et dans la petite enfance, principalement par les infections qu'il subit, et également par les vaccinations qui lui sont faites. (3)

L'exposition initiale aux bactéries se fait par le passage dans le canal génital, puis dès qu'il établit un contact buccal, cutané et respiratoire avec l'extérieur. A partir de la naissance, l'exposition aux antigènes des micro-organismes est continue. Une grande partie des bactéries qui colonisent le tractus intestinal et les sites muqueux de l'organisme sont essentielles pour assurer certaines fonctions vitales, notamment pour la digestion. Ils ont également un impact important sur le développement du système immunitaire. (4,5)

Le système immunitaire d'un adulte n'est pas le même que celui d'un nouveau-né ou d'un enfant dans les premiers mois de vie. En effet, la maturation du système immunitaire d'un être humain est un processus long de plusieurs années qui a pour objectif notamment de permettre à celui-ci de se défendre face à des agressions extérieures de pathogènes tels que les bactéries, virus, parasites. De nombreuses différences existent tant sur les plans des organes composant ce système immunitaire, des cellules et des molécules, que sur le plan de l'organisation et de la physiologie d'une réponse à une agression de l'environnement. La caractéristique principale de l'immunité d'un nouveau-né est d'être tournée vers la tolérance de son environnement, puisque le fœtus a évolué dans un milieu protégé des antigènes extérieurs. Or à la naissance, la contamination par des agents pathogènes devient possible.

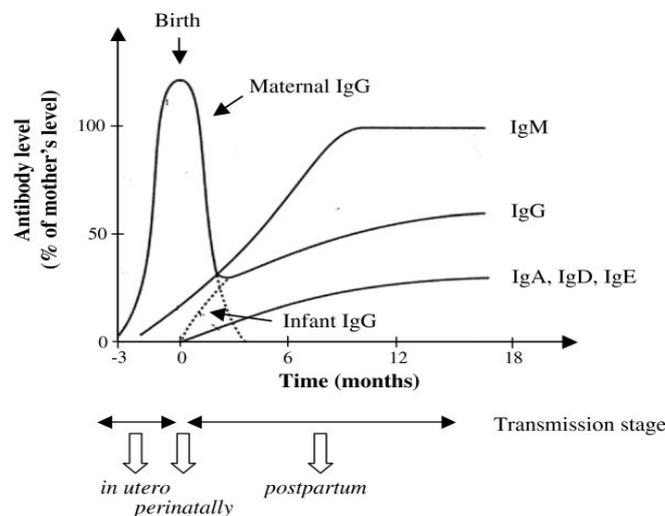
L'immaturation à la naissance des fonctions de l'immunité acquise d'un être humain concerne par exemple les lymphocytes T et B, leurs capacités de reconnaissance d'un antigène, les molécules sécrétées par ces cellules notamment les immunoglobulines par les lymphocytes B. Ces Immunoglobulines (Ig) ou anticorps sont des protéines solubles ou membranaires capables de reconnaître et de se lier à des antigènes. Cette somme de déficits augmente la susceptibilité aux infections et rend donc l'individu vulnérable à certaines infections potentiellement graves. (5,6)

Dans les premières années de vie, les multiples stimulations au contact des antigènes de l'environnement contribuent à la maturation du système immunitaire dans son ensemble, c'est à dire que toutes les composantes du système, qu'elles soient cellulaires ou moléculaires

iront dans le sens d'une augmentation de leurs capacités et de leurs performances. Elles seront ainsi capables de reconnaître, prendre en charge et neutraliser un agent pathogène, et de constituer une mémoire immunitaire acquise vis-à-vis d'eux lui assurant une protection de longue durée. De plus, cette mémoire immunitaire permettra, lors d'une rencontre ultérieure avec les antigènes les plus représentés dans l'environnement, de déclencher une réponse efficace immédiate, limitant ainsi la capacité de l'agresseur à se propager et à se répliquer.

## **2) L'immaturation des réponses immunitaires après la naissance.**

Les anticorps maternels transférés par voie transplacentaire participent à la protection du nouveau-né contre les organismes pathogènes. (figure 3) La protection passive conférée par ces anticorps a une courte durée de vie et tend à diminuer jusqu'à se dissiper lorsque l'enfant atteint l'âge de 6 mois. A titre d'exemple la protection par les anticorps maternels des nouveau-nés est de 3,3 mois pour la rougeole, 2,7 mois pour les oreillons, 3,9 mois pour la rubéole et 3,4 mois pour la varicelle. (5, 7)



**Figure 3 : Niveaux d'anticorps de l'enfant au cours du temps de la période in utero à 18 mois.** La figure montre les niveaux d'anticorps du nourrisson in utero, périnatale ou postpartum. Après la naissance, les IgG transférées de la mère disparaissent progressivement, alors qu'en parallèle la quantité d'IgG produite par le nourrisson augmente. Le placenta est relativement imperméable aux Ig des autres classes, dont les niveaux sont donc plus bas chez le nouveau-né. Figure adaptée de Martine Braibant et al, 2013.

Comme montré dans la figure 3 ci-dessus, la protection précoce contre des micro-organismes pathogènes précédemment rencontrés et éliminés par la mère est assurée par des anticorps, les IgG transférés passivement par voie transplacentaire et dans le lait maternel après la naissance. Les jeunes enfants sont davantage susceptibles de contracter des infections une fois cette protection maternelle terminée, même si les systèmes immunitaires innés et adaptatifs continuent leur maturation. Les vaccinations, qui stimulent les réponses immunitaires protectrices du système immunitaire en cours de maturation, réduisent considérablement les risques. Néanmoins, les enfants peuvent toujours contracter des infections qui doivent être combattues et contrôlées par des réponses immunitaires. Cette stimulation antigénique permet le développement d'une mémoire immunologique. (8,9)

Ainsi, au fil du temps, la protection fournie par la réponse immunitaire augmente et les jeunes adultes sont moins infectés. Cette accumulation de mémoire immunologique est une caractéristique évolutive de la réponse immunitaire adaptative.

La mémoire persiste jusqu'à un âge avancé, permettant une protection de long terme, bien qu'elle puisse ensuite s'estomper. (8)

### **2.1) L'Immaturité du système immunitaire inné.**

Chez les nouveau-nés, les monocytes et les macrophages, comme beaucoup d'autres types cellulaires et fonctions associées, sont immatures. Ils ont une expression moindre de TLR4 (toll like receptor), qui est corrélée à une diminution significative de la sécrétion d'IL-1, d'IL-6 et de TNF $\alpha$  lors d'une stimulation expérimentale par lipopolysaccharide (LPS) dans le sang total. Cette faible expression de TLR4 augmente la susceptibilité aux infections notamment par des bactéries à Gram négatif en raison de l'absence de cytokines pour stimuler la réponse immunitaire initiale. (10)

De plus, la voie de signalisation intracellulaire est altérée. Yan SR et al ont montré qu'il existait une relation directe entre la sécrétion de TNF $\alpha$  chez l'adulte et le nouveau-né et MyD88, qui est une protéine adaptatrice couplée à TLR4. Or, chez le nouveau-né cette protéine est quantitativement réduite dans les monocytes, et, par conséquent, la sécrétion du TNF $\alpha$  est retardée et diminuée dans les monocytes du nouveau-né, notamment en réponse au LPS. (11,12, 13)

Les nouveau-nés, et particulièrement les prématurés, ont une altération de la fonction des neutrophiles, exposant ainsi l'enfant à un risque d'infections bactériennes. (14)

En effet, Nussbaum et al ont montré que des neutrophiles matures ont une capacité bactéricide plus faible. Ils sont présents à la fin du premier trimestre et leur nombre augmente en fin de grossesse. Les réponses aux stimuli inflammatoires sont aussi plus faibles, et ils présentent une mauvaise adhésion aux cellules endothéliales ainsi qu'une chimiotaxie diminuée. (15)

Les cellules dendritiques myéloïdes du nouveau-né ont une capacité réduite à induire des réponses Th1 et des lymphocytes CD8+ cytotoxiques, ce qui est en corrélation avec une susceptibilité accrue aux infections. En effet, les nouveaux-nés ont un nombre moins important de ce type cellulaire et expriment des niveaux plus faibles de HLA classe II, de molécules de co-stimulation comme CD80 et CD86 par rapport au cellules adultes. (16)

De plus, les sécrétions d'IL-12 sont moindres par rapport à l'adulte en réponse à l'activation de stimuli innés. (17) Les cellules dendritiques plasmacytoïdes du nouveau-né, quant à elles, ont une capacité de sécrétion d'interféron alpha et bêta (IFN  $\alpha$  /  $\beta$ ) moindre après stimulation par TLR7 et TLR9, que chez l'adulte et de ce fait, les réactions immunitaires innées contre des virus tels que le virus respiratoire syncytial, le virus de l'herpès simplex et le cytomégalovirus sont altérées. (18)

Le nouveau-né présente aussi une capacité cytolytique réduite des cellules Natural Killer NK qui ne représente que la moitié de celle de l'adulte. Ce type cellulaire est moins sensible à l'activation par IL-2 et IL-15 et produit des concentrations limitées d'IFN- $\gamma$ . (19)

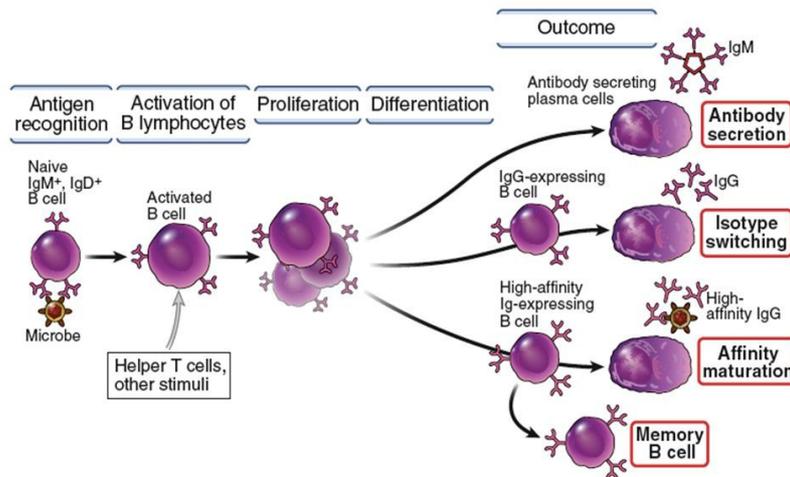
Pour ce qui est des composants du complément, dont les fonctions sont de participer à l'opsonisation et la lyse cellulaire, les concentrations dans le sang chez le nouveau-né de presque tous les composants en circulation sont de 10 à 80% inférieures à celles observées chez l'adulte, le système étant sous-développé avec une activité biologique réduite. (20)

On sait que le complément des nouveau-nés a une capacité réduite à lyser directement les bactéries par la voie terminale commune, mais également une capacité réduite à recruter par chimiotactisme des leucocytes innés et adaptatifs à des sites de transmission microbienne, et une capacité réduite à augmenter la phagocytose.

## **2.2) L'immaturation des lymphocytes et du système immunitaire adaptatif.**

Le système immunitaire du nouveau né présente certaines caractéristiques qui diffèrent par rapport à celui d'un adulte et qui expliquent son immaturité. L'activation des lymphocytes B peut se faire avec ou sans l'aide de lymphocytes T (figures 4 et 5) :

## B cell activation and antibody production



**Figure 4: Activation des cellules B et production d'anticorps.**

Extrait de « L'Immunologie de base, fonctions et troubles du système immunitaire », 3e édition, Abbas et Lichtman, 2011.

- L'activation thymo-indépendante ne dépend pas de l'action des lymphocytes T helpers pour produire les anticorps. Cette réponse est par conséquent plus rapide que la réponse thymo-dépendante. Les antigènes thymo-indépendants sont donc classés en deux catégories. Les antigènes thymo-indépendants de type 1 sont capables d'activer directement la prolifération des lymphocytes B. Ces molécules induisent la prolifération et la différenciation des lymphocytes B, quelle que soit leur spécificité. Il s'agit d'une activation polyclonale. Les antigènes thymo-indépendants de type 2 n'induisent pas de commutation isotypique, de maturation augmentant l'affinité ou de cellules B mémoires.

L'activation de type 2 entraîne au contraire une activation monoclonale des LB par la reconnaissance de polysaccharides de surface répétitifs sur la paroi des bactéries.

- l'activation thymo-dépendante, suite à l'interaction antigène/BCR induit des signaux de stimulation qui permettent l'internalisation de ce complexe et la dégradation de l'antigène. Cette activation induit aussi des signaux de co-stimulation, nécessaire à une activation totale, par le biais de co-récepteurs qui amplifient le signal. Les lymphocytes B activés reçoivent alors des signaux de prolifération induits par les lymphocytes T helpers folliculaires qui se multiplient, certains d'entre eux étant capables de produire des IgM, immunoglobulines de basse affinité pour l'antigène. Les autres cellules continuent leur multiplication pour former des centres germinatifs. Ces lymphocytes connaissent alors un phénomène d'hypermutation

somatique, qui consiste en la mutation des gènes codant pour les parties variables de chaînes lourdes et légères des immunoglobulines. Ces cellules exprimeront désormais un BCR qui reconnaît un seul antigène avec une forte affinité.

Il y a ensuite une nouvelle interaction avec les LT helpers qui conduit à la formation de plasmocytes sécrétant d'anticorps de haute affinité pour l'antigène, avec une commutation de classe possible en IgA, IgG, ou IgE sous l'influence de l'environnement cytokinique produit par le LT. L'interaction avec ce dernier permet aussi de former des cellules B mémoires qui peuvent sans temps de latence sécréter des anticorps de haute affinité pour un antigène spécifique. (21,22)

Les nouveau-nés sont capables de produire certaines réponses similaires à celles des adultes notamment par les cellules T et les cellules B, mais des différences qualitatives et quantitatives ont été observées après des primo-infections par des virus. En outre, les nouveau-nés ont des centres germinatifs sous-développés. Ces centres sont des compartiments anatomiques situés dans les organes lymphoïdes secondaires que sont les ganglions et la rate et dans lesquels les lymphocytes B matures prolifèrent, effectuent leur commutation isotypique, mutent leurs gènes d'immunoglobulines en réponse à une infection. A la naissance, ils ont de plus une faible expression des marqueurs d'activation des lymphocytes B, notamment CD21, CD40, CD80 et CD86, ce qui se traduit par de faibles niveaux de réponses primaires en IgG aux infections et aux vaccins. (6, 23)

Au niveau des lymphocytes B, deux types cellulaires se distinguent par des voies de développement différentes. (24) (Figure 5)

Les lymphocytes B de la zone marginale sont capables de sécréter des IgM de faible affinité avec une gamme limitée de spécificités antigéniques et présentent moins de mutations somatiques, ne constituant qu'une première ligne de défense. (25) Ces lymphocytes produisent et sécrètent des interleukines telles que l'IL-10 et TGF- $\beta$ , orientant la réaction vers une réponse Th2. À la naissance, les lymphocytes B marginaux comprennent 40% des lymphocytes B du sang périphérique et cette proportion reste élevée pendant quelques mois. (26)

Les lymphocytes B « classiques », eux, proviennent d'un progéniteur lymphoïde commun et génèrent un bien plus large répertoire d'immunoglobulines. Ces lymphocytes B sont généralement présents dans les organes lymphoïdes secondaires et dans la moelle osseuse, où elles contribuent à la réponse humorale du système immunitaire adaptatif. (5)

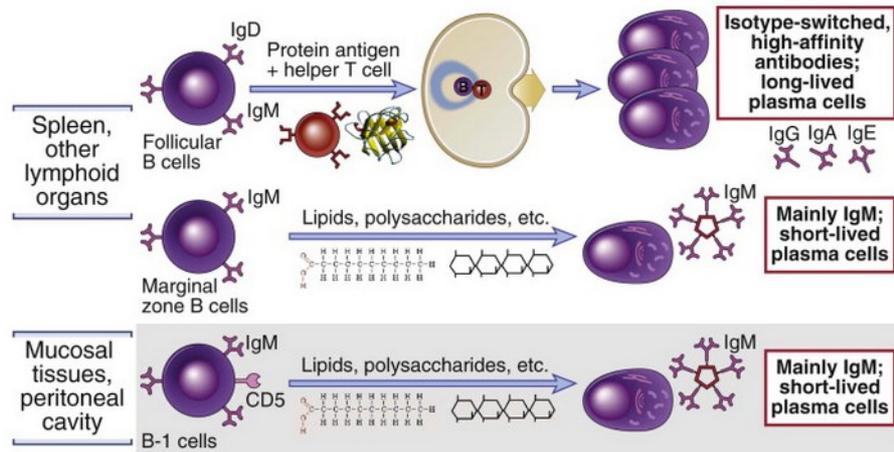


FIGURE 7-2

**Figure 5 : Voies d'activation des Lymphocytes B.**

Extrait de « L'Immunologie de base, fonctions et troubles du système immunitaire », 3e édition, Abbas et Lichtman, 2011.

La maturation des lymphocytes T et l'acquisition de la tolérance du « soi » durant l'enfance se fait dans le thymus qui est un organe lymphoïde primaire spécialisé dans cette maturation, et qui atteint sa taille maximale à la puberté avant d'involuer à l'âge adulte. Dans cet organe, les lymphocytes immatures d'origine médullaire subissent une différenciation cellulaire pour acquérir le récepteur des cellules T, le TCR et les marqueurs CD4/CD8.

Les lymphocytes T à la naissance présentent des déficits capacitaires en comparaison aux cellules adultes, et sont à l'image de la vie fœtale, où l'exposition aux antigènes étrangers est largement limitée aux allo-antigènes maternels. La fonction des lymphocytes T au début de la vie est différente de celle des cellules T adultes. En effet, les lymphocytes T CD4 + naïfs fœtaux ont tendance à s'engager dans la voie de différenciation lymphocytes T régulateurs Foxp3 + CD25 + (cellules T régulatrices ou Treg) du fait de l'action du TGF- $\beta$ , ce qui conduit à un profil de tolérance immunitaire, empêchant ainsi la réaction immunitaire optimale pour le développement de la mémoire immunitaire. (27)

Ce type de lymphocyte au niveau périphérique représente environ 3% de la population totale de lymphocytes T CD4 + à la naissance et ces cellules persistent pendant une période prolongée, engageant la réponse immunitaire précoce vers un profil anti-inflammatoire. L'immunité très tôt dans la vie des cellules T est donc caractérisée par une réactivité tolérogène, une reconnaissance réduite de l'antigène et une faible réponse aux antigènes de l'environnement. (28, 29, 30)

Certaines réponses humorales mettant en œuvre des immunoglobulines, et dirigées contre les protéines bactériennes, les polysaccharides bactériens et les vaccins conjugués polysaccharide-protéine, dépendent de l'activation par des lymphocytes T.

Ces réponses dépendent de liaisons effectuées par le TCR et les co-récepteurs comme CD28 et CD40 sur les lymphocytes T helpers Th2 ou folliculaires avec leurs partenaires de liaison correspondants : peptide HLA, CD80 / 86 et CD40 sur les cellules B spécifiques de l'antigène. Cependant, les cellules B néonatales expriment de faibles taux de ces co-récepteurs ce qui tend à limiter sensiblement leur capacité à répondre de manière optimale. (31)

Les cellules B néonatales sont fonctionnellement déficientes pour produire des anticorps lors de ce type de stimulation, notamment par un polysaccharide pneumococcique. (32)

Les réponses T-indépendantes mettent en jeu les lymphocytes B seuls, sans lymphocyte T associé. Quel que soit l'âge d'un individu, ce type de réponse immunitaire cible des molécules bactériennes situées sur leur paroi comme les polysaccharides. Les bactéries ciblées sont par exemple le pneumocoque, le méningocoque, l' Haemophilus qui sont des bactéries encapsulées. L'immaturation immunitaire d'un nouveau-né est ici flagrante puisque ce type de réponse n'est visible qu'après l'âge de deux ans, et sont quasi inexistantes avant 18 mois. Combinées, ces caractéristiques déficitaires des cellules et mécanismes immunitaires du nouveau-né contribuent à atténuer les réponses immunitaires humorales, avec en plus une commutation de classe d'immunoglobuline incomplète, bien que des cellules mémoires B puissent être générées (33, 34). Les cellules B des nouveau-nés âgés de moins de 2 mois sont dotés d'une hypermutation somatique réduite par rapport aux adultes, limitant ainsi la maturation par affinité des anticorps (35). Enfin, les cellules stromales de la moelle osseuse dans les premiers mois de vie ne peuvent maintenir la survie à long terme des plasmablastes et la différenciation des plasmocytes, de sorte que tout anticorps IgG produit diminue rapidement après une vaccination, contrairement aux enfants plus âgés et aux adultes (36). Par conséquent, l'efficacité du système immunitaire adaptatif à réagir face aux agressions extérieures, et particulièrement aux antigènes dépendants des cellules T, est nettement altérée chez les nouveau-nés par rapport aux enfants plus âgés et aux adultes.

La difficulté évidente des nouveaux-nés à produire des anticorps est due à de multiples paramètres intrinsèques telles que l'immaturation des cellules B, un répertoire de cellules B médiocre ou une force réduite de la signalisation BCR. Les cellules B néonatales montrent de plus des différences d'internalisation de l'antigène par rapport aux adultes amenant à une mauvaise prise en charge de celui-ci (6, 37, 38). La capacité limitée des cellules B néonatales

à répondre à la stimulation de l'antigène peut également être liée à une expression plus élevée des régulateurs négatifs de la signalisation du BCR. De plus, des défauts dans la voie de signalisation nucléaire notamment au niveau de NF-KB entraînent également un retard de maturation dans les cellules B néonatales et des défauts dans la commutation d'isotypes en réponse à des antigènes thymo-dépendants (39, 40). Tous ces facteurs contribuent à une voie de signalisation BCR défectueuse et à un déficit de maturation des réponses des cellules B chez les nouveau-nés.

### **2.3) Vers la maturité immunitaire**

Au fil du temps, le répertoire immunitaire se constitue grâce à l'exposition aux antigènes de l'environnement par le biais d'infections et de vaccinations. Les infections par des micro-organismes pathogènes peuvent se traduire par des symptômes dont souffrent l'enfant, mais pour de nombreux virus, tels que la grippe, l'infection peut présenter une symptomatologie légère, mais néanmoins suffisante pour stimuler ou renforcer les réponses immunitaires (41). La protection offerte par la réponse immunitaire, caractérisée par l'action d'immunoglobulines des lymphocytes B, et par les lymphocytes T permet que la plupart des infections contractées durant l'enfance ne surviennent qu'une fois, ou soit rapidement prise en charge et maîtrisée en cas d'exposition ultérieure (8, 9). La mémoire à long terme des lymphocytes B mémoires est primordiale étant donné que la demi-vie in vivo des immunoglobulines IgG est d'environ 25 jours (42). Les lymphocytes B différenciés en plasmocytes producteurs d'anticorps qui se développent au cours d'une réponse immunitaire migrent vers la moelle osseuse, où ils peuvent rester plusieurs dizaines d'années. Il peut y avoir une régénération continue des cellules B mémoires en contact avec des cellules T helpers persistantes. Les antigènes particuliers persistent pendant des années dans les ganglions lymphatiques, retenus par les cellules dendritiques folliculaires. (43) La persistance des antigènes et les antigènes à réactivité croisée aident à maintenir ces cellules B en vie, se divisant à l'occasion et sécrétant des anticorps.

### **3) Rôle de la mère dans les premiers temps de vie**

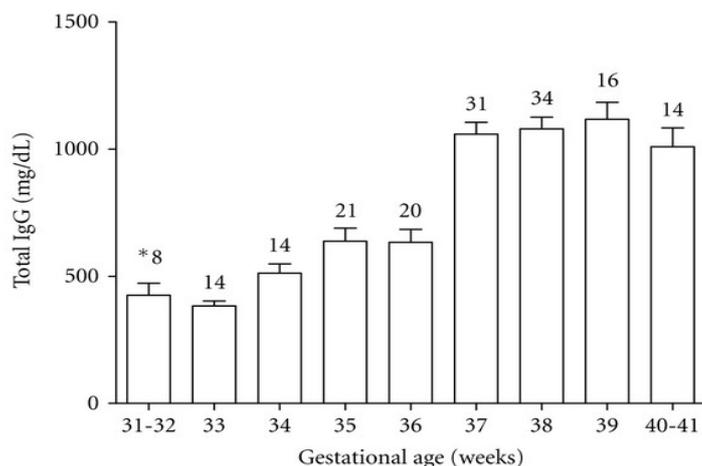
Lors de la vie fœtale et les premiers temps après la naissance, c'est la mère qui protège l'enfant des agents pathogènes par la transmission placentaire puis par le lait maternel d'anticorps et de moyens de défense immunitaire divers.

#### **3.1) Transferts placentaires**

Le transfert placentaire d'immunoglobulines est un processus primordial et intense notamment dans le trimestre précédent la naissance. Cette immunité est qualifiée de passive car transmise par la mère à l'enfant lorsque ce dernier n'est pas en mesure de produire lui-même les cellules et molécules nécessaires à la défense de son organisme. Cette protection perdure jusque plusieurs mois après la naissance (de 4 à 6 mois) et le protège partiellement d'infections et d'agressions extérieures.

Le répertoire d'anticorps transmis par le biais du placenta est celui constitué par la mère et reflète sa propre expérience immunologique (au contact d'antigènes divers incluant la vaccination).

Plus l'enfant naît prématurément, moins cette protection est efficace, en conséquence, la naissance à terme représente la situation la plus optimale en terme de transmission moléculaire placentaire. (figure 6)



**Figure 6 :Concentrations totales en IgG dans des échantillons de sérum de cordon de nouveau-nés en fonction du temps (semaines de gestation)**

La figure représente les IgG totales dans le sang de cordon en fonction de l'âge gestationnel. La concentration maximale est atteinte en fin de grossesse. \*nb d'échantillons pour la mesure. Figure adaptée de Palmeira et al, 2011.

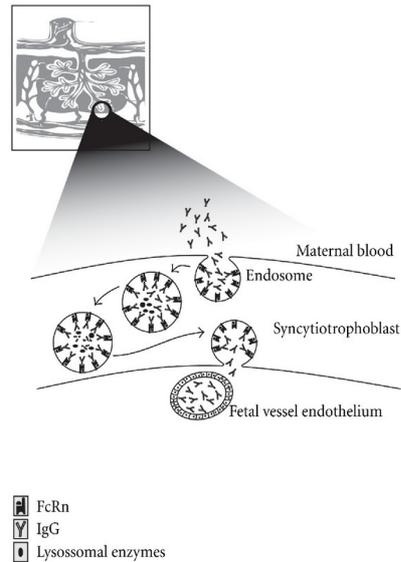
Le répertoire immunitaire transmis à l'enfant dépend donc du taux d'Ig produit par la mère, une défaillance de production pouvant être à l'origine d'un déficit pour l'enfant pouvant être à l'origine d'une réponse inefficace à un agent infectieux. Il en est de même si la spécificité et la diversité des anticorps produits sont insuffisantes. Une altération anatomique, traumatique, ou physiologique du placenta peut aussi être la cause d'une mauvaise protection pour l'enfant. La diversité du répertoire transmis peut-être augmentée par une vaccination maternelle. (44)

Parmi les cinq classes d'immunoglobulines, seules les IgG franchissent normalement le placenta. Les concentrations fœtales d'IgA augmentent en cours de grossesse mais elles restent très faibles.

Les IgE restent localisées sur les cellules de Hofbauer du stroma villositaire, et, comme les IgM et les IgD, ne passent pas dans le compartiment fœtal.

### 3.1.1) Récepteur spécifique placentaire du fragment Fc

D'ordinaire, les protéines ne passent pas la barrière placentaire car elles sont des molécules trop volumineuses pour une diffusion passive et même pour un système de transport actif. La seule exception à cette règle concerne les Immunoglobulines G qui sont capables de franchir cette barrière par pinocytose et grâce au récepteur FcRn. (Figure 7)



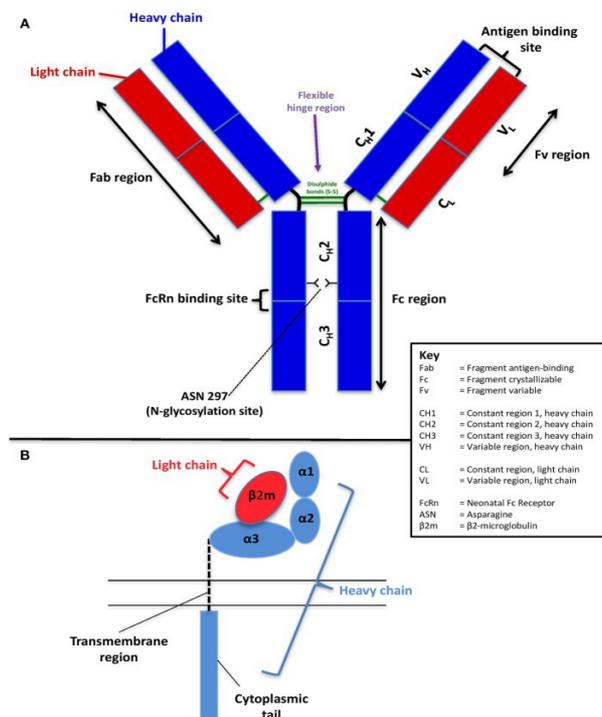
**Figure 7: Transferts d'IgG de la mère au fœtus à travers le syncytiotrophoblaste.**

La figure montre le transfert d'IgG à travers le syncytiotrophoblaste du placenta, par transcytose, et grâce à l'action du récepteur FcRn. L'endosome étant un milieu acide, le récepteur FcRn lie les IgG, qui sont ensuite relâchés dans la circulation fœtale. Figure adaptée de Palmeira et al, 2011.

Le récepteur FcRn est notamment un récepteur qui intervient dans les phénomènes d'échanges, et dans le transport des IgG. De plus, ce récepteur a une fonction de recyclage des IgG, dans le but d'augmenter leur demi-vie. Cela consiste en la soustraction des IgG de la voie du catabolisme pour les rejeter dans la circulation. Ce recyclage n'est limité que lorsque le récepteur FcRn est saturé par une trop grande quantité d'IgG (45, 46). Ce récepteur appartient à la famille des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe 1 (Figure 8)(47, 48).

Une chaîne lourde  $\alpha$  transmembranaire de 40-45 kDa, repliée en trois domaines extracellulaires, associée de façon non covalente à une  $\beta 2$ -microglobuline constitue la protéine

FcRn qui est par conséquent un hétérodimère. Cette protéine est capable de lier plusieurs types de molécules dont les immunoglobulines et l'albumine (45, 49).



**Figure 8: Structure schématique d'une immunoglobuline (A), et du récepteur FcRn (B).**  
Figure adaptée de Wilcox et al, 2017.

Contrairement aux autres récepteurs, sa particularité repose sur une variation de son affinité en fonction du pH, l'affinité pour son ligand étant cent fois plus faible à pH neutre (7,4) qu'à pH acide (6) ce qui occasionne la disparition des ponts salins reliant l'IgG au récepteur (45, 50, 51). Le récepteur apparaît lors de la 13<sup>e</sup> semaine de gestation au cours de la différenciation du cytotrophoblaste en syncytiotrophoblaste. Il est alors localisé préférentiellement dans les endosomes au détriment de la membrane apicale, et dans l'endothélium des capillaires fœtaux (44, 52). Le mécanisme de transfert des immunoglobulines G est complexe et comprend une phase de pinocytose par la membrane plasmique du syncytiotrophoblaste, l'IgG étant liée à FcRn via des résidus Histidine au sein de vésicules d'endocytose en phase liquide et à pH acide, et transportée sous cette forme à travers le syncytiotrophoblaste, ce qui la protège d'une dégradation lysosomale. Une fois le transit de la vésicule achevé au pôle basal du syncytiotrophoblaste, le complexe FcRn-IgG est relargué et l'immunoglobuline dissociée du

récepteur FcRn en raison du pH neutre de la membrane basale. L'IgG franchit la lame basale du syncytiotrophoblaste puis passe à travers les capillaires fœtaux directement, ou après un transit dans le stroma. (45)

### **3.1.2) Passage placentaire des IgG au cours du temps**

Le volume d'échange placentaire des IgG va croissant au cours de la grossesse et progresse de façon linéaire. Il débute aux alentours de la treizième semaine d'aménorrhée (SA) (53). A partir de la 17<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée, le fœtus atteint un premier niveau d'environ 5-10 % du total du taux maternel. La 28<sup>e</sup> semaine voit ce taux augmenter à un niveau de 50 %. Le taux maximal tend à se mettre en place à partir de la 36<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée, et en fin de grossesse, l'enfant atteint un taux supérieur à celui de la mère d'environ 120-130 % (52, 53). D'un point de vue purement qualitatif, la nature, la diversité et la spécificité des anticorps transférés de la mère à l'enfant dépend directement de l'expérience immunitaire de la mère et de la multiplicité des antigènes rencontrés naturellement ou par la vaccination (54, 55). Le moment de la grossesse et l'intégrité anatomique du placenta sont donc les principaux facteurs qui peuvent aider à déterminer le niveau de protection du fœtus. En revanche, le poids de la mère, et l'accouchement par césarienne, n'ont pas d'effet sur le passage transplacentaire (44, 56). L'exemple des enfants prématurés illustre bien l'importance d'un accouchement à terme. En effet, ils disposent d'une moindre quantité d'IgG que les enfants nés à terme, moins spécifiques notamment concernant les antigènes inclus dans un vaccin administré en fin de grossesse comme les DTP, coqueluche, Hib... (57, 58)

### **3.1.3) Immunisation maternelle et passage des IgG**

Le temps que ses propres capacités immunologiques soient matures, un nouveau-né est dépendant des anticorps qu'il reçoit de sa mère. La variété d'anticorps transmis dépend donc de l'exposition antigénique à laquelle la mère a été confrontée. Ainsi, une des options pour augmenter cette diversité de molécules protectrices et de vacciner la mère lors de sa grossesse, qui développera ainsi une réponse immunitaire et des molécules spécifiques des antigènes vaccinaux, qu'elle transmettra par son placenta à son enfant. L'efficacité de ces mesures dépend donc du temps qui sépare la vaccination et la naissance de l'enfant, de sa naissance à terme ou de sa prématurité, du taux d'IgG totales et spécifiques produits par la mère après l'immunisation (55). Des vaccinations lors de la grossesse dans des études concernant la

grippe, la coqueluche et le tétanos ont bien montré un bénéfice à la naissance. Ces études de suivi jusqu'à deux ans de vie, mis en comparaison face à des placebos montrent des résultats significatifs pour la grippe. Les suivis biologiques montrent que la vaccination occasionne moins de symptômes chez les femmes enceintes et moins d'infections respiratoires. De plus, chez les enfants qu'elles portent, des taux protecteurs sont observables lors des trois premiers mois de vie. En effet, ces bébés présentent moins de syndromes grippaux lors des six premiers mois, moins d'infections respiratoires avec fièvre et le nombre d'hospitalisations pour ce type de maladie est clairement inférieur. (55, 59, 60, 61, 62, 63)

### **3.2) Le lait maternel**

Comme vu ci-avant, la protection maternelle durant la grossesse s'effectue par un passage transplacentaire d'immunoglobulines qui permettront à l'enfant, y compris après la naissance, de bénéficier de moyen de défense contre les agressions extérieures. De fait, après la naissance, le contact avec le placenta est rompu, cependant, le lien de transmission de la mère à l'enfant continue. En effet, c'est par le lait maternel, riche et varié en différents types de molécules que la protection immunitaire se prolonge. Cette deuxième phase de protection reste primordiale étant donné la faiblesse temporaire du système immunitaire du nouveau-né. (64)

#### **3.2.1) Le colostrum**

Le premier lait produit est le colostrum et perdure jusqu'au 4<sup>e</sup>/5<sup>e</sup> jour de vie après la naissance. C'est un liquide épais, collant, de couleur jaune orangée. La proportion de chacun de ses composants est différente en comparaison du lait maternel mature produit ultérieurement. On constate qu'il est moins riche en lipides et en lactose, mais qu'il contient une plus forte quantité de protéines, environ deux fois plus, en particulier des immunoglobulines de type A, et d'autres composants immunologiques tels que la lactoferrine, des cellules: macrophages et lymphocytes T, des cytokines pro-inflammatoires comme TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL18, et anti-inflammatoires telles que l'IL-10 et le TGF $\beta$ . S'ajoutent aussi des facteurs de croissance et des oligosaccharides. (64, 65, 66)

La particularité notable du colostrum est donc son rôle tourné vers l'immunité. Sa richesse en éléments et composants immunologiques est sans commune mesure avec le lait

mature. En effet, il possède 10 fois plus de cellules immunocompétentes, deux fois plus d'oligosaccharides et une quantité plus importantes de protéines, notamment les IgA, la lactoferrine, et des cytokines. (64,66, 67, 68)

### **3.2.2 Le lait mature**

La protection du nouveau-né par le lait maternel mature met en jeu des molécules et des cellules qui peuvent être d'origine et de nature immunitaire, mais pas seulement. Différentes protections sont conférées à l'enfant par le lait qui lui permettent de limiter les infections et agressions des pathogènes. Leur action aura lieu au niveau de la sphère digestive, et les différents éléments agissent de concert sans pour autant provoquer d'inflammation qui pourrait être délétère pour le nouveau-né. (64)

La protection de nature immune vient évidemment des immunoglobulines transmises par la mère. Toutes les classes sont représentées mais les IgA sont en nombre beaucoup plus important et représentent presque 90 % des immunoglobulines totales contenues dans le lait maternel. Elles sont de type sécrétoires, résistantes à la protéolyse, dotées de la capacité à se fixer à la muqueuse digestive ce qui inhibe l'adhésion de micro-organismes pathogènes. Elles sont aussi effectives au niveau respiratoire (69). Deux molécules d'IgA jointes constituent un anticorps solide résistant à la dégradation par les enzymes intestinales et les acides gastriques. Les IgA ont aussi la particularité de ne pas déclencher de réaction inflammatoire, il n'y a donc pas de risque de réaction excessive, causant des dommages aux tissus sains et en cours de développement. (70)

En partant du principe que la mère allaitante et l'enfant allaité évoluent dans le même environnement, on peut considérer que les antigènes inconnus, et les micro-organismes potentiellement dangereux pour la santé sont identiques pour la mère et pour l'enfant. Si l'enfant est soumis à un contact avec un antigène, on peut considérer que la mère y est aussi soumise, et inversement. Le nouveau-né est certes naïf vis-à-vis d'un certain nombre d'agents pathogènes et possède un système immunitaire déficitaire et partiellement compétent, mais ce n'est pas le cas de la mère, qui possède en théorie des moyens de défense appropriés. (71)

Au contact de ces micro-organismes de l'environnement, que ce soit au niveau oro-pharyngé, broncho-pulmonaire, digestif ou cutané, la mère peut développer une réaction immunitaire normale, capable de mettre en œuvre une réponse humorale de qualité, de produire des immunoglobulines, et par le lait maternel, de les transmettre à son enfant (72, 73). Chaque anticorps produit est donc spécifique d'un antigène présent dans l'environnement immédiat de

la mère et de son enfant. Cet anticorps est donc discriminant et ne se lie qu'à l'agent infectieux duquel il est spécifique, sans risque de réaction immunitaire excessive envers un antigène non pertinent. La mère est donc en capacité de transmettre en quantité toute une collection d'immunoglobulines spécifiques de l'environnement direct du nouveau-né. (72, 73, 74)

Les types cellulaires concernés par la transmission maternelle sont aussi très variés. En effet, on retrouve des leucocytes qui seront en quantité importante particulièrement dans le colostrum, la plupart étant des polynucléaires neutrophiles dotés d'une capacité de phagocytose mais qui tendent à disparaître après le premier mois de vie. On constate aussi la présence de macrophages qui est lui aussi capable de phagocyter un agent pathogène, et qui sont plus actifs que les neutrophiles. Les lymphocytes sont aussi transmis via le lait maternel. Les lymphocytes B capables de produire des anticorps représentent environ un cinquième des lymphocytes totaux, les lymphocytes T constituant la majeure partie des lymphocytes transmis. Ces lymphocytes peuvent agir seuls ou enclencher une mobilisation des autres types cellulaires en réaction à une agression. Ils sont en mesure de produire différentes molécules spécialisées comme des interférons et des facteurs inhibant la migration des bactéries. (55, 64, 75, 76)

## **CHAPITRE 2 : Exposition aux antigènes du monde extérieur et Microbiome : intérêts et implications pour la vie future**

### **1) Généralités.**

La colonisation microbienne des différents territoires et muqueuses de l'organisme pendant la petite enfance joue un rôle déterminant dans le développement et l'éducation du système immunitaire du nouveau-né (77, 78). Ces événements précoces peuvent avoir des conséquences à long terme: faciliter la tolérance aux expositions environnementales ou contribuer au développement de maladies plus tard dans la vie, notamment les maladies inflammatoires de l'intestin, les allergies et l'asthme (77, 79). Des études récentes ont commencé à définir une période critique du début de la vie, au cours de laquelle la perturbation des interactions optimales hôte-commensal peut entraîner des défauts persistants et, dans certains cas, irréversibles, du développement et de la formation de sous-ensembles immunitaires spécifiques. (78)

Tous les organes et le système immunitaire du corps subissent une transition importante à la naissance, en passant d'un milieu relativement protégé à l'intérieur de l'utérus à l'environnement de fait différent et plus hostile du monde extérieur. (80)

Cette transition rapide est ensuite suivie par une maturation progressive au cours de la croissance. En effet, comme vu précédemment, les réponses immunitaires enclenchées à réponse à un stimulus diffèrent entre un nouveau-né et un adulte. Le système immunitaire néonatal est associé à des exigences physiologiques particulières. La protection contre les infections est un volet évidemment essentiel. La maîtrise de la réaction inflammatoire est aussi un aspect important lors du développement immunitaire d'un nouveau-né puisque la croissance globale des organes et les fonctions diverses de l'organisme ne doivent pas être altérées lors d'une réaction immune qui serait exagérée. Enfin, comme mentionné ci-dessus, la mise en œuvre de la transition entre l'environnement intra-utérin et l'environnement étranger riche en antigènes du monde extérieur constitue un premier axe prioritaire de maturation. Il comprend donc la colonisation de la peau et du tractus intestinal par des micro-organismes en partie transmis par la mère par les voies vaginales, fécales et cutanées. En effet,

après la naissance, la peau et les intestins du nouveau-né sont rapidement colonisés par une flore microbienne. (80, 81)

## **2) Apparition, mise en place et implications des flores commensales**

Bien qu'il existe depuis peu certaines preuves que le fœtus est en contact avec des micro-organismes dès la vie fœtale, lors de la naissance, un nouveau-né passe d'un milieu considéré comme relativement stérile - l'utérus - à un milieu riche en micro-organismes potentiellement pathogènes : bactéries, virus, champignons, ou parasites susceptibles de l'infecter (82, 83, 84). Cependant, cette étape de la naissance est aussi bénéfique puisqu'elle permet au nouveau-né de continuer la maturation de son système immunitaire au contact de ces nouveaux antigènes. En effet, on assiste à la mise en place d'un microbiote bénéfique et symbiotique nécessaire à tout être humain pour tous types de fonctions, notamment l'éducation des cellules immunitaires et l'apprentissage des relations avec le soi et le non-soi et la distinction claire de ceux-ci. Ainsi, au cours des dernières décennies, de nombreuses études ont montré que le microbiome de l'hôte joue non seulement un rôle clé dans l'équilibre de l'immunité de l'hôte sur la santé et la maladie, mais a également une influence considérable sur la génération et la formation du répertoire des cellules immunitaires. (77, 79, 85)

Ces constats ont pu être fait suite à des expériences sur des modèles expérimentaux tels que les souris « Germ-free », c'est à dire sans germe, et des d'autres modèles dont on a spécifiquement choisi la colonisation par des microbes définis (souris « SPF »). (86)

Ces modèles expérimentaux dépourvus de microbes présentent des défauts du système immunitaire et une plus grande susceptibilité aux infections. Ces défauts sont plus prononcés dans l'intestin, lieu du développement du microbiote intestinal, où il existe un sous-développement du tissu lymphoïde associé à l'intestin, comprenant des plaques de Peyer et des ganglions lymphatiques plus petits et moins nombreux, ainsi qu'une morphologie altérée des cryptes et une épaisseur de mucus réduite (87, 88). Les lymphocytes B des souris « Germ-free » produisent des quantités réduites d'IgA sécrétoire, un type d'anticorps agissant au niveau des muqueuses intestinales et nécessaire à l'intégrité de la barrière locale. (89)

De plus, l'équilibre entre les sous-populations de lymphocytes T CD4 + spléniques est faussé en faveur d'un phénotype de type T helper 2 (Th2) et une réponse allergique accrue. (90)

Ainsi, Ivanov et al. ont montré que les souris à la flore perturbée par antibiotiques ont une diminution du nombre de cellules T CD4 + intestinales telles que les cellules Th17. De plus, les souris « germ free » ont un nombre moins important de lymphocytes T régulateurs (Treg) qui sont de puissants régulateurs de l'immunité. (91, 92)

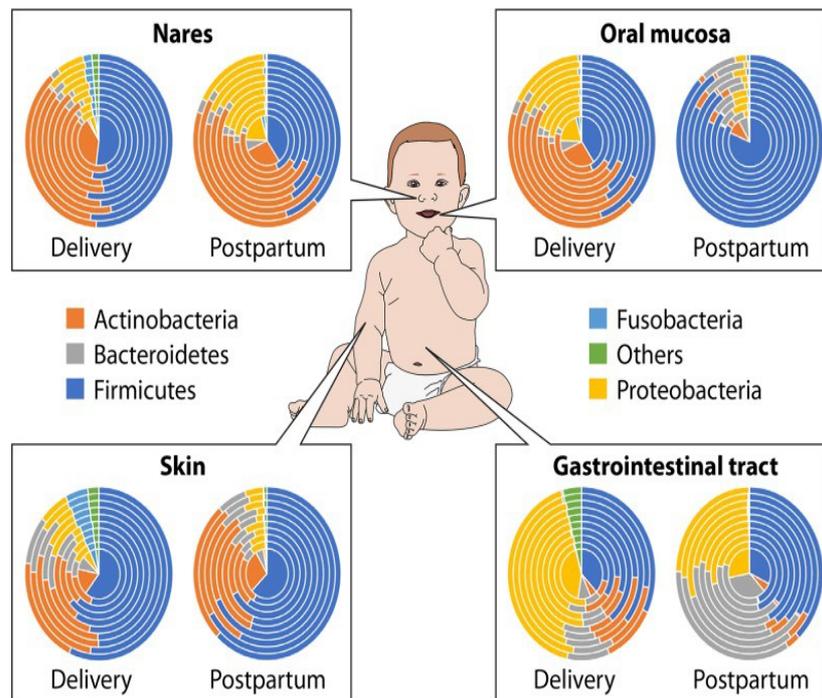
Le tissu lymphoïde associé au tractus gastro-intestinal est le plus grand compartiment immunitaire du corps et ce territoire est partagé par une flore microbienne en nombre important. Par conséquent, il est tout à fait raisonnable de supposer que le microbiome intestinal a une forte influence sur le développement et l'homéostasie de l'immunité innée et du répertoire immunitaire adaptatif. Il en est de même au niveau de la peau qui constitue un organe extrêmement vaste et qui abrite une niche écologique très riche de diverses espèces (78, 80). Les flores commensales locales et le système immunitaire sont impliqués dans un dialogue continu complexe qui est influencé par de nombreux signaux environnementaux et interagissent à la fois localement au niveau des muqueuses et au niveau systémique. (80, 93)

Les métabolites générés par les micro-organismes du microbiote ainsi que leurs composants cellulaires et moléculaires sont de plus en plus reconnus comme un élément essentiel de la physiologie humaine, avec des effets profonds sur la fonction immunitaire et dont les dysfonctionnements peuvent occasionner des pathologies. Les métabolites microbiens sont générés par les interactions micro-organismes – micro-organismes et hôte – micro-organismes, et le rôle de ce co-métabolisme dans la santé et la maladie humaines sont de plus en plus reconnus (94). On sait par exemple que des métabolites de microbes issus de la fermentation tels que les SCFA (short-chain fatty acids parmi lesquels l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique) assurent une protection contre le développement de l'asthme ou des pathologies inflammatoires de l'intestin. Ils permettent de réguler la taille et la fonction du pool de Treg coliques protégeant ainsi contre la rectocolite hémorragique (95). Par ailleurs, Smith et al, ont montré que chez des souris GF le nombre de Treg avait diminué par rapport aux témoins. (95, 96, 97, 98)

### **2.1) Apparition de flores commensales propres au nouveau-né**

L'enfant va donc développer à la naissance son propre microbiote. (Figure 9)  
Les premières flores microbiennes avec laquelle le nouveau-né se trouve en contact sont les flores vaginales, fécales et cutanées de la mère (80). La flore initiale constituant le microbiome de l'enfant dépend donc du mode d'accouchement, et de l'environnement

immédiat hospitalier ou non dans lequel il est placé. Nous verrons dans le 5<sup>e</sup> chapitre quels paramètres sont susceptibles d’influencer la mise en place des flores de l’organisme, et les impacts qu’ils peuvent avoir. La totalité du corps de l’enfant est alors soumis à un contact avec des antigènes inconnus, au niveau cutané, oral, pulmonaire, au niveau des muqueuses, particulièrement les muqueuses oro-pharyngées et intestinales avec lesquelles il doit devenir capable d’interagir, c’est à dire de tolérer leur présence en ne déclenchant pas de réaction inflammatoire excessive, sans pour autant contracter d’infection en neutralisant les agents pathogènes. (82)



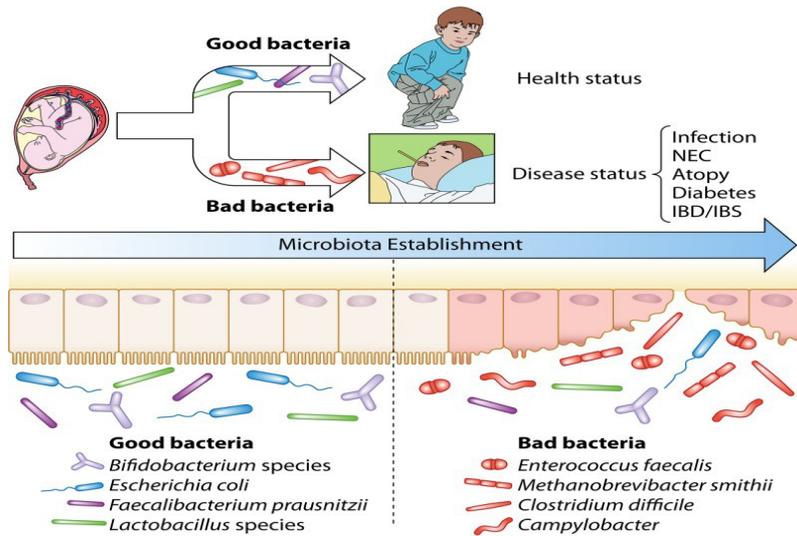
**Figure 9: Composition du microbiote en fonction de la localisation corporelle.** Composition du microbiote dans les différents sites corporels du nourrisson. Un aperçu global de l’abondance relative des phylums clés de la composition du microbiote infantile dans différents sites corporels et à différents stades du début de la vie est présenté. Figure adaptée de Milani et al, 2017.

Selon une étude récemment parue et qui consiste en une analyse comparative de différents indicateurs de microbiote fécal obtenus par profilage microbien à partir de leur génome (ARNr 16S) en se basant sur plusieurs centaines de mères et leurs enfants, a mis en évidence une population microbienne fortement partagée pour chaque couple mère-nouveau-

né (99). Lors de l'accouchement le fœtus passe dans le col de l'utérus et le vagin et les microbiotes de ces deux sites corporels peuvent coloniser le nouveau-né. Cette colonisation bactérienne s'effectue peu à peu après l'accouchement. (100, 101)

Par exemple, au niveau oro-pharyngé on voit apparaître des streptocoques alpha-hémolytiques, des staphylocoques au niveau cutané, alors que dans l'intestin, on voit apparaître plus tardivement des bactéries aérobies dans un premier temps comme les entérocoques (E-coli) et des staphylocoques, puis des bactéries anaérobies : bacteroides, clostridium, bifidobactéries. (80, 102)

Au cours des premières étapes de la colonisation, le microbiote reste instable et peut subir des phénomènes de succession microbienne soudaine qui se poursuivront jusqu'à ce que le nourrisson ait 2 ou 3 ans, moment auquel le microbiote atteint une composition qui ressemble à celle d'un microbiote adulte. (103) Ces premiers moments de communication entre le microbiote et l'hôte constituent des événements clés qui conditionnent la maturation appropriée de l'individu, avec la mise en place et le maintien de l'homéostasie du microbiote hôte au début de la vie, événements pouvant avoir des conséquences immédiates et à long terme sur la santé, comme l'illustre la figure 10 ci-dessous.



**Figure 10 : Établissement du microbiote au cours des premières années de vie.**

*La colonisation bactérienne initiale et le développement de celle-ci influence l'équilibre immunitaire sur le long terme. Figure adaptée de Milani et al, 2017.*

Ces communautés microbiennes sont capables de se diversifier, de se disperser, de se constituer en assemblages locaux et de constituer un écosystème complexe dont le l'enfant se sert entre autres pour confronter son système immunitaire, éduquer ses cellules immunitaires - que ce soit au niveau des muqueuses locales ou dans les organes immunitaires- et différencier les antigènes du soi et du non soi. Cette diversification est permise grâce à la capacité de mutation et recombinaison des bactéries, leurs transferts de gènes permettant de créer une variété d'espèces et d'antigènes bactériens très importante qui vont coloniser certains territoires de l'organisme. Le microbiote commensal humain et les flores microbiennes locales se mettent en place et résident principalement aux sites barrières, c'est à dire les régions de l'organisme qui sont en contact avec l'extérieur : le tractus gastro-intestinal, les voies respiratoires, le tractus urogénital et la peau, où ils permettent une adaptation de nature et de fonction de nos systèmes immunitaires innés et adaptatifs. (104, 105, 106, 107).

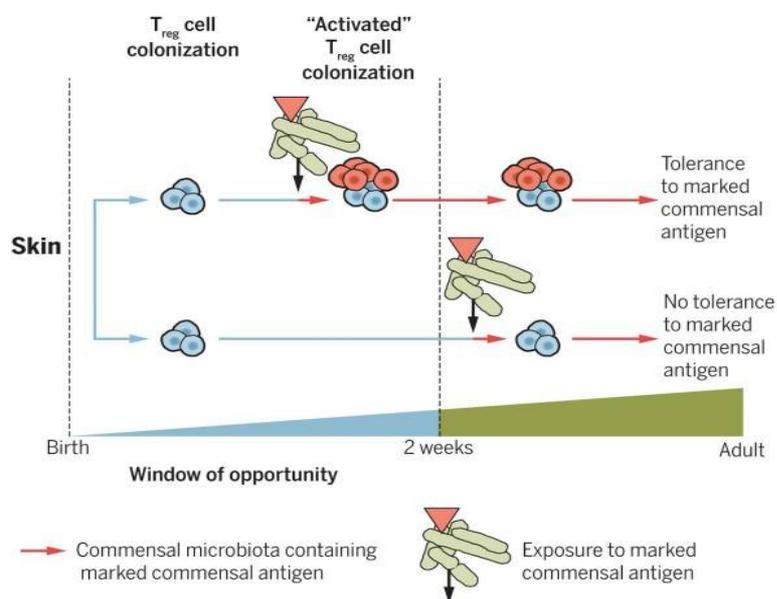
## **2.2) La colonisation spécifique des différents territoires de l'organisme.**

Comme précisé préalablement, les sites barrières où se développent les flores microbiennes voient apparaître des organismes très divers. Les mécanismes cellulaires et moléculaires qui interviennent dans l'homéostasie tissulaire et dans la tolérance ou l'activation immunitaire sont aussi différents d'un site barrière à l'autre (108, 109). Par conséquent les multiples mécanismes favorisant la tolérance aux microbes des flores commensales peuvent également être spécifiques de chaque territoire exposé de l'organisme. Le tractus respiratoire ne verra pas se mettre en place les mêmes mécanismes qu'au niveau de la peau. Cette dernière contrairement à la muqueuse intestinale ou pulmonaire, a pour première couche de contact un épithélium stratifié et corné présentant une géographie et une mise en place diverse, parmi lesquels des canaux sudoripares et sébacées ainsi que des follicules pileux (110, 111). En tant que surface externe du corps et étant constamment confronté à l'environnement extérieur, la peau et son intégrité structurelle sont susceptibles d'être altérées par des traumatismes récurrents qui compromettent l'inviolabilité de sa fonction de barrière et facilitent une confrontation entre les cellules immunitaires et les antigènes provenant de l'extérieur. Ces caractéristiques si particulières posent des problèmes et mettent en œuvre des réponses distinctes dans le but de maintenir une relative tolérance immunitaire saine et constructive avec des microbes commensaux qui ne peuvent par conséquent pas être de même nature que dans un autre territoire de l'organisme. (109, 111)

### **2.2.1) Le cas de la peau.**

La peau est un lieu de dialogue permanent dans les premières années de vie entre le système immunitaire et les bactéries commensales. Cependant, les mécanismes moléculaires qui nous permettent de tolérer la présence de commensaux cutanés sans provoquer d'inflammation destructive ne sont encore que partiellement connus (111, 112). La colonisation microbienne de la peau à la naissance donne lieu à une confrontation directe avec de nombreux organismes alors inconnus et divers qui sont à la fois nécessaires et potentiellement dangereux. Ainsi, en utilisant un système modèle murin pour étudier la réponse immunitaire spécifique d'un antigène de *S. epidermidis*, il a été démontré que la colonisation cutanée au cours d'une période définie de la vie néonatale était nécessaire pour établir la tolérance immunitaire aux microbes commensaux. On y constate en effet un afflux

de cellules T régulatrices hautement activées dans la peau du nouveau-né. Dans le cas d'une inhibition de cette phase d'activation de ce type cellulaire, on constate que l'on a complètement aboli la tolérance envers cette flore cutanée. Il y a alors un manque de discernement entre les potentielles agressions et ce qui relève du développement normal de la flore. Une réponse excessive peut alors survenir et causer des dommages tissulaires locaux (113). Il existe donc une fenêtre temporelle immunitaire définie durant laquelle une population de cellules T régulatrices vont induire la tolérance globale du système immunitaire du nouveau-né envers la flore commensale qu'il a développée au niveau de la peau. Cela suggère que la composition du microbiome cutané dans la vie néonatale est cruciale pour façonner les réponses immunitaires adaptatives aux commensaux, et que la perturbation de ces interactions peut avoir des conséquences durables sur la santé (113). La figure 11 ci-après montre les cellules T régulatrices ayant infiltré la peau des souris néonatales afin d'induire une tolérance aux bactéries commensales. Ce type cellulaire, les Lymphocytes T régulateurs sont capables d'inhiber la prolifération des lymphocytes effecteurs, maintenant ainsi l'homéostasie en induisant un profil de tolérance immunitaire, notamment par le biais de l'IL-10 et du TGF $\beta$ .



**Figure 11: Colonisation de la peau par des cellules Treg induisant la tolérance aux bactéries commensales.** Figure adaptée de Gensollen et al, 2016.

La colonisation de la peau néonatale avec des microbes constituant une flore commensale conduit à une accumulation de cellules T régulatrices qui reconnaissent spécifiquement un antigène, avec pour conséquence une tolérance à cet antigène plus tard dans la vie. La colonisation d'animaux adultes avec le même microbiote contenant le microbiote commensal ne conduit pas à l'accumulation de cellules T régulatrices dans la peau ni à l'établissement d'une tolérance immunitaire, ce qui montre l'existence d'une fenêtre d'opportunité en début de vie, et que nous verrons aussi ultérieurement (93). Cette discrimination néonatale des bactéries et microbes commensaux au plus jeune âge développe ainsi la capacité du système immunitaire à distinguer plus tard le soi du non-soi, et les organismes bénéfiques de ceux potentiellement pathogènes. (78, 93, 114)

La peau est un organe particulier, en contact constant avec des micro-organismes. Il doit donc être capable de distinguer ceux qui lui sont bénéfiques de ceux qui sont susceptibles de provoquer un phénomène infectieux. Les spécificités de la peau comportent entre autres une bonne capacité du système anti-microbien local à répondre à une potentielle infection avec divers moyens de défense immunitaire ou non. La peau néonatale étant en phase de maturation et fragile à la naissance, de petites ruptures dans l'intégrité de celle-ci peuvent servir de points de départ pour l'infection. Ainsi, le vernix caseosa, un enrobage cireux sécrété par les glandes sébacées, contient notamment du lysozyme, des  $\alpha$ -défensines, de l'ubiquitine ainsi que des acides gras libres antimicrobiens pouvant agir en synergie pour tuer les micro-organismes (115, 116). Le nouveau-né est donc initialement recouvert d'un bouclier microbicide en surface destiné à le protéger pendant sa transition vers la vie extra-utérine. Cependant l'organe que constitue la peau reste un territoire primordial d'apprentissage immunitaire pour le nouveau-né. Pour preuve, quelques jours après leur venue au monde, environ une moitié des nouveau-nés développent une éruption cutanée transitoire, qui fait apparaître de petites papules érythémateuses entourées d'un halo diffus appelé erythema toxicum (81). De nouvelles études indiquent que cet érythème toxique du nouveau-né est dû à la réaction immunitaire déclenchée par la peau néonatale en contact avec la flore commensale, et en particulier face aux staphylocoques à Gram positif qui colonisent la peau et s'insinuent souvent dans les follicules pileux. Il y a alors activation de macrophages et production d'IL-1 et d'IL-6 qui favorisent une inflammation (117). Une exposition microbienne précoce de cette sorte et la réponse immunitaire innée qui en résulte sont importantes pour la maturation du système immunitaire néonatal. (81)

La fenêtre d'opportunité dans la vie néonatale permet l'établissement de la tolérance spécifique aux microbes commensaux par la rencontre avec de nouveaux antigènes (118). Scharschmidt et ses collaborateurs ont émis comme hypothèse que la mise au défi de la peau par un antigène appartenant à un organisme membre de la flore cutanée pourrait avoir une incidence sur la capacité de l'hôte à réguler la réponse inflammatoire induite par cet antigène étranger, et ainsi avoir une influence sur la tolérance immunitaire (111). Pour vérifier cette hypothèse, les auteurs ont décidé de coloniser la peau de souris néonatales et adultes avec un antigène Epi2W de *S.Epi* et de les mettre en confrontation avec celui-ci plusieurs semaines plus tard dans le cadre d'une simulation de rupture de barrière, en les testant aux côtés de témoins naïfs de même âge. Cela permet de montrer que l'exposition aux antigènes commensaux en cas de traumatisme cutané accidentel, donne lieu à un contexte légèrement inflammatoire normal et maîtrisé au cours duquel des mécanismes de tolérance immunitaire doivent cependant être actifs. L'exposition à l'antigène permet donc de façonner les réactions et réflexes immunitaires de la vie future (111). En cas de provocation de l'immunité après effraction de la peau, il n'y a que les souris colonisées au préalable et en période néonatale avec Epi-2W qui ont montré une tolérance immunitaire à ce même antigène. Les mesures effectuées permettent de constater une diminution substantielle de l'inflammation au niveau de la surface cutanée, un nombre réduit de polynucléaires neutrophiles recrutés, une réduction du nombre de cellules effectrices CD4<sup>+</sup> dans les ganglions, un enrichissement en Treg spécifiques de *S. epidermidis* dans les ganglions lymphatiques et cutanés. Ces résultats démontrent que la colonisation de la peau néonatale mais non de la peau adulte entraîne une tolérance aux lymphocytes T spécifiques au commensal.

Du fait de la relation hôte-flore microbienne et de ses conséquences immunitaires, le moment de l'exposition en début de vie à une bactérie commensale a par conséquent un rôle majeur sur la capacité à établir une tolérance entre ladite bactérie et l'antigène qu'elle porte et le système immunitaire de l'individu (100, 119). Ce constat a donc poussé à comparer les particularités des systèmes immunitaires néonataux et adultes, notamment sur la nature des cellules résidentes, pour en montrer les différences au niveau de la peau (100, 111). Une exploration approfondie de la peau sur le plan de l'immunité cellulaire néonatale a pu montrer qu'une population particulière de cellules T régulatrices se localise dans la peau au cours de la deuxième semaine de vie. Ces cellules Tregs cutanées néonatales sont en plus grand nombre et présentent une activité supérieure en comparaison à ce même type de cellule à l'âge adulte. Ces Tregs néonatales uniques représentent le type cellulaire majoritaire dans la peau au cours

de cette période charnière du développement (111, 120, 121). Peu de temps après la naissance, les auteurs ont observé une augmentation de la présence de ces cellules Treg activées dans la peau. Cette montée en puissance soudaine de cellules activées associée à la capacité privilégiée d'établir une tolérance à Epi-2W à ce stade du développement, peut mener à conclure que ces cellules cutanées du nouveau-né jouent un rôle clef dans la médiation de la tolérance aux microbes commensaux. Momentanément bloquer la capacité migratoire des cellules T dans la peau, et ce juste avant de coloniser des souris néonatales avec le même antigène Epi-2W conduit les cellules Treg néonatales à être inhibées et ne plus être en mesure d'établir de tolérance immunitaire à Epi-2W. Ainsi, cette vague de Treg activés et abondants dans la peau néonatale joue un rôle central dans la capacité de l'hôte à établir une tolérance immunitaire aux antigènes commensaux.

### **2.2.2) Le cas de l'intestin**

La colonisation microbienne des tissus muqueux en général pendant la petite enfance est déterminante dans le développement et l'éducation du système immunitaire. Les événements immunitaires précoces peuvent avoir des conséquences à long terme dans la capacité d'un individu à faciliter la tolérance aux expositions environnementales non dangereuses ou contribuer au développement de maladies plus tard dans la vie, notamment les maladies inflammatoires de l'intestin, les allergies et l'asthme (80, 82). Des études récentes ont commencé à définir une période critique du début du développement au cours de laquelle la perturbation des interactions normales entre des antigènes commensaux et le système immunitaire de l'hôte peut entraîner des dommages et dysfonctionnements persistants et, dans certains cas, irréversibles concernant le développement et la formation des fonctions immunitaires (78). Immédiatement après la naissance, l'intestin néonatal est rapidement colonisé par les microbes. Au cours de cette période postnatale précoce, les micro-organismes aérotolérants dominent l'écosystème intestinal. Ces micro-organismes vont réduire les niveaux d'oxygène dans l'intestin, facilitant ainsi la prolifération ultérieure d'une communauté complexe dominée par les bactéries anaérobies (82, 122). La communauté bactérienne néonatale devient donc de plus en plus diverse au fil du temps, tandis que la diversité interindividuelle diminue peu à peu. L'âge exact auquel se forme une communauté stable du microbiote intestinal chez l'enfant n'est toujours bien établie, mais cela se produit

généralement entre 2,5 et 3 ans ce qui crée une «fenêtre d'opportunité» cruciale au début de la vie pour le développement du système immunitaire de l'hôte du fait de la multiplicité et de la diversité des nouveaux antigènes rencontrés.

À cet âge, une part conséquente des espèces bactériennes présentes ont atteint une stabilité, alors que d'autres types de microbes peuvent avoir besoin d'un délai plus important pour atteindre l'équilibre. (93)

La colonisation bactérienne du nouveau-né se produit à la naissance lors de l'exposition au microbiote vaginal et fécal en premier lieu puis cutané. Au cours de l'accouchement vaginal, des espèces anaérobies facultatives telles qu'*Escherichia coli*, *Staphylococcus* et *Streptococcus* colonisent l'intestin du nourrisson et produisent un environnement anaérobie dans les premiers jours de la vie, ce qui permet des anaérobies strictes telles que *Bacteroides* et *Bifidobacterium* de se développer dans leur sillage. Nous verrons ultérieurement (chapitre 5.2) que le mode d'accouchement est primordial compte tenu du fait que la césarienne peut affecter la colonisation microbienne. (123)

Alors que le microbiote intestinal chez l'adulte est dominé par les membres des Firmicutes et des *Bacteroides*, le microbiote intestinal néonatal est initialement représenté par les micro-organismes de type Protéobactéries et Actinobactéries.

*Bifidobacterium* a été considéré comme représentant le genre bactérien dominant dans le microbiote intestinal du nourrisson nourri au lait maternel, mais des études récentes ont également montré une forte présence d'entérobactéries dans la population infantile. Il a été observé que les protéobactéries (principalement les *Enterobacteriaceae*) dominaient le microbiote intestinal du nourrisson au cours des premières semaines, les bifidobactéries constituant la deuxième population microbienne, qui augmente ensuite avec le temps en même temps que les entérobactéries. (123, 124)

### **2.2.2.1) L'exposition aux antigènes du microbiote intestinal dans l'éducation du système immunitaire**

La mise en place et le développement du microbiote de par sa grande diversité d'espèces riches en antigènes fournit un stimulus antigénique conséquent et primordial qui permet à son hôte un développement adéquat de l'intestin et du système immunitaire associé au niveau local et général. Il semble logique de supposer que le processus de colonisation

microbienne néonatale est lié à la santé du nourrisson et peut représenter un facteur de risque de maladie plus tard dans la vie. (78)

Les différents phénomènes immunitaires déclenchés par ou contre divers micro-organismes, y compris le microbiome de l'hôte, mettent en œuvre principalement des lymphocytes T et B, qui expriment à leur surface des récepteurs spécifiques d'un antigène et qui définissent un clonotype singulier correspondant à cet antigène. Le développement du système immunitaire et du répertoire d'anticorps est parallèle au développement du microbiote intestinal, et des microbiotes de l'organisme en général. (93, 125)

Le mutualisme hôte-microbiote s'est établi au cours d'une co-évolution de long terme entre l'espèce humaine et les micro-organismes composant le microbiote. L'éducation du compartiment immunitaire adaptatif par les antigènes du microbiote intestinal est importante pour l'établissement de l'équilibre immunitaire. En particulier, une période critique immédiatement après la naissance offre une «fenêtre d'opportunité» pour le développement des cellules et des structures lymphoïdes, la différenciation et la maturation des cellules T et B et, surtout, l'instauration d'une tolérance immunitaire aux gènes intestinaux (78, 126). En fonction de la localisation, de la nature des micro-organismes, du type d'antigène et de la propriété métabolique de différents microbes intestinaux, les réponses des cellules T CD4 varient, ce qui entraîne une différenciation en sous-population de type Th2, Th1, Treg... Ainsi, certaines bactéries induisent des réponses immunitaires similaires à celles réponses effectrices en favorisant la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'interféron  $\gamma$  et l'interleukine 17. A l'inverse, d'autres bactéries favorisent la production de lymphocytes T CD4 régulateurs et aident à l'homéostasie intestinale.

#### **2.2.2.2 Quels effets, quels constats en l'absence de microbiote ?**

Comme vu précédemment, l'utilisation d'animaux exempts de germes (germ-free ou GF) est un modèle expérimental très utilisé afin d'étudier les différences qui peuvent exister entre le développement de souris sans microbiotes et celui de souris « normales ». Les animaux sans germes sont des animaux dans lesquels aucun micro-organisme ne vit. Cela permet de mettre en évidence l'importance d'un microbiote riche et varié, et de montrer en quoi le microbiote influence le système immunitaire. (93, 127)

Les premières comparaisons de rongeurs GF avec des «animaux colonisés par un microbiote» ont permis d'observer des différences physiologiques flagrantes entre GF et un autre type de cobaye : les animaux SPF (specific pathogen free) qui contiennent une flore microbienne complexe mais qui sont exempts d'agents pathogènes spécifiés au préalable (127). Outre un développement anatomique, morphologique et fonctionnel particulièrement déficient chez les souris sans germes ces expériences ont montré que l'absence de flore commensale a de profonds effets sur le développement structurel et fonctionnel du système immunitaire, induisant notamment des défauts de développement du tissu lymphoïde dans la rate, le thymus et les ganglions lymphatiques (128). De plus, ces anomalies de fonction et de structure étaient plus marquées au niveau muqueux où se situe l'interface avec le monde extérieur, ce qui suggère que les relations mutuellement bénéfiques avec des communautés spécifiques de microbes permettent la modulation et le développement de ces structures immunitaires lymphoïdes associées à l'intestin (GALT) (93, 125). Ces organes lymphoïdes secondaires sont le lieu d'activation des lymphocytes naïfs, et voient le commencement de la réponse adaptative. Ce sont notamment les follicules lymphoïdes isolés qui connaissent des difficultés à se développer et se trouvent peu présents en l'absence de microbiote dans l'intestin. De plus, les animaux GF contiennent des plaques de Peyer (PP) et des ganglions mésentériques (MLN) atrophiés. (125, 129)

Au final, ces études tendent à montrer que le microbiote participe à la maturation du système immunitaire et mettent en relief les multiples événements particuliers et spécifiques, qui, associés avec un processus de colonisation microbienne pourraient être primordiaux dans le développement d'un système immunitaire normal chez un individu en bonne santé. La plupart des anomalies chez les animaux GF peuvent être en partie améliorées ou corrigées par l'introduction de microbes commensaux à n'importe quel âge. Cependant, la capacité de rétablir plusieurs fonctions cellulaires, citées précédemment, et disparues en l'absence de microbiote est limitée à un court intervalle en début de vie et est donc dépendant de l'âge (130). Conformément avec ces principes, les souris GF durant leur vie adulte montrent un profil transcriptionnel différent dans l'intestin en comparaison aux souris SPF colonisées de manière conventionnelle, ce qui tend à suggérer que si la mise en place de la flore microbienne commensale ne se produit pas pendant une "fenêtre d'opportunité" critique dans les premiers mois de vie, le développement immunitaire intestinal optimal ne peut pas être totalement atteint chez l'adulte. Cela confirme l'idée que l'exposition précoce à des microbes peut avoir des conséquences durables pour l'hôte et se prolonger jusqu'à l'âge adulte (78,

131). En corollaire, en l'absence d'exposition microbienne appropriée au début de la vie, les conséquences immunitaires peuvent être irréversibles et potentiellement préjudiciables pour l'hôte, telles que l'apparition de pathologies immunitaires de type allergiques ou auto-immunitaires. (132)

Chez les souris sans germe (GF), les cellules T (iNKT) tueuses naturelles invariantes s'accumulent dans la lamina propria du côlon et le poumon, ce qui entraîne une morbidité accrue dans les modèles de MICI et d'asthme allergique. (93, 133)

Après avoir été présentées par une molécule de la famille du CMH classe I, les antigènes endogènes et exogènes peuvent être reconnus par les cellules T tueuses naturelles invariantes (iNKT). Les tissus muqueux tels que les poumons et le côlon contiennent des quantités considérablement plus importantes de cellules iNKT chez les souris présentant une flore commensale déficiente par rapport à celles observées chez des souris SPF (specific pathogen free). Ceci conduit à des réponses inflammatoires accrues dans des modèles expérimentaux de rectocolite et d'hypersensibilité des voies aériennes (133). Comme l'ont montré Olszak et al., dans le modèle expérimental de souris GF, les cellules T tueuses naturelles invariantes ont tendance à proliférer au niveau de la lamina propria du côlon et dans la muqueuse pulmonaire, ce qui entraîne un accroissement de la morbidité dans les études et analyses de MICI (maladies inflammatoires chroniques de l'intestin) et d'asthme allergique, ce constat étant opposé à celui effectué à dans les expériences similaires conduites avec des souris SPF. Ces différences de nombres de cellules iNKT coliques entre les souris GF et SPF étaient détectables après le sevrage et stables à vie, suggérant une influence précoce et persistante du microbiote (134). La colonisation de souris GF néonatales avec un microbiote normal et varié a protégé les animaux contre l'accumulation de iNKT dans les muqueuses et par conséquent les pathologies associées. Ce constat n'a en revanche pas été fait pour des souris colonisées à un âge adulte. Ce phénomène de prolifération de cellules NKT est dû à une augmentation de l'expression au niveau des muqueuses du ligand CXCL16 témoin d'une augmentation du nombre de cellules iNKT muqueuses. Ce ligand est une cytokine produite par des cellules dendritiques, qui est exprimée au niveau des cellules épithéliales, dans les maladies intestinales telles que la maladie de Crohn, et qui augmente en cas d'inflammation. (134)

Les recherches d' Olszak et al tendent à montrer que CXCL16 est un facteur dont l'équilibre est influé par les microbes de la flore commensale, et dépend de l'âge ce qui module le nombre et l'activité des cellules iNKT dans le côlon et en conséquence, la probabilité de développer une inflammation. Une exposition microbienne précoce engendre

des effets sur le long terme quant à l'activité des cellules iNKT et, en l'absence de stimulation antigénique suffisante, une exposition ultérieure aux facteurs qui stimulent ces cellules peut induire une réponse auto-inflammatoire

Ces constats nous amène à poser la question de la théorie hygiéniste que nous développerons ultérieurement. (134)

### **2.2.2.3) Comportement des acteurs locaux de l'immunité**

Le système immunitaire inné est le premier à être mis en œuvre lors de l'effraction d'une barrière naturelle par un organisme extérieur. Au contact des bactéries intestinales il répond rapidement au microbiote de manière non spécifique de l'antigène en activant à la surface des cellules présentes localement des récepteurs de reconnaissance de formes et en libérant des cytokines telles que l'interféron  $\alpha$ , l'interleukine 18 et l'Interleukine 22 pour favoriser les réponses antimicrobiennes épithéliales avec notamment la production de peptides antimicrobiens. Lorsqu'elles font face à des nouveaux antigènes, les cellules lymphocytaires T naïves peuvent se différencier soit en cellules T effectrices pour lutter contre les bactéries et empêcher leurs dommages, soit en cellules T régulatrices pour induire une tolérance immunitaire en leur présence et promouvoir le mutualisme (81, 120). En principe, l'éducation des cellules T fait référence à la sélection thymique, qui consiste à éliminer ou à transformer les lymphocytes T immatures interagissant avec les antigènes du soi en cellules Treg afin de prévenir l'auto-immunité. Certains auteurs considèrent l'éducation périphérique par les antigènes microbiens intestinaux comme forme d'éducation cellulaire, qui maintient également l'homéostasie. (121, 135)

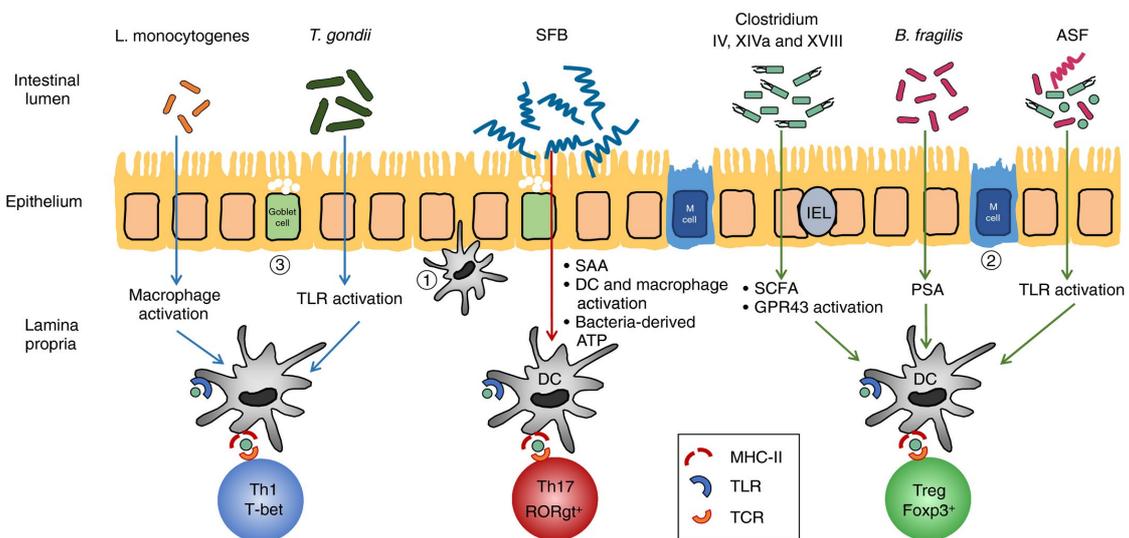
Lathrop et al. expliquent dans leur article que la rencontre avec le microbiote commensal donne lieu à l'apparition au niveau périphérique et non central dans leurs expériences de cellules Treg, plutôt qu'à des effecteurs.

Ils ont observé que les lymphocytes Treg de l'intestin mettaient en œuvre à leur surface des récepteurs de l'antigène des cellules T (TCR) différents de ceux utilisés par les cellules Treg dans d'autres régions, ce qui montre une stimulation singulière et effective des antigènes locaux dans la formation de la population de cellules Treg (120, 136). Les auteurs ont remarqué que de nombreuses cellules Treg du colon apparaissent plutôt via le développement de cellules Treg périphériques. De plus, ils ont montré que le microbiote local de l'intestin était nécessaire pour la génération de cellules Treg à partir de cellules T qui resteraient naïves sans le concours de ce microbiote.

Une autre expérience de l'étude démontre que dans le cas où les cellules T exprimant des TCR de Treg ne parviennent pas à se développer alors elles restent naïves et peuvent alors se transformer en cellules effectrices, risquant d'induire pathologie inflammatoire locale (120). Comme la population de cellules Treg, la population de cellules T effectrices et mémoires a exprimé des TCR uniques et singuliers au côlon.

Toutes ces données du répertoire TCR suggèrent que la population de cellules Treg coliques est fortement façonnée par le milieu antigénique local, la plupart des cellules Treg du côlon chez des souris non dépourvues de germe exprimant de faibles niveaux du facteur de transcription Helios qui est un marqueur pour les cellules Treg dérivées de manière thymique. (137, 138, 139, 140, 141)

En résumé, cette analyse de récepteurs de surface TCR des cellules Treg coliques communs dans un répertoire de TCR $\beta$  qui est lui fixe suggère un modèle dans lequel les lymphocytes T exprimant ces TCR existent sous la forme de lymphocytes T naïfs en l'absence d'antigène. La rencontre avec des antigènes étrangers d'origine bactérienne dans le côlon semble conduire efficacement à la génération de cellules Treg Foxp3<sup>+</sup>, car elle n'entraîne généralement pas un codéveloppement substantiel de cellules effectrices ou mémoires de même spécificité (142). La population de LT est donc également éduquée à la périphérie afin de s'adapter à la variété d'antigènes du microbiote commensal dans les muqueuses. (120)

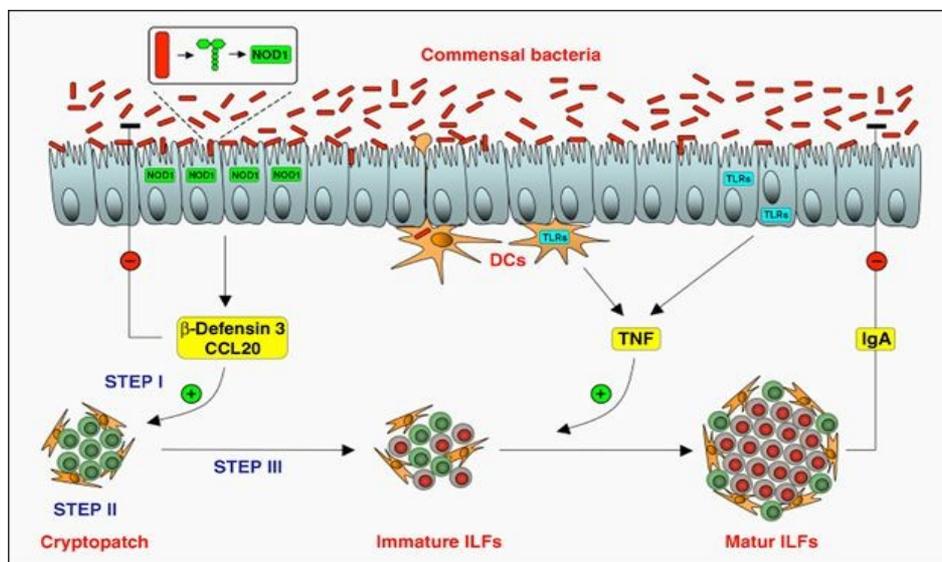


**Figure 12 : Induction par le microbiote de la différenciation cellulaire en cellule régulatrice ou effectrice Treg/Teff**

Figure adaptée de Qing Zhao Charles O. Elson, 2018.

La figure 12 présente les mécanismes qui, par le biais du microbiome, permet la différenciation des lymphocytes Treg et Teff dans l'intestin. Les micro-organismes de la flore commensale comme *Bacteroides fragilis* ou *Clostridium*, engagent la multiplication et la différenciation des cellules Treg par des mécanismes complexes et multiples, alors que les bactéries telles que les bactéries filamenteuses segmentées (SFB) stimulent l'induction des cellules Th17 intestinales. La différenciation des cellules Th1 spécifiques à un antigène peut être favorisée par des agents pathogènes intracellulaires tels que *Listeria monocytogenes* et *Toxoplasma gondii*.

Au niveau des structures lymphoïdes locales, on sait que les cryptopatches, les patches de Peyer (PP) et les ganglions lymphatiques mésentériques commencent à se développer durant la période foetale. En revanche la stimulation antigénique massive que constitue la confrontation au microbiote est nécessaire pour favoriser ce développement leur développement. A mesure de l'exposition on observe la mise en place de tissus lymphoïdes isolés qui se développent à partir de cryptopatches. Il y aussi un recrutement de cellules T et B dans la lamina propria et un engagement vers la différenciation des plaques de Peyer et des cellules lymphocytaires T et B. (143, 144) (Figure 13)



**Figure 13 : Développement des follicules lymphoïdes isolés.** Figure adaptée de G. Eberl, 2009.

Les cryptopatches sont des agrégats de cellules lymphoïdes présents au niveau de la lamina propria. La Figure 13 présente la mise en place à partir des Cryptopatches des follicules lymphoïdes isolés immatures puis matures à partir de l'exposition à des antigènes bactériens locaux. Les peptides dans la lumière intestinale qui résultent principalement des bactéries GRAM- constituant la flore commensale sont reconnus par le récepteur NOD1 des cellules épithéliales capables de les capter. La voie de NOD1 aboutit à la synthèse de ligands capables de se lier et d'activer les cellules inductrices de tissu lymphoïde dans des cryptopatches. Ces cellules induisent à leur tour des cellules organisatrices de ce tissu lymphoïde, ainsi que des molécules d'adhésion et des chimiokines. Les cryptopatches une fois engagés vers la maturation recrutent des cellules B pour former des follicules isolés immatures. A partir de cette étape, d'autres antigènes interviennent et sont nécessaires au passage de follicules mature. En effet, les cellules macrophagiques et dendritiques ont à leur surface des récepteurs TLR capables de lier des antigènes de composés bactériens. Ils vont alors produire le TNF $\alpha$  qui est nécessaire au développement du follicule mature. Les ILF matures génèrent des cellules B productrices d'IgA qui ciblent le microbiote. Le système de codéveloppement fonctionne comme une boucle rétroactive autorégulatrice, l'induction follicules matures par les bactéries entraîne une rétro-inhibition des bactéries grâce à l'induction d'IgA. (145)

#### **2.2.2.4) Relations entre microbiote et production d'immunoglobulines**

Bien qu'il faille du temps au système immunitaire adaptatif, après la naissance, pour se différencier et proliférer afin de déclencher une réponse immunitaire conséquente aux antigènes de l'environnement après la première rencontre, certaines des cellules mémoires développées après contact avec ceux-ci survivent à long terme et fournissent une réponse forte et rapide lors d'une rencontre ultérieure avec ce même antigène. En fonction des variations de l'introduction microbienne dans l'intestin et de la colonisation après la naissance, le développement immunitaire de l'hôte peut varier considérablement et entraîner une réactivité immunitaire altérée susceptible d'affecter la sensibilité de l'hôte à des maladies telles que les maladies auto-immunes et allergiques plus tard dans la vie. C'est là qu'entrent en considération la variabilité individuelle et où l'on peut constater les différences qui peuvent exister chez les individus en fonction du mode d'accouchement qui les a vu naître, de leur

alimentation, de leur environnement qui conditionne la nature et la variété de la flore commensale. Nous étudierons ces paramètres dans la troisième partie.

Les IgE sont des immunoglobulines très présentes au cours des phénomènes allergiques. Ce sont des anticorps produits par les cellules B qui jouent un rôle essentiel dans la réponse immunitaire aux allergènes au niveau des muqueuses (146). Les niveaux d'IgA et d'IgG1 diminuent chez les souris GF, alors que l'on constate des taux élevés d'IgE sériques après 30 jours de vie en raison de l'augmentation des taux de commutation isotypique dans les plaques de Peyer et les ganglions mésentériques. Les taux d'IgE très élevés dans le sang de souris GF sont associés à une augmentation concomitante de la production d'IL-4 dans les plaques de Peyer et les MLN (mesenteric lymph nodes) et dépendent des cellules T CD4 + (147, 148). La colonisation des souris GF avec un microbiote standard de la naissance à 4 semaines, mais pas ensuite, normalise les niveaux d'IgE chez l'adulte, ce qui est compatible avec une régulation de la production d'IgE par le microbiote spécifique à cette période. La production d'IgE chez les souris adultes dépend de la diversité bactérienne intestinale chez les nouveau-nés plutôt que de la colonisation avec des espèces bactériennes spécifiques, de sorte qu'une faible diversité de microbiotes ne suffit pas pour normaliser les taux d'IgE au début de la vie. (147)

Dans une autre étude récente, il a été montré qu'une stimulation déficitaire par des antigènes de micro-organismes chez des souris après la naissance donne lieu à une commutation plus importante de lymphocytes B de la muqueuse intestinale vers les classes d'IgE et une élévation du taux sérique d'IgE (148). Dans cette étude, les souris nées et élevées avec un microbiote spécifique exempt d'agents pathogènes (SPF) maintenaient des taux d'IgE inférieurs à la limite de détection à la différence de souris sans germes, GF (germ-free) pour lesquelles des taux élevés d'IgE ont été observés. Les taux élevés d'IgE ne reflètent en revanche pas une hausse du taux sérique d'immunoglobulines générale, étant donné que tous les isotypes sauf les IgE (IgA, IgM, IgG) ont été réduits chez les souris exemptes de germe et non SPF, ce qui conforte la théorie d'un système immunitaire immature chez des souris sans germes (125, 149). Les auteurs sont partis des constats que des taux sériques d'IgE plus élevés que la normale chez des souris sans germe ont déjà été rapportés (Herbst et al.). L'ensemble de ces résultats suggère que des signaux immuno-régulateurs provenant du microbiote sont nécessaires pour maintenir le taux d'IgE à un niveau peu élevé (150, 151). En outre ils ont postulé que la mise en place appropriée d'une immunité efficacement régulée nécessite une exposition aux antigènes microbiens adéquate dans les premiers mois et années après la

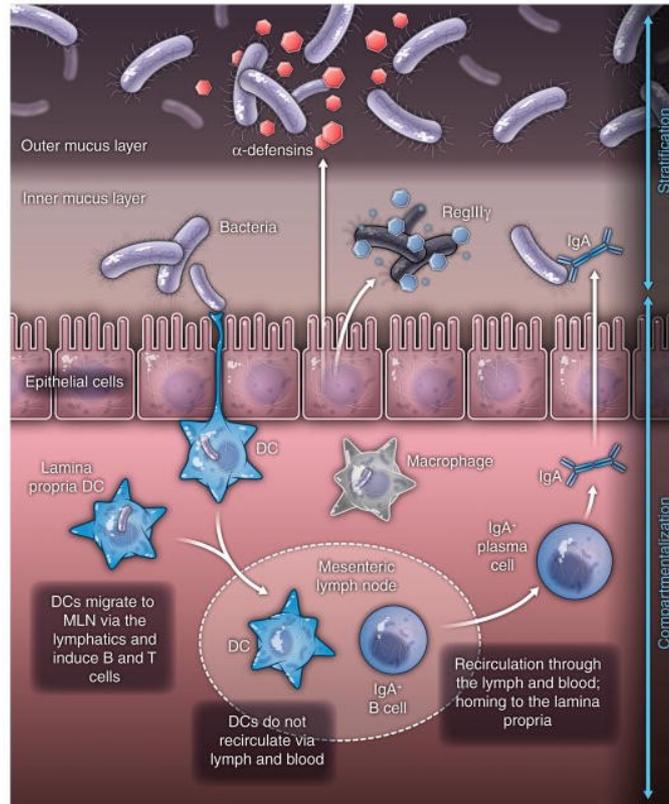
naissance. Ils ont alors montré que seule une exposition intense à une flore microbienne diversifiée au début de la vie est capable de garantir une régulation immunitaire fonctionnelle qui maintient le taux sérique d'IgE à des niveaux basaux, pouvant même diminuer les effets pathologiques déclenchés par un antigène. (149, 151)

Autre fait marquant, les auteurs ont identifié la localisation de la synthèse d'IgE. Il en résulte qu'en l'absence d'exposition microbienne, le commutateur d'isotype IgE est favorisé aux sites muqueux, où se produisent normalement des adaptations immunitaires déclenchées par des facteurs microbiens, et non dans la moelle osseuse ou les ganglions lymphatiques au niveau périphérique. Au lieu d'aboutir à une commutation vers les IgA qui constituent l'immunité au niveau des muqueuses, on aboutit, en l'absence d'une exposition antigénique optimale à un basculement vers les IgE responsables sur les muqueuses d'inflammation caractéristique d'un phénomène allergique (149). Dans cette étude, il a aussi été expérimenté la colonisation par un microbiote et une flore microbienne normale après la naissance. En effet, et cela est en lien avec la « fenêtre d'opportunité » vue précédemment, la cohabitation de souris adultes sans germes, et donc avec des taux sériques d'IgE élevés, avec des souris SPF avec un microbiote intestinal complet et une IgE indétectable, n'a pas réduit les taux d'IgE sériques. On ne peut donc pas apporter de correction à l'âge adulte. Cependant, l'exposition à une flore SPF au moment de la naissance a réussi à inhiber la production d'IgE. Contrairement à la colonisation à l'âge adulte, la colonisation à un âge faible de quelques semaines a été en mesure de les protéger complètement de l'induction d'IgE élevées à l'âge adulte ce qui indique que les signaux microbiens façonnent l'induction des IgE. Ce constat suggère que la colonisation microbienne après la naissance a un impact sur l'atopie et les phénomènes allergiques plus tard dans la vie. (149, 152)

D'autres travaux menés sur l'exposition du système immunitaire au microbiote intestinale durant les premières années de vie mettent en lumière des constats intéressants quant aux mécanismes cellulaires découlant de l'exposition aux antigènes du microbiote. En partant du type de colonisation effectué sur des souris GF (germ free) et SPF (specified pathogen free) les chercheurs ont observé les populations cellulaires à l'œuvre dans la réponse immunitaire. On y observe le développement conséquent et le recrutement important de cellules lymphocytaires T tueuses naturelles (NKT) chez la souris GF et cette augmentation a pour conséquence une susceptibilité augmentée aux pathologies inflammatoires intestinales. En comparaison chez les souris SPF dont le microbiote est complexe on n'observait pas ce type de réaction immunitaire et de fait aucune inflammation locale n'a été observée. Autre

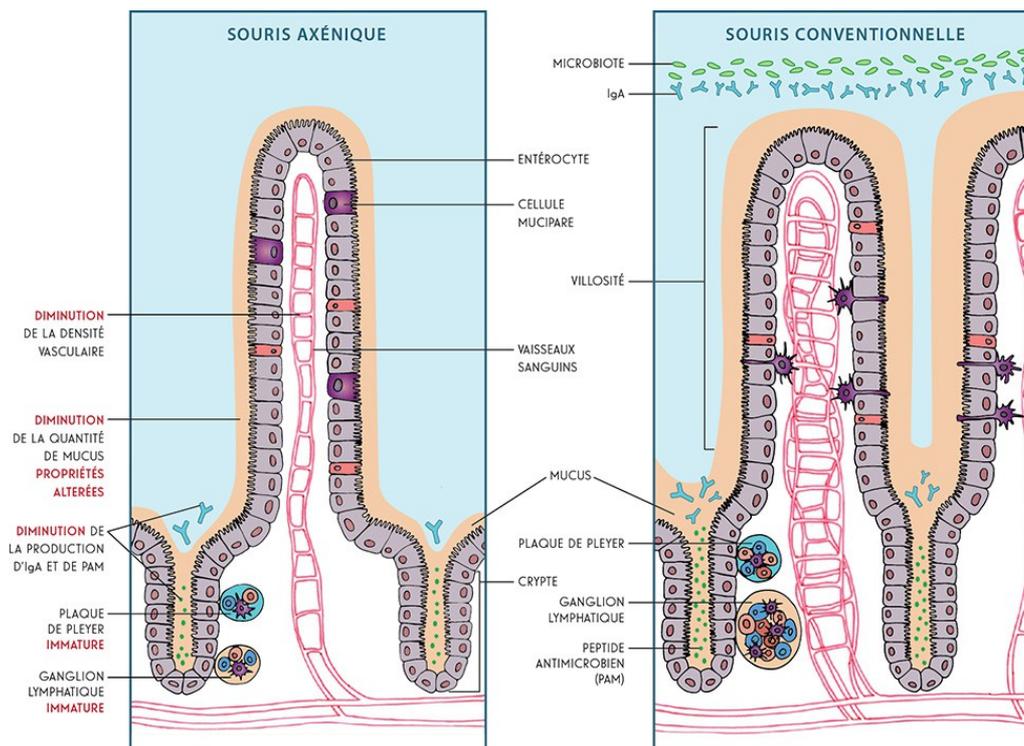
constat intéressant, la colonisation de l'intestin des souris néonatales GF a atténué le développement de la réaction immunitaire et la réaction inflammatoire via les lymphocytes NKT. Ceci n'a pu être observé que chez des souris néonatales puisque la même expérience sur des souris GF adultes n'a pas montré de modification du comportement du système immunitaire. (133)

Le système immunitaire adaptatif met en œuvre des anticorps de surface ou solubles pour neutraliser les agents pathogènes. Les IgA constituent la principale forme d'anticorps sécrétoire présent à la surface des muqueuses et jouent donc un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie intestinale. Les mécanismes d'action par lesquels cette immunoglobuline peut agir comprennent la liaison à l'antigène dont elle est spécifique, l'empêchement de l'absorption d'antigènes microbiens dans la lumière intestinale, la perturbation bactérienne et l'agglutination, ainsi que la neutralisation de toxines bactériennes pathogènes. Différentes hypothèses concernant les mécanismes d'action ont été avancés pour expliquer la naissance et la persistance de la régulation entre les immunoglobulines de type A sécrétées par les lymphocytes B et le microbiote intestinal. Les immunoglobulines produites sont, après la naissance, peu à peu capables d'influencer le comportement des organismes constituant le microbiote intestinal. Les IgA sécrétées par les lymphocytes B peuvent amener la flore commensale à réguler négativement l'expression d'épitopes de surface susceptibles de déclencher une réponse inflammatoire (153, 154). La fixation d'immunoglobulines A sécrétoires à la surface de certaines populations bactériennes de la lumière intestinale conduit à la migration des bactéries vers les plaques de Peyer induisant ainsi la mise en place d'une réaction immunitaire au niveau du centre germinatif, permettant une amplification de la production d'immunoglobulines spécifiques de l'antigène concerné. (155, 156, 157)



**Figure 14: Contrôle du système immunitaire par le microbiote.** Figure adaptée de Hooper et al, 2015.

La figure 14 montre différents effecteurs immunitaires fonctionnant ensemble pour contenir les micro-organismes de la lumière intestinale et minimiser le contact avec l'épithélium. On voit notamment le rôle joué par l'IgA sécrétée par les plasmocytes. Les micro-organismes de la flore commensale sont échantillonnés par les cellules dendritiques (CD) intestinales, puis elles traversent les lymphatiques intestinaux vers les ganglions lymphatiques mésentériques. Cela compartimente les bactéries vivantes et induit des réponses immunitaires du système immunitaire muqueux. Il y a recirculation des cellules B induites et de certains sous-ensembles de cellules T à travers les lymphatiques et la circulation sanguine vers les sites muqueux, où les cellules B se différencient en cellules plasmiques sécrétant de l'IgA.



**Figure 15 : Rôle du microbiote dans la maturation du système immunitaire intestinal.**

La figure montre le rôle du microbiote dans la maturation du système immunitaire local, en comparant l'interface microbiote-système immunitaire d'une souris axénique (c'est-à-dire des souris dont la flore intestinale est vierge) et d'une souris témoin normale. Figure adaptée de Sommer & Bäckhed 2013.

Dans une autre étude montrant la dynamique du système immunitaire adaptatif au niveau intestinal en période post-natale, il a été montré que l'absence de stimulation par le microbiote local entraîne une diminution conséquente du nombre de plasmocytes synthétisant des IgA. Il en résulte que dans l'intestin on constate alors une diminution de l'abondance de cette immunoglobuline (158, 159) (Figure 15). La diversité du répertoire des IgA est influencée par le contact avec le microbiote. En effet, Lindner et al ont montré que les souris SPF ont une diversité de répertoires d'IgA intestinale beaucoup plus grande que les souris bactériennes mono-colonisées ou les souris GF (160). Au cours du développement des souris en début de vie, leurs répertoires d'IgA deviennent plus complexes avec la génération continue de nouveaux clones de cellules B générés en continu. Étant spécifiques d'antigènes de

microbiote; cependant, les clones de cellules B induits au début de la vie sont également conservés, indiquant une réponse de cellules B mémoires à longue vie. (158)

Il a été démontré que la reconnaissance immunitaire dysfonctionnelle du microbiote intestinal provoquait de multiples troubles inflammatoires. Par exemple, les anticorps muqueux et sériques ciblant les antigènes intestinaux commensaux sont élevés chez les personnes atteintes de la maladie de Crohn et chez celles atteintes de rectocolite hémorragique. Les cellules T infiltrantes dans les intestins des patients atteints de la maladie de Crohn réagissent aux antigènes microbiens luminaux et produisent des cytokines pro-inflammatoires telles que le  $TNF\alpha$ , l'interféron  $\gamma$  et l'IL-17A. (161, 162, 163)

Les maladies auto-immunes situées à l'extérieur de l'intestin peuvent être déclenchées par le microbiote entérique. Des IgG et IgA spécifiques de *Prevotella copri* ont été trouvés dans des sous-groupes d'individus atteints d'une polyarthrite rhumatoïde récente, Il a été démontré par expérience que la colonisation par *Prevotella copri* active les lymphocytes T auto-réactifs dans l'intestin et qu'elle est corrélée à une sensibilité accrue de la polyarthrite rhumatoïde. (164, 165)

### **2.2.3) Au niveau des voies Respiratoires**

Les voies respiratoires constituent une voie d'exposition importante à la naissance aux microbes environnementaux et les antigènes de ceux-ci. Elles jouent donc un rôle clef dans la modulation de l'équilibre de la maturation immunitaire local au cours du développement d'un nouveau-né et dans sa capacité à constituer un répertoire d'anticorps contre les agents pathogènes. Les modifications de la réponse immunitaire des voies respiratoires en fonction de l'âge sont donc susceptibles de jouer également un rôle dans le développement de pathologies à un âge plus avancé. Les voies respiratoires après la naissance mettent en œuvre des réponses médiées par les récepteurs TLR et la synthèse de molécules antimicrobiennes. Il s'agit d'une porte d'entrée majeure pour les micro-organismes pathogènes, les aéroallergènes et les aéroadjuvants (par exemple, les produits microbiens tels que l'acide muramique agonistes du TLR2). Dans ce contexte, les voies respiratoires peuvent jouer un rôle de médiateur dans la maturation des réponses de type Th1 néonatal et infantile par une exposition répétée à de faibles doses d'agonistes du TLR de l'environnement, par exemple des endotoxines ou le lipopolysaccharide (LPS) agonistes du TLR4 . (81)

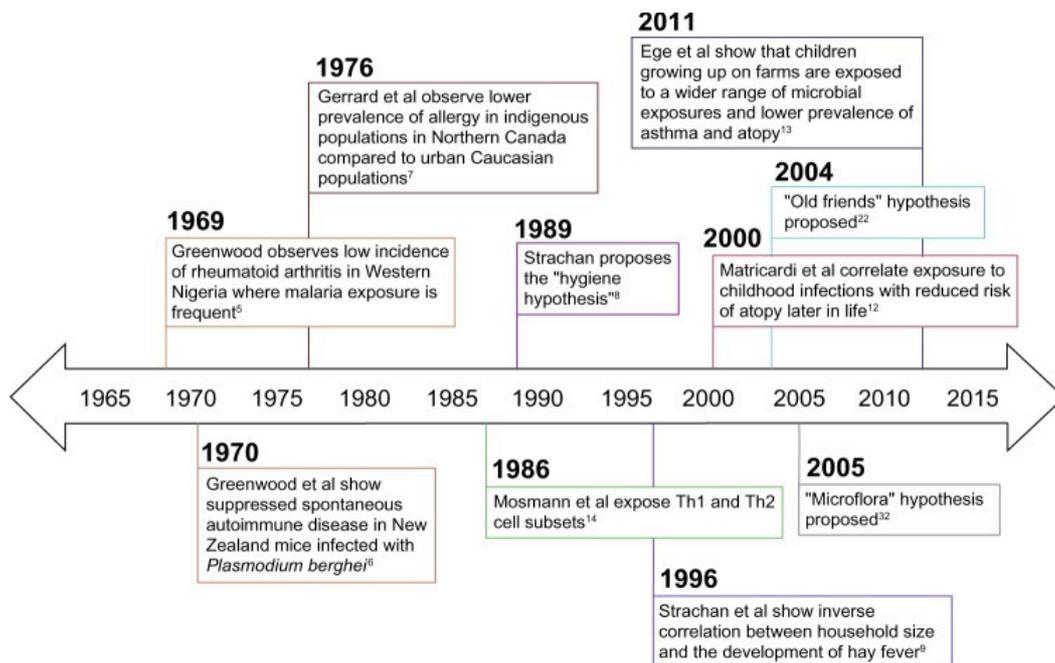
Tulic MK et al. ont publié une étude concernant la modulation d'une réponse immunitaire allergique grâce à une exposition bactérienne. Elle est intéressante car elle montre comment le système immunitaire et l'environnement extérieur sont en relation et la manière dont cette relation peut influencer sur la santé d'un individu. Ils ont cherché à montrer combien l'exposition aux produits bactériens durant les premières années de la vie pourrait protéger contre le développement de l'atopie (166). Cette expérience a révélé que dans les muqueuses nasales d'enfants atopiques le LPS de la paroi bactérienne peut influencer à la hausse sur la prolifération et la capacité de réaction des lymphocytes T provoquées par l'allergène. Il en est de même concernant la production de cytokines qui polarisent les cellules Th1 et pour la production d'IL-10. Les auteurs ont tiré pour conclusion qu'à un âge encore précoce, les LPS bactériens seraient capables de supprimer l'inflammation causée par l'allergie en altérant la réponse immunitaire locale en polarisant la réponse d'une cellule Th2 vers réponse de cellule Th1, ainsi qu'en augmentant le taux d'interleukines 10. De plus, les enfants qui sont exposés aux acides muramiques ou aux peptidoglycanes ont un risque moindre de développer une respiration sifflante. Ces constats conduisent au développement de la théorie hygiéniste développée dans la partie suivante. Un autre constat est fait en rapport avec l'hypothèse d'hygiène et l'importance d'une exposition du système immunitaire à un jeune âge.

L'activité des extraits de poussière est dépendante de MyD88 et polarise les cellules Th2 lorsque ces poussières couplées à des antigènes (de l'ovalbumine dans cet exemple) sont administrées sous forme de vaccination intra-nasale hebdomadaire. En revanche, elles sont tolérogènes lorsqu'elles sont administrées chaque jour sous forme d'exposition intra-nasale à faible dose. Ceci a donc un lien avec la nature de l'exposition antigénique à laquelle chaque individu est exposé durant l'enfance. Dans la prochaine partie, nous verrons que l'exposition chronique à l'agriculture pendant les trois premiers mois de la vie, les endotoxines contenues dans la poussière de maison comme dans l'exemple ci-dessus sont associés à une capacité accrue des cellules immunitaires à produire des molécules spécifiques telles que des cytokines polarisant les cellules Th1. Ces constats nous montrent que certains modèles d'exposition aux agonistes de TLR microbiens au début de la vie accélèrent la maturation de la réponse des cellules Th1 et protègent contre les maladies allergiques et atopiques. (166)

Globalement, les mécanismes immunitaires innés des voies respiratoires néonatales assurent une protection contre les infections microbiennes et empêchent une inflammation exubérante, tout en atténuant les effets des agonistes du TLR dans l'environnement.

## CHAPITRE 3 : L'Exposition antigénique dans les théories hygiénistes.

Les pays développés ont connu une augmentation constante des maladies atopiques et des maladies auto-immunes et/ou inflammatoires depuis les années 1980. Cette augmentation correspond à une diminution des maladies infectieuses au cours de la même période, tandis que les pays en développement semblent avoir l'effet inverse, avec moins de dysrégulation immunitaire et une prévalence plus élevée de maladies infectieuses. Ces observations ont conduit à la proposition de différentes théories comme présenté sur la Figure 16.

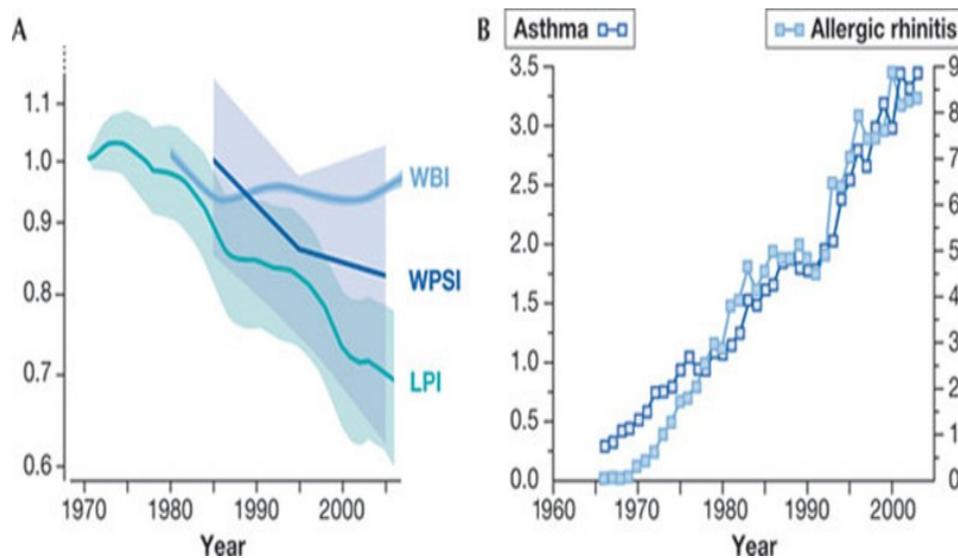


**Figure 16: Chronologie des hypothèses traitant de l'influence de l'exposition globale aux antigènes de l'environnement. Figure adaptée de Leah T Stiemsma et al, 2015.**

Au cours de ce chapitre, après avoir indiqué quelques données épidémiologiques, nous présenterons ces théories, particulièrement la théorie hygiéniste de Strachan et la théorie des vieux amis de Rook. Nous porterons également un intérêt particulier au cas des infections parasitaires aux helminthes.

## **1) Données épidémiologiques et exposition aux pathogènes**

Plusieurs auteurs dont Alenius et al. en 2008, et Butchart SH et al. en 2010 ont montré qu'il existait un déclin mondial de la biodiversité. Cela signifie en terme de santé publique que l'exposition antigénique globale tend à diminuer, ce phénomène étant particulièrement accentué en zone urbaine de pays industrialisés (167, 168). Leena von Hertzen et ses collaborateurs vont plus loin et font le lien entre la diminution de la biodiversité et l'augmentation des pathologies inflammatoires. (169) (Figure 17)



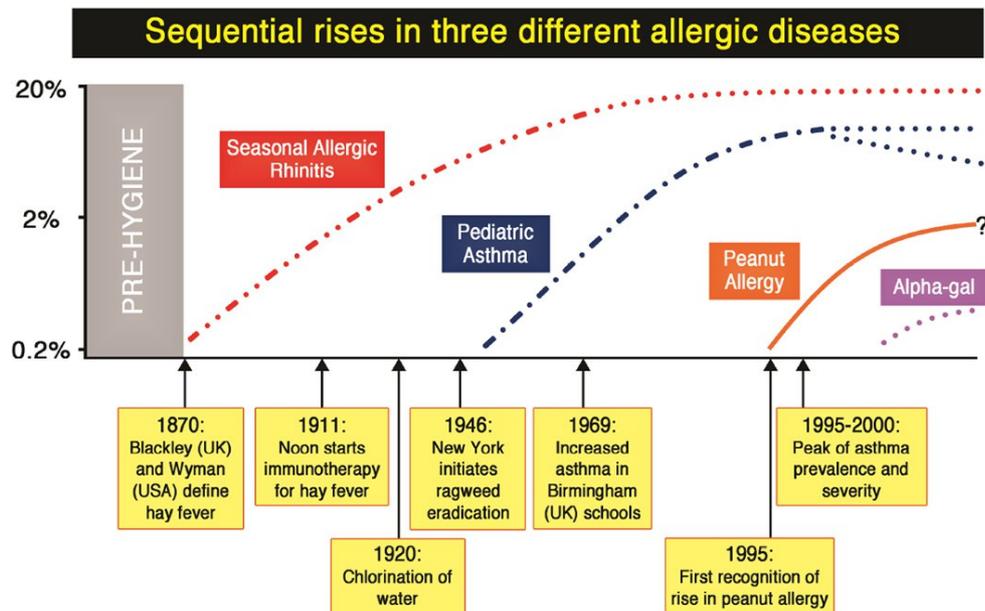
**Figure 17 : Deux grandes tendances mondiales en matière de biodiversité et de santé publique.**

(A) Diminution de la biodiversité depuis 1970 mesurée par trois indices. LPI, Indice Planète Vivante; WBI, World Bird Index; WPSI, Indice de statut de la population d'oiseaux d'eau (Butchart et al, 2010). (B) Tendence à la hausse de la prévalence des maladies inflammatoires. L'asthme et la rhinite allergique chez les conscrits de 1966 à 2003 (Latvala et al, 2005) en Finlande. Cette figure est adaptée de von Hertzen et al, 2011.

Depuis environ 70 ans, le nombre de maladies auto-immunes dont la maladie de Crohn, la sclérose en plaques, ou encore le diabète de type 1 et l'asthme, a augmenté de façon considérable. Par exemple, aux États-Unis, la prévalence de l'asthme chez les enfants a augmenté de 38% entre 1980 et 2003. De même, cette augmentation a atteint 56% et 59% entre 1964 et 1990 respectivement chez les enfants écossais et australiens. (170)

En effet, Platts-Mills TA décrit des augmentations conséquentes de rhume des foins, d'asthme et d'allergies alimentaires suggérant que des changements de mode de vie au cours des dernières décennies auraient pu influencer sur l'apparition de ces troubles immunitaires. (171)

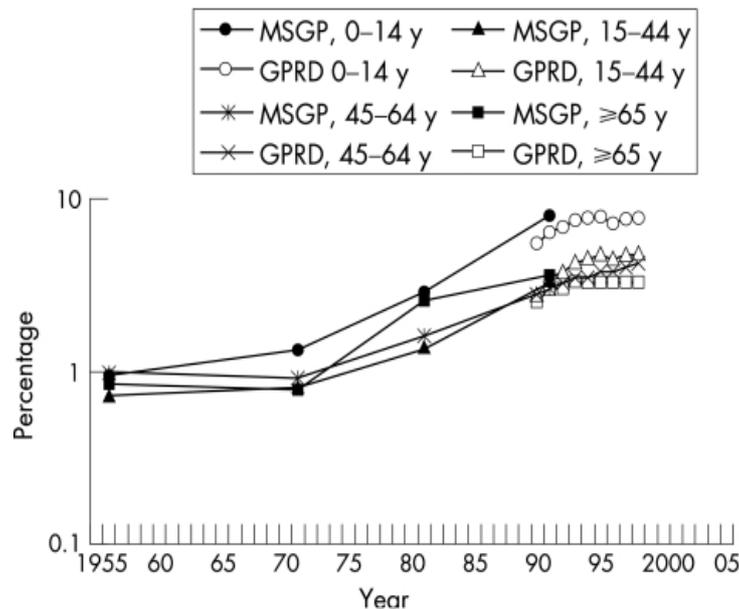
(Figure 18)



**Figure 18 : Augmentation séquentielle de trois pathologies allergiques au cours du temps**

Figure adaptée de Thomas Platts-Mills, 2015. Elle représente la hausse de trois pathologies allergiques (rhinite allergique, asthme pédiatrique et allergie aux arachides) au cours du temps dans les pays développés depuis la mise en place de l'hygiène moderne.

Les pays développés ont connu une augmentation constante des maladies atopiques (asthme, rhinite allergique, allergie alimentaire et dermatite atopique par exemple) et des pathologies auto-immunes (notamment diabète de type 1, maladies intestinales inflammatoires) depuis la mise en place dans les années 60 et 70 de l'hygiène moderne. (Figure 19)

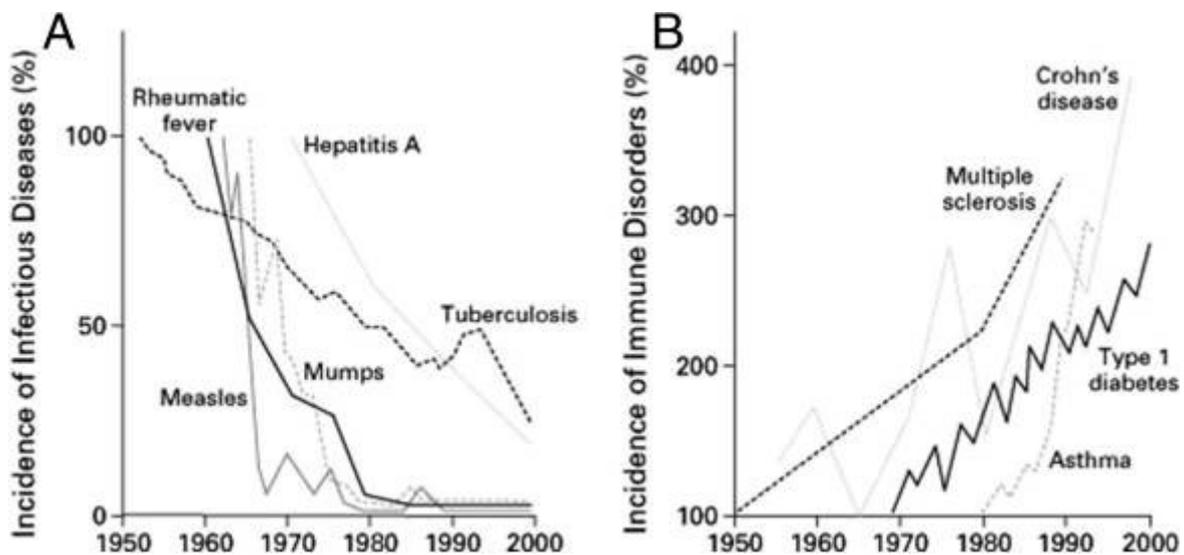


**Figure 19 :** Nombre de patients consultant pour des troubles asthmatiques en Angleterre et au Pays de Galles sur une période d'une cinquantaine d'années. Figure adaptée de Ross Anderson et al, 2007.

Cette augmentation est mise en relation avec une diminution du nombre de pathologies infectieuses au cours de la même période ainsi que, comme décrit plus haut, d'une baisse de l'exposition globale aux antigènes et de la biodiversité en générale. (Figure 20)

Les deux graphiques de la figure 20 ci-après montrent qu'il y a une relation inverse entre l'incidence des maladies infectieuses, qui diminue rapidement au cours du temps, et les pathologies immunitaires qui sont elles en augmentation dans le même temps. Les différentes théories dites de l'hygiène ou des vieux amis se basent sur cette observation. A l'inverse, les pays en développement ont toujours une prévalence plus élevée de maladies infectieuses notamment parasitaires et connaissent moins de dysfonctionnement de la régulation immunitaire (172, 173). Par exemple dans l'étude mondiale ISAAC ( International Study of

Asthma and Allergies in Childhood), portant sur l'asthme, les prévalences les plus élevées ont été observées dans des pays industrialisés, notamment au Royaume-Uni, en Australie, en Nouvelle-Zélande et en République d'Irlande, suivis de la plupart des centres situés en Amérique du Nord, en Amérique centrale et en Amérique du Sud. Inversement, les nombres de cas recensés les plus faibles provenaient de pays en développement ou faiblement développés comme les pays d'Europe centrale, d'Asie du sud-est, en Chine, à Taiwan, en Ouzbékistan, en Inde ou en Éthiopie. (174)



**Figure 20 : Incidence des pathologies infectieuses et inflammatoires au cours du temps.**

Figure A: Incidence des pathologies infectieuses au cours du temps.

Figure B montre l'incidence des pathologies inflammatoires d'origine immunitaire.

Figure adaptée de Megan Scudellari, Science Writer, 2017.

## **2) Théorie hygiéniste**

### **2.1) Naissance de l'hypothèse**

En 1989, Strachan a proposé l'hypothèse d'hygiène comme base d'explication à la survenue des maladies allergiques constatées (175). Cette théorie soutient que l'exposition

précoce aux agents pathogènes favorise le développement du système immunitaire humain et que, par conséquent, les conditions sanitaires favorables rencontrées dans les pays «occidentalisés» s'opposent au bon développement de réactions immunitaires bénéfiques et contrôlées. Sa théorie repose sur le fait que les enfants grandissant dans des familles nombreuses pourraient être davantage exposés aux microbes dès leur plus jeune enfance en raison de inévitables contacts non hygiéniques. En effet, en 1996, Strachan montre qu'il existe une association entre le rhume des foins et la structure familiale, qui influencerait donc la sensibilité à l'allergie. Les paramètres impliqués sont la taille de la fratrie, l'ordre de naissance et l'alimentation du nourrisson. Selon lui, ces paramètres ont une influence à la hausse sur l'exposition antigénique et concordent avec l'effet protecteur de l'infection postnatale (176). De plus, Strachan a suggéré que cette exposition microbienne accrue au début de la vie pourrait protéger les enfants contre le développement d'une hypersensibilité immunitaire plus tard dans la vie. D'autres études épidémiologiques à l'appui de l'hypothèse d'hygiène associent une réduction de la sensibilisation à l'allergène avec l'exposition des animaux domestiques, la fréquentation de lieux de vie en collectivité, un nombre accru de frères et sœurs. (177, 178)

En outre, une diminution des réactions atopiques chez les enfants a été mise en lien avec un nombre plus élevé d'infections durant la petite enfance. Ainsi, une étude « cas-témoins rétrospective » a montré que les patients atopiques, en particulier atteints d'allergie respiratoire, présentaient une prévalence plus faible de *Toxoplasma gondii*, d'*Helicobacter pylori* et d'hépatite A (microbes oro-fécaux et d'origine alimentaire) par rapport aux témoins non atopiques. (179)

Toutes ces données ont longtemps été considérées comme acceptables et compatibles avec la théorie d'une influence protectrice de certaines infections postnatales qui pourraient être perdue en présence d'hygiène moderne. (180)

## **2.2) Mode d'action dans la théorie hygiéniste selon David Strachan**

En 1986, juste avant la proposition de Strachan concernant l'hypothèse d'hygiène, le groupe de Robert Coffman, a décrit les populations de lymphocytes T helper Th1 et Th2, fournissant une base immunologique à cette théorie. Ils ont démontré que des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> murins totalement différenciés sécrètent deux profils de cytokines distincts (Th1: IFN-

$\gamma$ ; Th2: IL-4) et que les différentes cytokines produisent deux réponses immunitaires différentes. (181)

Les cellules Th2 jouent un rôle primordial dans le processus de sensibilisation à l'allergène (182). L'infection par des virus et des bactéries intracellulaires stimule généralement les réponses immunitaires Th1 et donc la production d'IFN- $\gamma$  qui inhibent les réponses Th2 (183, 184). En conséquence, le concept d'une balance Th1 par rapport à Th2 est apparu, selon lequel un phénotype immunitaire à dominance Th1 (provoqué par des expositions microbiennes en début de vie) pourrait inhiber l'immunopathologie atopique de la voie Th2 produisant des IgE. (172, 181)

### **2.3) Limites et remise en cause de la théorie de Strachan**

Les premiers travaux de Strachan ont laissé penser qu'un déséquilibre entre Th1 et Th2 expliquait les données fournies par l'épidémiologie et les observations cliniques, et que ce déséquilibre était sous-jacent à l'hypothèse d'hygiène. L'hypothèse était que la diminution des infections conduisant à des réponses immunitaires Th1 poussait mécaniquement à un basculement de la balance vers des réponses immunitaires Th2 responsables des réactions allergiques. En 2009, Graham Rook contredit la théorie et le mécanisme physiologique proposé par Strachan. (185)

En effet, les recherches de Rook sur les parasites de la famille des helminthes ont conduit au constat que la théorie de Strachan n'était que partielle dans ses explications, puisque des organismes tels que les helminthes induisaient paradoxalement des réponses Th2 en supprimant la réactivité allergique (186). Graham Rook considère la théorie hygiéniste de Strachan comme une base de réflexion. En revanche, il considère que Strachan se trompe lorsqu'il affirme que seules les infections courantes et répandues, contractées durant l'enfance, sont à mêmes d'avoir un effet protecteur contre les allergies et autres pathologies inflammatoires. Le concept de Strachan nécessite des infections induisant des réponses Th1 pour contrôler des conditions allergiques médiées par la voie Th2. Rook contredit ce concept au vu de l'augmentation simultanée de plusieurs troubles médiés par des réponses Th1, tels que la maladie de Crohn, le diabète de type 1 et la sclérose en plaques. (185, 187)

D'autres travaux appuient la remise en question de la théorie de Strachan par Rook. Premièrement, les cytokines inhérentes à la réponse Th1 comme l'IFN- $\gamma$  sont impliquées en grande quantité dans le mécanisme d'action des troubles asthmatiques dans lesquels on constate que les lymphocytes sécréteurs d'IFN- $\gamma$  sont plus nombreux que dans une population

de témoins non asthmatiques (188). Dans le cas des dermatites atopiques, l'apoptose des kératinocytes, base physiologique de la formation d'eczéma, est principalement induite par les LT et médiée par l'IFN- $\gamma$  (189). Deuxièmement, des déficits fonctionnels de l'IL-12 ou de l'IFN- $\gamma$  ne provoquent pas une incidence ou une sévérité accrue des troubles allergiques, suggérant que chez l'homme la voie Th1 n'est pas un régulateur physiologique des réponses Th2 (190). Dans la même logique, l'ajout de cellules Th1 sur un site inflammatoire impliquant une réponse Th2 peut entraîner une synergie augmentant ou entretenant l'inflammation plutôt qu'une régulation à la baisse de celle-ci (191). De plus, les personnes infectées par les helminthes, parasites qui renforcent les réponses Th2, sont paradoxalement moins susceptibles d'avoir une sensibilisation allergique ou des troubles allergiques, et le traitement de l'infection conduit à une sensibilisation allergique accrue. (192)

Enfin, la mise en évidence d'une augmentation des maladies inflammatoires chroniques à médiation Th1 ou Th17 comme le diabète de type 1, la sclérose en plaques, les maladies intestinales inflammatoires, et du fait que ces pathologies apparaissent dans les mêmes pays où l'on constatait l'augmentation des troubles allergiques, cela a invalidé l'hypothèse du déséquilibre Th1/Th2 comme mode d'action de la théorie hygiéniste. (193, 194)

### **3) Description de la théorie des vieux amis**

#### **3.1) Naissance de l'hypothèse**

L'augmentation des troubles inflammatoires chroniques trouve un début d'explication dans l'hypothèse de l'hygiène de Strachan mais Rook la considère comme imprécise tant dans ses causes que dans ses conséquences, notamment en mettant en avant le contre-exemple des « infections de foule » (195). Strachan considérait les infections pouvant être rencontrées fréquemment durant l'enfance comme faisant partie des microbes pertinents pour l'éducation immunitaire d'un enfant. Plus tard il fut établi que la plupart des virus infantiles, tels que la rougeole, les oreillons et la varicelle, ne protègent généralement pas contre les troubles inflammatoires chroniques (178, 196, 197). Dunder T et al notamment ont montré que la prévention des infections entériques et des voies respiratoires courantes au cours de la petite enfance ne modifie pas la morbidité allergique ultérieure, et peuvent même en être à l'origine. (198, 199). Graham Rook pour se différencier de Strachan, sépare les « vieux amis » des agents pathogènes responsables des « infections de foule » qui ont commencé à infecter

l'homme après la première transition épidémiologique, lorsque la révolution néolithique avait conduit à l'agriculture, donc à la sédentarisation et à de vastes agglomérations, puis à l'urbanisation. Ces micro-organismes n'ont pas un parcours de co-évolution avec l'homme comme les « vieux amis ». Ils sont bien plus virulents et sont à même de donner la mort en proportion plus importante de par leur propagation rapide. Ils sont capables de déclencher des épidémies dans des populations rassemblées en zone urbaine sans pour autant être bénéfique à la maturation du système immunitaire au début de la vie notamment dans la mise en place de l'immuno-régulation. Ces infections dangereuses ont un caractère sporadique et les pathogènes responsables ne sont pas présents sur le long terme, par conséquent, il n'existe pas d'évolution bénéfique entre eux et l'homme. Ce sont par exemples des infections telles que la rougeole qui ne joue aucun rôle physiologique pour développer les capacités d'immuno-régulation d'un nouveau-né. Les infections de foule n'ont aucune capacité à éviter l'auto-immunité et les pathologies inflammatoires de l'intestin. Ainsi, les infections de foule n'expliquent pas les observations originales de Strachan qui ont conduit à la formulation du terme « hypothèse d'hygiène ». (199, 200, 201, 202)

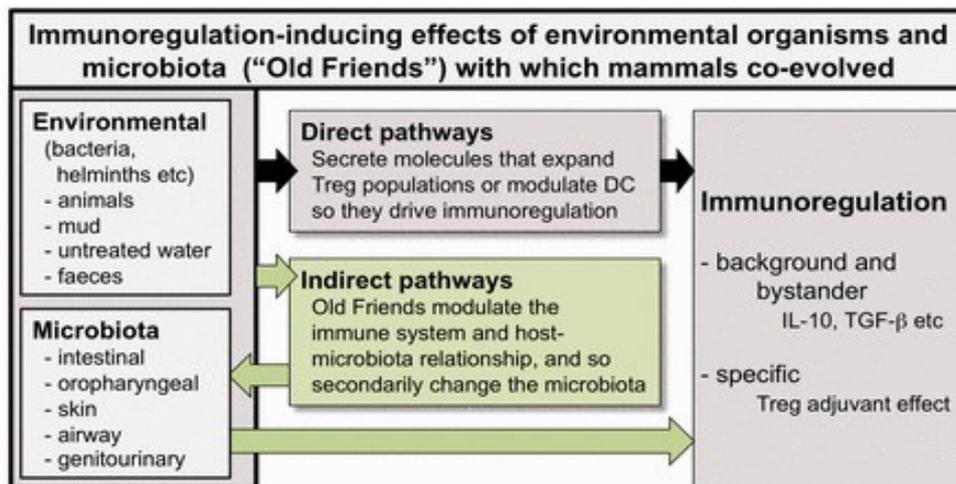
Rook élabore alors une variante de cette hypothèse appelée « théorie des vieux amis » qui suppose l'existence d'une évolution bénéfique entre des organismes de l'environnement, comme les parasites de la famille des helminthes, et le système immunitaire humain. (203)

Cette théorie stipule que ces organismes de l'environnement sont nécessaires au développement normal du système immunitaire, et que la perte de contact avec eux est responsable de la hausse du nombre des pathologies inflammatoires d'origine immunitaire comme les allergies, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immunes (187). Plus précisément, dans une publication de 2004, Rook affirme que l'augmentation des maladies auto-immunes et/ou inflammatoires ne seraient pas attribuables à une dérégulation de la balance Th1/Th2 mais à un mauvais fonctionnement des lymphocytes T régulateurs (Treg), indispensables à la régulation des réponses immunitaires. Le mécanisme d'action proposé sera développé plus tard dans le chapitre (partie 3). Ces dysfonctionnements des cellules Treg résulteraient de la diminution de l'exposition à certains micro-organismes qu'il appelle "vieux amis", et qui auparavant co-évoluaient dans l'histoire avec l'Homme. Ces organismes, qui comprennent les mycobactéries saprophytes, les helminthes et les lactobacilles notamment, sont reconnus par le système immunitaire inné comme n'étant pas dangereux et comme adjuvants pour l'induction des cellules T régulatrices et d'une réponse

tolérogène. De plus, ces organismes, parce qu'ils devaient être tolérés, ont joué un rôle d'inducteurs des circuits immuno-régulateurs. (203, 204, 205)

Ces microbes sont soit retrouvés dans les divers microbiotes, soit dans l'environnement et proviennent alors d'animaux, de la boue, de l'eau non traitée et de l'alimentation avec laquelle nous étions en contact quotidien jusqu'à récemment. (180) (Figure 21)

Le contact avec les « vieux amis » immuno-régulateurs a donc rapidement diminué avec l'industrialisation et l'assainissement pour ne pas dire l'aseptisation de l'environnement dans lequel l'Homme évolue, l'alimentation qui est basée sur la consommation d'aliments lavés et d'eau traitée au chlore et les contacts maintenant restreints avec la boue, les animaux et les matières organiques à la biodiversité riche et variée.



**Figure 21 : Immuno-modulation par les microbes.** Figure issue de Graham Rook et al, 2013

Les microbes de l'environnement et des divers microbiotes modulent le système immunitaire. Une partie de cela est due aux effets directs de produits microbiens sur des éléments du système immunitaire. Mais la modulation du système immunitaire modifie également de manière secondaire la relation hôte-microbiote et conduit à des modifications de la composition du microbiote, et donc à des modifications ultérieures de l'immuno-régulation. (Figure 21)

### **3.2) Mécanismes d'action des vieux amis**

Les cellules T naïves peuvent se différencier en cellules T helper ou T régulatrices. En ce qui concerne les cellules T helper, on a longtemps distingué deux réponses principales, les réponses de type Th1 et de type Th2. (206)

La réponse Th1 est impliquée dans la pathogenèse des maladies auto-immunes et associée à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, notamment IL-6, l'IL-12, l'interféron IFN- $\gamma$  et le TNF- $\alpha$ . Inversement, la réponse Th2 est davantage impliquée dans les troubles atopiques et se caractérise par une expansion des mastocytes, des éosinophiles et une augmentation des taux d'IL-4, d'IL-5, d'IL-9, d'IL-10, d'IL-13 et particulièrement d'IgE (196, 207). Comme vu précédemment, la théorie de l'hygiène reposait, en partie, sur des expériences dans des modèles murins de maladies auto-immunes infectées par des helminthes qui stipulaient que ces parasites agissaient sur la balance Th1 / Th2 au profit des Th2 en inhibant la polarisation des Th1, ce qui produisait un effet protecteur contre les maladies auto-immunes médiées par Th1. (208)

Cependant, comme l'a montré Rook cette hypothèse de mécanisme n'expliquait pas l'épidémiologie montrant un effet protecteur des helminthes également vis-à-vis des maladies allergiques. En effet, en favorisant une différenciation Th2, les helminthes devraient augmenter les troubles atopiques de par l'augmentation de la synthèse d'IgE. Par conséquent, il est devenu de plus en plus évident que d'autres acteurs cellulaires sont impliqués dans l'immuno-régulation médiée par des helminthes tels que les cellules Th17 et Treg. Les cellules Th17 constituent un sous-ensemble récemment défini de cellules Th sécrétant principalement de l'IL-17 et dont le rôle dans les maladies auto-immunes a été largement documenté (209, 210). Les cellules Treg, quant à elles, contrôlent à la fois les allergies à médiation Th2 et les troubles inflammatoires à médiation Th1 / Th17, principalement par la sécrétion de IL-10 et de TGF- $\beta$ . (211, 212, 213)

Ce nouveau paradigme dans le mécanisme d'action des hypothèses hygiénistes suggère que la cause de survenue des pathologies inflammatoires n'est pas la balance Th1 / Th2, mais plutôt l'échec croissant, dans les pays riches et développés, de mécanismes immunorégulateurs devant mettre fin aux réactions inflammatoires inappropriées, qu'il s'agisse de Th1 (ou Th17) ou de Th2. (185). Il a été démontré pour appuyer cette nouvelle thèse que l'immuno-régulation était défectueuse chez les personnes souffrant de troubles

allergiques (214), de certaines maladies auto-immunes (215), ainsi que de maladies inflammatoires de l'intestin (216, 217)

### **3.3) De quels changements d'exposition parle-t-on ?**

Rook parle de changements, et plus précisément de diminution, de l'exposition aux « vieux amis ». Ceci peut impliquer l'élimination de micro-organismes appartenant aux « vieux amis », une modification de la quantité et de la présence des micro-organismes ou de ses composants, ou d'un contact retardé avec l'un d'eux. Ainsi, l'élimination de la plupart des helminthes et du VHA (virus de l'hépatite A) est bien établie, et ils sont considérés par Rook comme faisant partie des « vieux amis ». (218)

Par exemple, en 1947, on estimait qu'environ 36% de la population européenne était infectée par les helminthes dont *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura* et *Ascaris lumbricoides*, mais ces infections parasitaires ont presque totalement disparu (219). De plus, un changement quantitatif de l'exposition à des composants microbiens peut modifier et influencer la différenciation des lymphocytes qui sont induits par les effets adjuvants de ces mêmes microbes. Par exemple, les doses de lipopolysaccharides déterminent si le nombre et l'activité des lymphocyte T helper de type 2 sont augmentés ou diminués. (220)

### **3.4) De quels vieux amis parle-t-on ?**

Selon Rook, les micro-organismes les plus intéressants sont ceux ayant un rôle immunorégulateur, et ceux qui faisaient partie de notre environnement naturel. (196)

Adossant sa théorie à celle de l'évolution de Darwin, ils désignent les « vieux amis » comme ceux avec lesquels nous avons évolué et vivions en contact étroit depuis des périodes aussi anciennes que le Paléolithique, et ce jusqu'à il y a quelques décennies. A cette période de rupture, la société était encore largement rurale, vivant dans des fermes et en contact avec des animaux et est devenue peu à peu urbaine, évoluant dans des conditions sanitaires plus maîtrisées. (204)

Les vieux amis peuvent être des virus, des bactéries, des parasites. Ainsi, l'analyse des arbres phylogénétiques de *Mycobacterium tuberculosis* et *Helicobacter pylori* pour les bactéries, d'helminthes intestinaux et nématodes sanguins, le virus de l'hépatite A et leur comparaison avec l'arbre phylogénétique humain révèlent comment les infections anciennes ont évolué et se sont propagées dans le monde entier avec les populations humaines (221, 222,

223, 224). Plus précisément, l'évolution de notre environnement microbien et de nos « vieux amis » à travers les millénaires a été analysée par Rook. (225, 226)

Dans ses récentes études, il réaffirme que les micro-organismes les plus pertinents pour jouer un rôle d'immuno-régulation faisaient partie de l'environnement naturel de notre espèce. (204) De ce fait, il apparaît évident que les helminthes et les micro-organismes transmis par voie oro-fécale ou pouvant être portés sans symptômes cliniques soient des constituants de ces vieux amis. On peut citer notamment le virus de l'hépatite A dont on sait aujourd'hui qu'il exerce un rôle favorable contre le développement de l'asthme (218), les Mycobactéries telles que *Mycobacterium tuberculosis* agent de la tuberculose ou le saprophyte *Mycobacterium vaccae* (227), et *Toxoplasma gondii* parasite responsable de la toxoplasmose, *Helicobacter pylori*, (228) ou encore des parasites intestinaux tels que *Heligmosomoides polygyrus* ou *Teladorsagia circumcincta*. Enfin les microorganismes composant les flores commensales cutanées, intestinales, oro-pharyngé, génito-urinaire et la flore environnementale sont nommées par Rook comme « pseudo-commensales » (présentes dans la boue, l'eau, le sol, les plantes, les animaux) et sont incluses dans ces « vieux amis ».

En accord avec la théorie des « vieux amis », l'influence de différents micro-organismes cités ci-dessus sur le système immunitaire a été démontrée. Par exemple, les infections parasitaires chez la femme enceinte sont systématiquement traitées aujourd'hui dans de nombreux pays. Si certains parasites, notamment les helminthes, sont bénéfiques à l'éducation du système immunitaires d'un nouveau-né, il apparaît important d'étudier les conséquences de ces traitements antiparasitaires sur l'immunité de l'enfant. Mpairwe et al. ont ainsi montré que le traitement antiparasitaire pendant la grossesse augmente le risque d'eczéma et de respiration sifflante chez le nourrisson (229). De plus, une étude réalisée en Afrique du Sud, région où l'incidence de la tuberculose est élevée, a montré en 2005 que l'infection à *Mycobacterium tuberculosis* semble réduire la prévalence de la rhinite atopique chez les enfants. (230)

Ensuite, *Mycobacterium vaccae* un saprophyte de l'environnement peut inhiber les réponses Th2 induites par les cellules dendritiques dans un modèle murin. (227)

Enfin, de nombreux «vieux amis» sont des constituants du microbiote intestinal ou des parasites intestinaux (231). Par exemple, Atarashi et ses collaborateurs ont montré que les bactéries de genre *Clostridium*, favorisent l'accumulation de lymphocytes T régulateurs et créé un environnement riche en TGF- $\beta$  affectant le nombre de cellules T FoxP3+ et leur fonction dans le côlon. L'inoculation orale de *Clostridium* au début de la vie de souris a

entraîné une résistance à la colite et à la production d'IgE chez la souris adulte (138). De même Grainger JR et al. ont montré que des helminthes tels que *Heligmosomoides polygyrus* ou *Teladorsagia circumcincta* étaient capables de stimuler l'expression de FoxP3 chez des cellules T naïves, inhibant ainsi à la fois la prolifération cellulaire effectrice in vitro et l'inflammation allergique des voies respiratoires in vivo (232). Ajoutons que, comme nous l'avons vu précédemment, d'autres microbiotes, tels que ceux de la peau ou de la muqueuse buccale, peuvent également influencer l'immunité locale et être utiles pour l'immuno-régulation. (233, 234)

### **3.5) Conséquences de l'hypothèse des vieux amis**

Plusieurs observations attestent d'une association entre l'absence ou la diminution du contact avec les « vieux amis » et les pathologies inflammatoires chroniques. Tout d'abord, ces troubles présentent tous des échecs de la fonction d'immuno-régulation (235). De plus, il a été démontré que les «vieux amis» sont proactifs et dirigent le système immunitaire vers l'immuno-régulation et sont capables de bloquer l'inflammation dans des modèles expérimentaux de pathologies immunitaires chroniques. (4, 236, 237)

Il est aussi démontré que certaines molécules issues des vieux amis telles que le HES (H.polygyrus excretory-secretory antigen), sécrétée par un helminthe, sont à même de développer spécifiquement des populations de lymphocytes T régulateurs (138, 232), ou provoquent le passage des cellules dendritiques à des phénotypes régulateurs qui induisent de préférence une immuno-régulation (238). En effet , Correale J et al. montrent que les patients atteints de sclérose en plaques et infectés par des helminthes voient la progression de leur maladie cesser et l'atténuation des symptômes cliniques du fait de l'induction de lymphocytes T régulateurs, spécifiques de la gaine de myéline recouvrant les nerfs (239 , 240)

Ainsi on peut considérer que les helminthes appartenant aux vieux amis ont un rôle d'adjuvants des cellules T régulatrices. Cette observation est étayée par des expériences et essais cliniques, notamment effectués par Fleming et al. sur la sclérose en plaque, dans lesquels des augmentations du taux sérique des cytokines IL-4 et IL-10 ont été observées après l'administration d'un helminthe non pathogène, *Trichuris suis*. Fleming et ses collaborateurs ont montré que d'un point de vue clinique, on observait une nette diminution des lésions à l'IRM. (241)

## **4) Le cas des helminthes**

Parmi les « vieux amis » de Rook, j'ai choisi de m'intéresser plus particulièrement aux helminthes. En effet, de nombreuses expériences ont étudié l'exposition aux helminthes, particulièrement parce qu'ils sont susceptibles de devenir des traitements probiotiques d'avenir. Leurs capacités immunomodulatrices pourraient être utilisées pour diminuer les symptômes de pathologies d'origine immunitaire. Il semble donc intéressant de mettre en avant les avancées récentes dans ce domaine.

### **4.1) État des lieux de l'exposition aux helminthes.**

Les helminthes sont des vers eucaryotes. Ces parasites se divisent en deux taxons: les Plathelminthes comprenant les trématodes et les cestodes, et les Nematelminthes qui comprennent les nématodes. (242)

Notons en tout premier lieu qu'au même titre que d'autres pathologies infectieuses virales ou bactérienne, les infections à helminthes ont considérablement diminué et ont presque été éliminées. Ceci est dû, comme pour les autres sources d'infections à l'urbanisation et la migration des populations vers les villes, ainsi que des mesures de santé publique, telles que le contrôle de la production alimentaire, la qualité de l'eau et les progrès en matière d'assainissement et les soins de santé. (243).

En 2008, Hotez PJ et al. ont estimé qu'environ 37% de la population mondiale était infectée par les helminthes, principalement dans les pays en développement, les infestations par les helminthes étant maintenant réduites à de rares cas dans les pays industrialisés. (196, 243, 244)

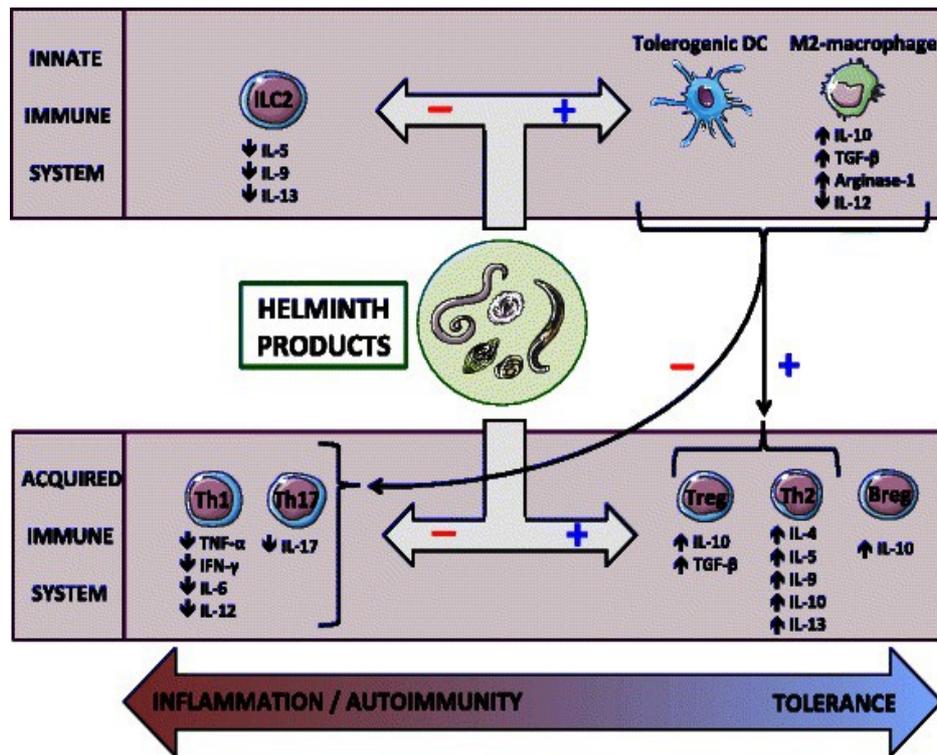
Les helminthes ont un mode de survie parasitaire. Ils vivent le plus souvent dans le tractus gastro-intestinal d'un hôte, mais peuvent également coloniser d'autres organes comme le sang ou les muscles. En rapport avec la théorie des vieux amis de Rook, il est à noter que les helminthes ont co-évolué avec l'homme depuis des millénaires; leur objectif n'est pas de tuer leur hôte mais de survivre le plus longtemps possible en créant un état de tolérance. Pour y parvenir, les helminthes sont capables, par divers mécanismes, de moduler le système immunitaire de l'hôte afin d'empêcher une activation susceptible de conduire à leur élimination, sans provoquer pour autant une immunosuppression trop profonde qui ferait

mourir l'hôte de l'infection. De plus, une réaction immunitaire trop importante peut être délétère pour l'hôte. Par exemple, une réaction disproportionnée pour détruire les micro-filaires de *Brugia malayi* aboutit à un blocage lymphatique et à l'éléphantiasis. (245)

Cette immuno-modulation, en évitant une activation excessive du système immunitaire, contribue à la protection de l'hôte contre les troubles inflammatoires. (185)

#### **4.2) Mécanismes des helminthes pour influencer les réponses immunitaires**

Les modèles animaux sont des supports de choix pour comprendre l'influence des helminthes sur le fonctionnement du système immunitaire. De nombreuses études mettent en lumière les mécanismes complexes par lesquels ces parasites sont capables de moduler une réponse immunitaire et d'influencer le comportement du système sur le long terme. La relation hôte-parasite a évolué de sorte que, plutôt que de provoquer des réponses immunitaires agressives inutiles et dommageables, ces organismes dirigent la réponse du système immunitaire vers les cellules T régulatrices plutôt que les cellules effectrices Th1 ou Th2 (238, 246). Les helminthes favorisent également un phénotype régulateur des cellules B, des cellules dendritiques et des macrophages. Les cellules dendritiques tolérogènes et les macrophages régulateurs M2 contribuent au passage d'un profil Th1 / Th17 à un profil Th2 / Treg. Enfin, ces parasites peuvent entraver la prolifération d'ILC2 (innate lymphoid cells), un sous-ensemble de cellules immunitaires innées responsables de réponses allergiques. Ainsi, les helminthes créent un environnement tolérant assurant leur propre survie mais protégeant également l'hôte des affections à médiation immunitaire en limitant les phénomènes excessifs d'inflammation et d'auto-immunité (Figure 22). (186, 225, 247, 248, 249)



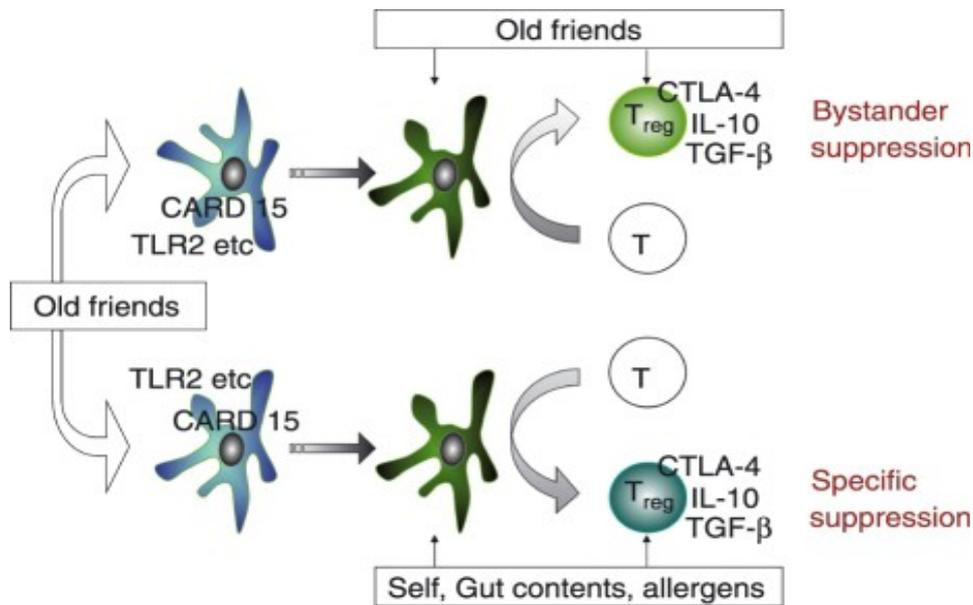
**Figure 22 : Capacités d'immuno-régulation des helminthes.**

La modulation par les helminthes se fait au niveau des systèmes immunitaires inné et adaptatif . (Breg, cellule de régulation B; DC, cellule dendritique; IFN, interféron; IL, interleukine; ILC2, cellule lymphoïde innée de type 2; TGF, facteur de croissance transformant; Th, cellule T helper; TNF, facteur de nécrose tumorale; Treg, cellule T régulatrice). Figure adaptée de Versini et al, 2015.

#### **4.2.1) Étude des cellules dendritiques.**

Les cellules dendritiques occupent une position centrale dans l'architecture du système immunitaire et dans les réactions qu'il met en œuvre au niveau inné et adaptatif. Leur capacité à capturer, analyser puis présenter les antigènes aux cellules T en font des acteurs de premier ordre dans la relation avec les antigènes de l'environnement. Les récepteurs de la famille des PRR (pattern recognition receptor), notamment les récepteurs de type Toll (TLR) et les récepteurs de lectine de type C, sont particulièrement importants dans ce processus (250, 251). La façon dont les cellules dendritiques vont se comporter après une exposition antigénique détermine la polarisation des cellules T dont nous avons parlé précédemment

(252). Ainsi, les cellules dendritiques peuvent se diriger vers une réaction immunogène ou une réaction toléro-gène, capable d'initier des réponses Th2 et Treg. (253)



**Figure 23 : Activité des cellules dendritiques dans la théorie des vieux amis.** Figure adaptée de Graham Rook, 2009.

Les helminthes peuvent être détectés par des PRR (Pattern Recognition Receptor) comme TLR2 et CARD15 exprimés par les cellules dendritiques. (Figure 23)

Ces cellules mûrissent alors en cellules dendritiques régulatrices inductrices de Treg spécifiques aux antigènes des helminthes. Ceci conduit à deux mécanismes qui aident à contrôler une inflammation inappropriée. Premièrement, la présence constitutive des vieux amis dans les flores commensales entraîne l'activation continue des cellules dendritiques régulatrices et des cellules Treg spécifiques des vieux amis, ce qui entraîne une régulation constante des réponses inflammatoires. Deuxièmement, ce nombre élevé de cellules dendritiques régulatrices conduit à une augmentation de la prise en charge, par ces mêmes cellules, d'antigènes du soi, d'antigènes contenus dans l'intestin et d'allergènes venant de l'extérieur. Par conséquent, le nombre de lymphocytes T régulateurs spécifiquement de ces antigènes est également augmenté, régulant à la baisse l'auto-immunité, les maladies inflammatoires de l'intestin et les allergies. (185)

De plus, dans deux études utilisant un modèle murin de pathologie inflammatoire intestinale spontanée, les auteurs, Hang L et al. et Blum AM et al. ont prouvé que *Heligmosomoides polygyrus*, un helminthe intestinal, avait la capacité de diminuer voire supprimer l'inflammation de la muqueuse de l'intestin, soit par infection directe des modèles animaux (254), soit par transfert de cellules dendritiques de souris infectées à des souris atteintes de la pathologie (255). Ainsi, il a été démontré que *H. polygyrus* est un médiateur puissant de la réponse immunitaire dans un modèle de pathologie inflammatoire et qu'il constitue une protection contre cette inflammation de par sa capacité à réguler la fonction des cellules dendritiques et de les tourner vers un phénotype régulateur. Les cellules dendritiques tolérogènes exposées à *H. polygyrus* ont inhibé les réponses IFN- $\gamma$  / IL-17.

Les cellules dendritiques tolérogènes sont essentielles à la prévention de l'auto-immunité et il semble que les produits d'Helminthes sont capables de moduler la signalisation en courant continu pour diriger leur différenciation vers une réaction de tolérance. (196, 252) En d'autres termes, la présence de parasite semble être à l'origine du développement des cellules dendritiques tolérogènes et donc des cellules Treg qui reconnaissent aussi des auto-antigènes et inhibent les processus pathologiques. Un exemple frappant de cet effet est fourni par une expérience de Correale et al en 2007 dans laquelle des patients argentins atteints de sclérose en plaques ont été suivis pendant 4 à 6 ans. Il a été constaté que les personnes qui développaient des infections parasitaires (non traitées) présentaient nettement moins d'exacerbations que celles qui n'en souffraient pas. De plus, elles développaient également des cellules Treg spécifiques qui répondaient à la protéine basique de la myéline en libérant de l'IL-10 et du TGF- $\beta$ . (239)

#### **4.2.2) Étude des réponses Th1/Th2/Th17**

Le contact avec les parasites helminthiques déclenche une réponse de type Th2 et diminue la différenciation Th1 et Th17 ( diminution des TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-12, IL-17), en augmentant la libération de cytokines de la voie Th2 (IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13). De plus, les produits des vers améliorent la prolifération des cellules Treg, ces dernières entravant la polarisation Th1 / Th2 / Th17 principalement par la sécrétion d'IL-10 et de TGF- $\beta$  (256, 257, 258). Par exemple, Gruden-Movsesijan et al. ont réduit les manifestations cliniques de l'encéphalomyélite auto-immune (modèle murin de la sclérose en plaque) après infestation des rats de l'expérience par *Trichinella spiralis*. Ce parasite a induit une différenciation Th2

des lymphocytes T et une production d'IL-4 et d'IL-10, ainsi qu'une diminution des taux d'IFN $\gamma$  et d'IL-17. Le contact avec le parasite a conduit le système immunitaire à produire une proportion plus élevée de cellules régulatrices CD4 (+) CD25 (+) Foxp3 (+). De plus une étude japonaise sur la même pathologie utilisant la même famille de parasite *Trichinella*, montre aussi que l'infiltration de cellules inflammatoires est moindre dans le système nerveux chez un sujet atteint d'encéphalomyélite auto-immune infecté par le parasite. Les taux d'IL-17, IL-6, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  et TNF- $\alpha$  ont diminué, et infléchit la réponse par voie Th1, parallèlement à une augmentation de la réponse par la voie Th2. (257). Ensuite, dans un modèle expérimental murin de MICI (maladies inflammatoires chroniques de l'intestin), Elliott DE et al. ont étudié après infestation par *Heligmosomoides polygyrus*, la production d'IL-17, facteur fortement pro-inflammatoire.. Il s'est avéré que la présence du parasite réduisait ce taux d'IL-17 produits dans les ganglions lymphatiques mésentériques, et inhibait sa production dans les cellules de la lamina propria. D'un point de vue clinique, cela entraîne une diminution de la sévérité des symptômes cliniques, avec une diminution du score de la maladie. (256)

Osada Y et al. ont étudié les effets de l'infection à *Schistosoma mansoni* sur l'arthrite induite par le collagène de souris, l'un des modèles animaux les plus utilisés pour la polyarthrite rhumatoïde. (259)

L'infection à *S. mansoni* a réduit de manière significative la gravité de l'arthrite. Les taux d'IgG et d'IgG2 anti-collagène étaient plus bas chez les souris infectées que chez les souris non infectées. En ce qui concerne les cytokines chez les souris infectées, la régulation à la baisse de Th1 (IFN $\gamma$ ) et de cytokines pro-inflammatoires (TNF $\alpha$  et IL-17), et la régulation à la hausse de Th2 (IL-4) et d'une cytokine anti-inflammatoire. (IL-10) ont également été observées (260). Les parasites helminthiques sont donc aussi capables de privilégier la polarisation Th2 par rapport à la polarisation Th1, comme montré dans de nombreuses autres études. (257, 258, 259, 261, 262, 263, 264, 265)

Un des mécanismes majeurs découlant de la stimulation du système immunitaire par les helminthes est la prolifération des cellules Treg ainsi que la sécrétion de médiateurs anti-inflammatoires : IL-10 et TGF- $\beta$ . L'action des helminthes ne touche donc pas qu'un seul paramètre de la régulation mais plusieurs conjointement aboutissant à une déviation de la réaction des voies pro-inflammatoires vers la voie de la tolérance. (248, 257, 258, 259, 261, 262, 263, 264, 265)

### **4.2.3) Étude des lymphocytes B**

Les lymphocytes B conventionnels peuvent être responsables de l'activation des cellules T et de la production d'anticorps. Une autre population de lymphocytes B a récemment été mise en évidence. Il a été démontré que des cellules B régulatrices régulent à la baisse la réponse immunitaire en produisant des cytokines régulatrices, principalement l'IL-10, et ce par interaction directe avec les cellules T qui produisent moins d'interféron  $\gamma$ , d'interleukine 4 et d'interleukine 17. La fonction régulatrice des cellules Breg a depuis été démontrée dans diverses conditions pathologiques, y compris dans les maladies auto-immunes. (266, 267)

Or, les helminthes peuvent aussi favoriser la prolifération de cellules B-régulatrices (Breg) (268, 269). Les souris CIA (collagen induced arthritis), sont un modèle expérimental d'étude d'arthrite auto-immune. Rodgers DT et al. ont montré que ES-62, une molécule sécrétée par le nématode filarien parasite *Acanthocheilonema viteae*, protège les souris du développement de l'arthrite induite par le collagène. ES-62 est associée à une suppression des réponses T helper de type 1 (Th1) / Th17, à une réduction des anticorps IgG2 spécifiques du collagène et à une augmentation de la production d'interleukine 10. ES-62, en plus de moduler la réponse des cellules T, est capable de rétablir les niveaux de cellules de Breg productrices d'IL-10 tout en réduisant l'infiltration des plasmocytes dans les articulations. (270)

En effet, ES-62 a réduit le nombre de cellules B effectrices, en particulier les plasmocytes, ainsi que leur capacité d'infiltration dans les articulations. Les lymphocytes B infiltrés ont montré des niveaux considérablement réduits des TLR et des marqueurs d'activation, CD80 et CD86. Cela suggère une modulation de l'équilibre entre les réponses des cellules B effectrices et régulatrices. Fait intéressant, Correale et al. ont démontré que les patients atteints de sclérose en plaques infectés par un helminthe possédaient une population de cellules de Breg produisant de grandes quantités d'IL-10 ainsi que des facteurs neurotrophiques impliqués dans la croissance et le développement des neurones. Ces patients présentaient une activité clinique et radiologique de la maladie significativement inférieure à celle des patients non infectés. (271)

### **4.2.4) Étude des macrophages M2**

Les macrophages peuvent s'activer selon deux voies selon la stimulation. Les ligands du TLR ou l'IFN- $\gamma$  conduisent à l'activation classique de M1. La voie alternative M2 peut être

stimulée par l'IL-4 et l'IL-13. A la différence des macrophages M1, ils ont une faible expression de l'IL-12, une expression élevée de l'IL-10, du TGF- $\beta$  et de l'arginase-1, ce qui leur confère des fonctions anti-inflammatoires et immunosuppressives. (272)

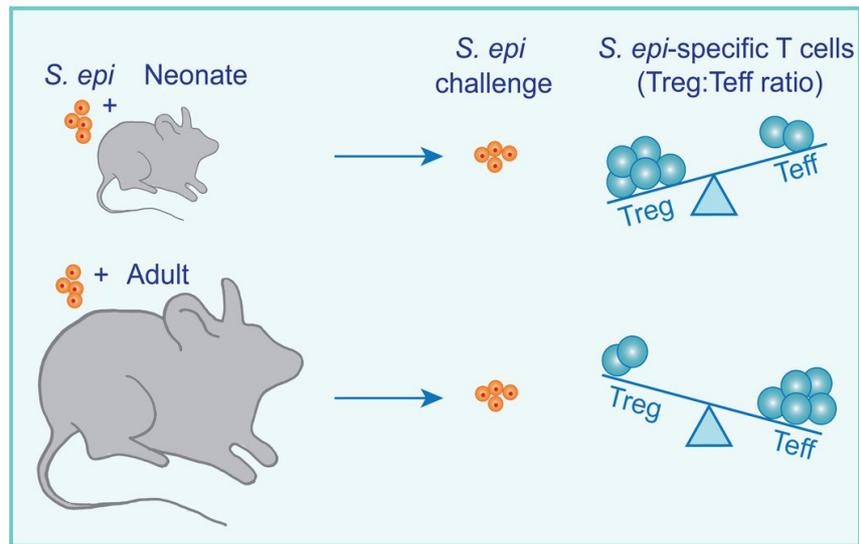
Ainsi, en utilisant un modèle de souris avec des macrophages à la voie de l'IL-4 inhibée, il a été montré que la génération de macrophages M2 est essentielle à la survie des souris pendant la schistosomiase par leurs effets inhibiteurs sur la réponse Th1. Herbert DR et al. ont montré que les macrophages M2 pendant une infection parasitaire jouent un rôle particulier pour la protection contre les lésions organiques en régulant l'inflammation induite par ceux-ci. (273)

## **5) Importance d'une exposition en début de vie**

Lorsqu'on regarde en détail les diverses expositions environnementales et les conséquences sous-jacentes potentielles, il convient de garder à l'esprit qu'il a été démontré que l'effet d'une exposition antigénique dépend du moment où elle intervient. Au moins pendant la petite enfance, l'enfance et l'adolescence, l'organisme humain est dans un stade de développement et de maturation constant. Comme vu précédemment ces processus physiologiques affichent des fenêtres d'accessibilité et de vulnérabilité aux influences intrinsèques et extrinsèques à l'individu uniquement à certains stades de développement. C'est ce qui a été nommé fenêtre d'opportunité. (274) Des études suggèrent que le début de la vie, à savoir la grossesse et les premières années allant de 1 à 3 ans, est une période clef durant laquelle les expositions aux organismes de l'environnement peuvent modifier les réponses immunitaires innées et adaptatives futures.

Comme décrit dans la partie précédente traitant de la colonisation microbienne après la naissance, le microbiome dans les différents territoires de l'organisme peut évoluer rapidement au début de la vie. Par exemple, le microbiome du tractus gastro-intestinal du nourrisson évolue chaque semaine au début de la vie dans son importance quantitative et sa diversité (275). Cependant, comme l'indiquent de récentes enquêtes, le microbiome en transition au cours de la première année de vie, mais non ultérieurement, est pertinent pour éviter le développement de l'allergie et de l'asthme (276, 277). Ceci est corroboré par une étude sur des modèles murins dans lesquels une colonisation intestinale précoce avec le *Clostridia* commensal induit le développement de lymphocytes T régulateurs et donc empêche le phénotype de l'asthme allergique. Cependant, une colonisation à l'âge adulte est inefficace. (138)





**Figure 24 : La tolérance immunitaire en fonction de l'âge.** Figure adaptée de Tiffany C. Scharschmidt, 2018.

Reprenons l'exemple des souris colonisées avec Epi2W (Figure 24). Une colonisation des souris néonatales et adultes avec Epi-2W a été mise en œuvre, puis après plusieurs semaines, elles ont à nouveau été mises en présence de la bactérie. Suite à ce défi, la population de cellules T spécifiques au commensal ainsi que le degré d'inflammation de la peau ont été analysés. Il en résulte que la colonisation des nouveau-nés par Epi-2W a déclenché la réaction d'une population de lymphocytes T CD4 + spécifiques du commensal, largement dominée par les cellules T régulatrices. A l'inverse, la colonisation des adultes par Epi-2W a conduit à une nette augmentation de la population de cellules lymphocytaires T effectrices plutôt que des cellules Treg CD4 +. De plus, la colonisation Epi-2W néonatale protégeait contre l'inflammation de la peau lors de la provocation contrairement aux adultes chez qui il a été observé une inflammation. Dans leur ensemble, ces résultats montrent que la tolérance immunitaire aux bactéries commensales de la peau s'établit préférentiellement au début de la vie. (113, 278)

Les helminthes ont été inversement associés aux allergies et à l'asthme (279). La possibilité que cet effet protecteur des helminthes commence au début de la période prénatale est suggérée par un vaste essai contrôlé randomisé dans lequel un traitement antihelminthique avec l'albendazole pendant la grossesse était associé à une probabilité accrue d'eczéma et de sifflements récurrents (280). Certains auteurs ont émis l'hypothèse que les expositions

précoces aux géohéminthes pourraient programmer le système immunitaire du nourrisson pour une réduction de l'allergie (281, 282). Rodrigues LC et al. ont montré que les enfants fortement infectés par *Trichuris trichiura* au cours de leur petite enfance présentaient une prévalence considérablement réduite de la réactivité au test cutané à l'allergène plus tard dans l'enfance, même en l'absence d'infection à *T. trichiura* au moment des tests cutanés effectués. Les infections lourdes précoces dues à *T. trichiura* peuvent protéger contre le développement de la réactivité aux tests cutanés allergènes plus tard dans l'enfance. Les infections géohelminthiques chroniques chez les enfants sont associées à une accumulation accrue par les leucocytes du sang périphérique non stimulés de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 (283). Une étude antérieure sur des enfants du Cameroun infectés par *A. lumbricoides* et *T. trichiura* avait mis en évidence une association inverse entre l'intensité de l'infection par la géohelminthie et la réactivité immunitaire, associée à une production accrue in vitro d'IL-10 et de TGF- $\beta$ 1 par des cellules du sang périphérique non stimulées. (284)

En outre, une étude sur les enfants des quartiers pauvres de Salvador, au Brésil, a montré que la présence d'IL-10 spontanée décelable était associée à un accès insuffisant à l'assainissement et aux infections à géohelminthes dans la petite enfance. (285, 286)

Une production élevée d'IL-10 par les cellules immunitaires peut supprimer la réactivité immunitaire. (287)

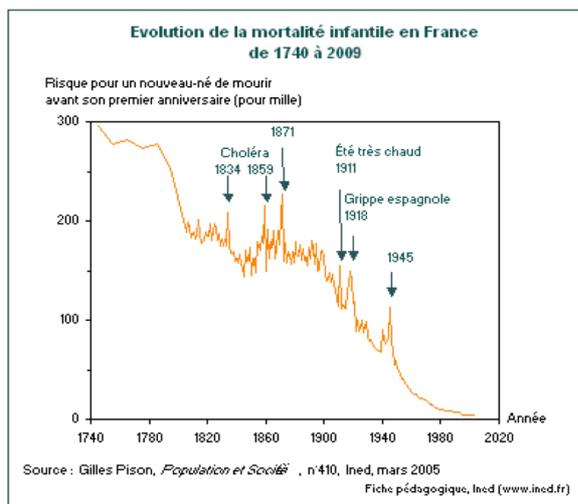
## **CHAPITRE 4 : Exposition antigénique ciblée: la vaccination**

Quarante-cinq pourcents des décès des enfants de moins de cinq ans surviennent à la période néonatale, celle-ci est donc considérée comme critique par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (288). Plus précisément, les infections néonatales représentent actuellement environ 7 millions de cas par an, pour 4,1 millions de décès durant la première année de vie, la plus grande partie étant concentrée dans les régions à faible niveau de vie (288, 289). Le nombre élevé de maladies en période néonatale est en partie dû aux particularités du système immunitaire néonatal décrites auparavant. Malgré cette capacité limitée du système immunitaire néonatal à développer de puissantes réponses immunitaires spécifiques et de mettre en place une mémoire de longue durée, le succès de trois vaccins administrés au cours de la période néonatale immédiate, Bacillus Calmette – Guérin (BCG), le vaccin anti-hépatite B (VHB) et le vaccin antipoliomyélite oral (VPO), confirme que la vaccination néonatale peut être efficace pour prévenir trois maladies très différentes. (290, 291)

### **1) Objectifs de la vaccination**

La vaccination est une démarche d'exposition antigénique pro-active qui consiste en la mise en place d'une mémoire immunitaire ayant un rôle prophylactique à long terme et spécifique pour un agent pathogène (292). Il est prouvé que l'exposition antigénique précoce par les vaccins est efficace contre des maladies potentiellement mortelles telles que la tuberculose, la rougeole et le tétanos chez les enfants. (293, 294, 295, 296) (Figure 25)

Les augmentations de la couverture vaccinale réduisent de façon factuelles les taux de mortalité infantile et juvénile. (297)



A

Taux d'efficacité individuelle	Vaccins
≥ 99 %	DTP, <i>Haemophilus influenzae</i> b, Hépatite B,, Rubéole
≥ 95 %	Rougeole, Méningo C Pneumocoque (sérotypes vaccinaux)
80 à 90 %	Coqueluche, Oreillons

Dernière mise à jour le 7 novembre 2018.

B

**Figure 25: Efficacité des vaccins en France.**

Figure A: Infovac, montre la baisse de la mortalité infantile en France, notamment grâce à l'utilisation des campagnes de vaccination.

Figure B: Infovac, montre le taux d'efficacité individuelle des principaux vaccins administrés en France. Figure adaptée de <https://www.infovac.fr/l-hesitation-vaccinale>

L'OMS estime que deux à trois de millions de vie sont sauvées chaque année par des campagnes de vaccination. Elle avance aussi qu'en Afrique, la méningite a presque été éliminée par le biais des vaccins, que les cas de rougeole dans le monde ont diminué de 84 % (298). La Haute autorité de Santé dans son rapport de 2017 relatif aux rappels et aux recommandations vaccinales stipule :

« Les données d'immunisation et de protection disponibles pour l'ensemble des valences concernées (diphtérie, tétanos et poliomyélite, coqueluche, hépatite B, rougeole, oreillons, rubéole, méningocoque C, *Haemophilus influenzae* B et pneumocoques) ont été analysées dans le cadre de l'autorisation de mise sur le marché des vaccins contenant ces valences et ont conduit à recommander leur utilisation en France pour vacciner l'ensemble des nourrissons au cours de leurs premières années de vie. Les données épidémiologiques disponibles confirment l'efficacité de ces vaccinations et l'importance de vacciner l'ensemble de la population contre les maladies concernées. » (299)

## **2) Réponse physiologique à la vaccination**

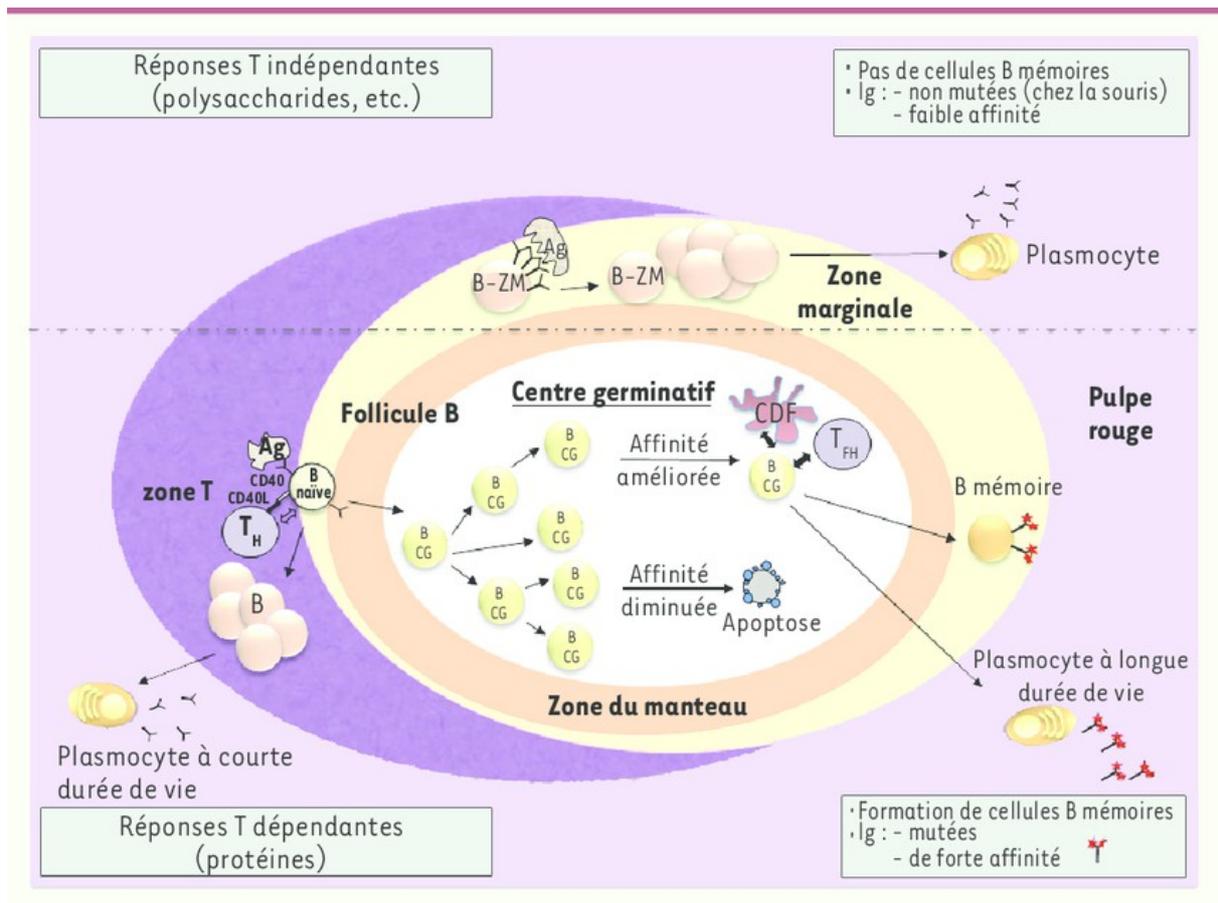
### **2.1) Réponse B et production d'anticorps**

L'un des objectifs du système immunitaire adaptatif après chaque vaccination est de mettre en place une mémoire immunitaire vis-à-vis de l'agent pathogène et d'assurer une protection adéquate et efficace en cas de confrontation ultérieure par le même micro-organisme ou une partie de celui-ci. Le principe de la vaccination repose sur ce mécanisme. Un antigène prédéfini permet d'induire et de faire produire une réponse spécifique de l'antigène par le système immunitaire (292).

La mémoire immunitaire et les plasmocytes sécréteurs d'anticorps se développent à partir de cellules B naïves dans le sang périphérique qui pénètrent par la suite dans les ganglions lymphatiques. Après avoir pénétré dans le ganglion lymphatique, ces lymphocytes B ont la capacité de prélever et d'échantillonner l'antigène présenté sur les macrophages sous-capsulaires sous forme de complexes immuns, puis d'interagir avec des réseaux de cellules dendritiques folliculaires lors d'une réaction dans le centre germinatif (300, 301, 302). Si un lymphocyte B se lie à l'antigène par son récepteur, le BCR, il intériorise le complexe et présente l'antigène sur des molécules du CMH classe II aux cellules T CD4 +. (303, 304) Plus tard dans la réponse, l'induction de la prolifération et de la différenciation des lymphocytes B sera effectuée par une sous-population de cellules T localisées dans des centres germinatifs, appelées cellules T folliculaires helpers (TFH) (303,305). Les cellules B seront ensuite informées qu'elles se lient à un antigène immunologiquement pertinent par le biais d'interactions récepteur TCR – CMH classe II et CD40 – CD40L (306, 307). Cette interaction informe la cellule B qu'elle peut entrer en réaction dans le centre germinatif. Les lymphocytes B se divisent alors rapidement en centroblastes dans la zone sombre du centre germinatif (308). (Figure 27) Cela découle sur une réponse immunitaire basée sur la prolifération massive dont le déroulement a été proposé par Burnet (1957) et Talmage dans leurs théories de la sélection clonale (309). Au moment de leur division et de leur prolifération, les cellules engagent la mutation de leurs gènes d'immunoglobuline (Ig) par le biais du processus appelé hyper-mutation somatique (310). Le but de ce processus est de permettre une sélection des LB qui auront une meilleure affinité pour l'antigène, afin d'obtenir des anticorps plus efficaces et des cellules mémoires plus spécifiques. Cette hyper-

mutation somatique est contrôlée par l'expression de l'enzyme AID (activation induced cytidine desaminase). Il s'agit d'un processus par lequel des mutations ponctuelles sont introduites dans les régions variables des chaînes lourdes et légères du BCR suite à l'activation du BCR par liaison à un antigène et grâce à l'aide des LT (311, 312). Cette enzyme permet également la commutation de classe (CSR: class switch recombination), qui correspond à l'échange des régions constantes de la chaîne lourde des anticorps situées dans le locus des Immunoglobulines (313). L'isotype produit dans la cellule B dépendra beaucoup du milieu et des cytokines influençant la cellule B. (314)

La commutation de classe modifiera la fonction effectrice de l'anticorps mais pas sa spécificité. Après des cycles de division et de mutation rapides, les cellules B émergent du centre germinatif pour tester la spécificité de leur BCR modifiée par rapport à l'antigène présenté sur les cellules dendritiques folliculaires (315, 316). Là encore, ils tentent d'obtenir de l'aide de cellules T, apparaissant dans la zone claire du centre germinatif sous forme de centrocytes; si la cellule B réussit à capter l'antigène, elle pourra à nouveau obtenir de l'aide des cellules T grâce aux interactions CMH classe II – TCR (316). Si cette interaction échoue, la cellule B mourra par apoptose (317). En revanche si la cellule B peut obtenir de l'aide, elle augmentera sa capacité de survie via les marqueurs tels que Bcl2, et passera ce cycle de sélection dans le centre germinatif lui permettant d'entrer à nouveau dans un autre cycle (318). Ce processus est appelé maturation par affinité. Finalement, l'antigène deviendra limitant à mesure que la réponse immunitaire diminuera; conduisant les seuls BCR de plus haute affinité à être en compétition pour l'antigène et à acquérir l'aide des lymphocytes T (319). Ces cellules peuvent quitter le centre germinatif en tant que cellules sécrétrices d'anticorps, telles que les plasmablastes et les plasmocytes à vie longue, ou elles peuvent sortir comme cellules B mémoires, qui s'installent ensuite dans les tissus et circulent dans le sang périphérique (320) (Figure 26). Ces lymphocytes B mémoires peuvent être stimulées ultérieurement par une interaction spécifique avec leur antigène aboutissant à la création de plasmablastes et de plasmocytes pouvant produire une réponse antigène spécifique de haute affinité. (321) (Figure 26)



**Figure 26 : Schéma simplifié des réponses T-dépendantes et T-indépendantes.**

La figure représente une réponse B globale aboutissant à la formation de lymphocytes B mémoires et de plasmocytes sécrétant d'anticorps. CDF : cellules dendritiques folliculaires ; Ig : immunoglobuline ; B CG : cellule B du centre germinatif ; B-ZM : cellules B de la zone marginale ; TH : T helper ; TFH : T follicular helper. Figure provenant de Weller et Descatoire, *Médecine Sciences* 2015.

Il existe une organisation complexe de la réponse mémoire; démontrée récemment dans des modèles de souris. Les réactions dans le centre germinatif peuvent produire à la fois des IgM à longue durée de vie et mutées somatiquement, ainsi que des cellules B mémoires à commutation d'isotype. Les lymphocytes B IgM<sup>+</sup> mutés somatiquement semblent constituer la population prédominante lors de réponses secondaires, tandis que les cellules B mémoires à commutation d'isotype sont engagées dans des fonctions effectrices contre l'antigène. Cela suppose que chaque isotype peut avoir un rôle spécifique lors d'une réponse de la mémoire à un agent pathogène (322, 323). Ces propriétés du compartiment des cellules B de la mémoire

permettent une réponse plus puissante après une exposition secondaire à l'antigène apparenté.  
(324)

La diversité et la spécificité des réponses humorales est établie à partir d'un pool de progéniteurs naïfs de cellules B recrutés au moment des réactions dans le centre germinatif suite à la reconnaissance de l'antigène. Ces cellules fournissent le cadre initial pour des séries successives de compétition inter et intra-clonale à la fois pour l'aide des lymphocytes T et pour l'antigène dans le tissu lymphoïde secondaire. Le pool résultant de cellules B spécifiques d'un antigène sélectionné par le biais de processus de type darwinien peut fournir une protection à la fois immédiate (par exemple, les plasmocytes) et à vie (par exemple, les cellules B mémoires) contre l'exposition à des agents pathogènes. Si ces antigènes sont thymo-indépendants ils induisent la prolifération des lymphocytes B de manière polyclonale et cette réponse T indépendante est moins efficace pour la mémoire à long terme. (Figure 26)

Les réponses anticorps spécifiques aux antigènes dépendants des cellules T sont induites suivant deux voies distinctes sur le plan anatomique et fonctionnel. La première voit la stimulation des cellules T helpers spécifiques de l'antigène dans les zones riches en cellules T qui se fait par l'intermédiaire des cellules dendritiques. Dans la seconde voie, les cellules B spécifiques de l'antigène elles, migrent vers l'interface entre le follicule de lymphocytes B et la zone de cellules T. Il y a ensuite interaction avec les TFH, ce qui entraîne l'expansion clonale des lymphocytes B qui migrent à la périphérie des zones lymphoïdes de la rate ou des zones médullaires dans les ganglions lymphatiques et se différencient en plasmocytes de courte durée de vie. D'autres cellules B vont migrer dans les follicules pour proliférer rapidement et former des centres germinatifs. L'induction des cellules TFH est contrôlée par les cellules dendritiques, des cytokines de l'immunité innée, des ligands de TLR, et des molécules de co-stimulation. Au début de la phase de développement du centre germinatif, les cellules B en division régulent négativement l'expression de l'immunoglobuline à la surface des cellules et subissent une hyper-mutation somatique de leurs gènes d'immunoglobuline.  
(325, 326, 327, 328)

Les cellules en division cessent de se multiplier et ré-expriment leur récepteur d'immunoglobuline muté, et il est supposé que les cellules ayant une affinité accrue pour l'antigène sont sélectionnées pour leur affinité de liaison aux complexes antigène-anticorps sur les cellules dendritiques folliculaires, ainsi que par des cellules T helpers. (316)

Les centrocytes sélectionnés positivement se différencient en plasmocytes à vie longue qui migrent vers la moelle osseuse ou se différencient en cellules B mémoires en recirculation.

Les cellules T helpers folliculaires sont par conséquent des cellules régulatrices de la mémoire des cellules B et des plasmocytes à vie longue. (329)

La survie des plasmocytes à vie longue ou des cellules B mémoires est aussi contrôlée par des paramètres innés tels que les ligands du TLR, les basophiles ou l'APRIL (A Proliferation-inducing ligand, membre de la superfamille des Tumor Necrosis Factor) . (330)

## **2.2) Réponse B et vaccination**

La plupart des vaccins sont conçus pour protéger préventivement contre des agents pathogènes en générant des anticorps qui empêchent l'infection au même agent pathogène ultérieurement. Comme vu dans le paragraphe précédent, cette protection nécessite donc une induction de lymphocytes B mémoires pouvant produire une réponse spécifique de l'antigène de haute affinité. Les plasmocytes sécrétant des anticorps sont produits à des niveaux proportionnels à la fréquence des cellules B mémoires spécifiques, même plusieurs années après la stimulation antigénique. L'activation polyclonale des cellules B mémoires (par exemple via les LT) permet de maintenir la mémoire sérologique pendant une longue durée, voire même toute la vie (321). L'intérêt de faire produire ces lymphocytes B mémoires grâce à un vaccin est qu'elles sont capables de répondre à l'antigène dont elles sont spécifiques avec une plus grande rapidité que les cellules B naïves; par conséquent, donner une première stimulation sécurisée est une stratégie de choix pour se protéger contre des agents pathogènes. Elles ne nécessitent pas l'aide des cellules T apparentées pour l'activation par le biais de la co-stimulation (331, 332 ). Ces diverses propriétés du compartiment des lymphocytes B de la mémoire permettent une réponse plus puissante et plus rapide après une première exposition à l'antigène.

Une autre propriété importante des cellules mémoires est leur aptitude à vivre longtemps qui diffère cependant selon le type de vaccin, et l'âge de l'individu. La capacité de survivre dans le sang périphérique après activation permet à l'individu infecté de réagir dans un bref délai étant donné que ces cellules ont déjà subi une maturation par affinité et sont prêtes pour une réponse rapide (332 ). Ces cellules B à mémoire de longue durée ont le potentiel de se maintenir dans le sang périphérique pendant des décennies parfois après la première exposition à une agression immunologique.

Cependant, il n'est pas rare que le niveau de protection par les anticorps s'amenuise au fil du temps (333). Dans l'enfance, lorsque le risque d'infection est maximal, les anticorps protecteurs tombent rapidement après la primo-vaccination, et il est devenu nécessaire de mettre en place des programmes de vaccination de rappel pour maintenir les niveaux d'anticorps (334, 335, 336, 337, 338). Un vaccin contre la diphtérie offre une protection à long terme contre cette pathologie infectieuse, bien que les niveaux d'anticorps diminuent après la vaccination. Swart et al ont montré qu'en raison de l'immunité décroissante naturelle, une proportion importante des personnes manque de taux adéquats d'anticorps antidiphtériques. De même des auteurs japonais ont montré que des rappels étaient nécessaires pour palier la baisse inéluctable de la protection immunitaire contre cette pathologie. (339)

Dans le cas de l'hépatite B, Van Damme en 2016 estime comme un marqueur fiable de protection contre l'infection qu'une concentration d'anticorps contre l'antigène de surface de l'hépatite B (anti-HBs) supérieure à 10 mUI / mL mesurée 1 à 3 mois après l'administration de la dernière dose de la série de vaccins initiaux. (340)

Après une première dose de vaccin contre l'hépatite B, les concentrations en anti-HBs diminuent rapidement au cours de la première année et plus lentement par la suite ce qui nécessite la mise en place de rappels. Après une vaccination comprenant trois doses avec des concentrations en anti-HBs  $\geq 10$  mIU / mL, 15% à 50% des individus ont des concentrations faibles ou indétectables d'anticorps anti-HBs 5 à 15 ans après la vaccination. Parmi les vaccinés adultes, les concentrations en anticorps anti-HBs diminuent à moins de 10 mUI / mL chez 7% à 50% des patients après 5 ans de vaccination et chez 30% à 60% des 9 à 11 ans (341). La persistance des anticorps dans le temps est corrélée au niveau maximal de ces anticorps immédiatement atteint après la primo-immunisation dans la petite enfance. (342)

En d'autres termes, plus la concentration d'anticorps anti-HBs induite par le vaccin après la primo-vaccination est importante et a une vie longue, plus la mémoire de l'infection persistera longtemps. La vaccination peut prévenir de l'infection pendant plusieurs décennies, et cela malgré la diminution ou la perte des anticorps anti-HBs induits par la vaccination au fil du temps (343, 344, 345, 346). Bruce et al. lors d'une étude de suivi sur 30 ans montrent qu'aucune infection significative n'a été diagnostiquée chez les vaccinés au cours d'une période de 30 ans et 51% des participants de leur étude avaient toujours des niveaux d'anti-HBs  $\geq 10$  mUI / mL 30 ans après l'administration initiale du vaccin. (347)

Bien que certains vaccins induisent des titres d'anticorps qui restent pratiquement constants pendant de nombreuses décennies, comme pour certains virus (VZV, rougeole, oreillons); pour d'autres, comme le vaccin contre l'anatoxine tétanique (TT) ou la diphtérie, les titres d'anticorps diminuent de façon constante avec le temps, avec des demi-vies estimées à 11 ans et à 19 ans. (348).

L'immunisation de rappel déclenche l'expansion et la différenciation rapides des cellules B, générant des plasmablastes spécifiques de l'antigène dont la concentration atteint son maximum dans le sang périphérique après 6–7 j, puis diminue rapidement à des niveaux presque indétectables (349 , 350). Certains de ces plasmablastes migrent vers des niches spécialisées dans la moelle osseuse et survivent sous forme de LLPC (long lived plasma cells), qui constituent la principale source de toutes les classes d'Ig dans le sérum. (351,352)

## **2.3) Autres types de réponses à la vaccination**

### **2.3.1) De l'importance de la réponse innée à un antigène vaccinal**

La mise en œuvre d'une réponse innée efficace est primordiale dans le cadre d'une vaccination. En effet, elle est préalable et complémentaire à la réponse adaptative recherchée et nécessaire pour l'établissement d'une mémoire efficace. Par exemple, des sous-ensembles distincts de lymphocytes T helpers, tels que Th1, Th2 et Th17, sont nécessaires pour protéger contre différents agents pathogènes y compris ceux contenus dans un vaccin (353, 354). Les cellules T helpers folliculaires (cellules TFH) sont nécessaires car elles produisent l'interleukine 21 (IL-21) et aident à la différenciation des cellules B et à la génération de cellules B mémoires (329). Or, Janeway a montré qu'il existe une liaison étroite entre immunité innée et adaptative, la première déterminant la nature de l'autre. (355)

Différentes études et travaux au cours de la dernière décennie ont mis en lumière le rôle du système immunitaire inné dans la détection des antigènes vaccinaux et des adjuvants et dans la programmation des réponses immunitaires protectrices. Le système immunitaire inné peut détecter un agent pathogène par l'intermédiaire de récepteurs à reconnaissance de formes (PRR), tels que les récepteurs de type Toll (TLR), qui sont exprimés par diverses cellules, y compris les cellules dendritiques (CD) (356, 357). Outre les TLR, d'autres types de PRR, y compris les récepteurs de type lectine et les récepteurs cytosoliques de type NOD,

détection d'une large gamme de stimuli microbiens, comme les récepteurs cytosoliques de type RIG-I qui détectent les acides nucléiques viraux (358, 359). Il existe de nombreux sous-ensembles de cellules dendritiques fonctionnellement distincts, et il est maintenant clair que le sous-ensemble de ces cellules, ainsi que la nature du PRR, jouent un rôle clé dans la détermination de l'ampleur et de la qualité des réponses immunitaires adaptatives. (360, 361) Par exemple, Le BCG est considéré comme «auto-adjuvant» car les antigènes du vaccin (mycobactérie) induisent des réponses immunitaires via TLR2, TLR4 et TLR8 et par-là même une puissante réponse immunitaire Th1 (362). Des études menées chez des nourrissons ont mis en évidence une induction, après la vaccination au BCG, de lymphocytes T CD8 +, d'IFN $\gamma$ , d'IL2, de TNF $\alpha$  et de lymphocytes T CD4 + polyfonctionnels. (363)

En revanche, les vaccins non-vivants ont une réponse innée insuffisante et ont besoin d'adjuvants qui stimulent la réponse immunitaire innée nécessaire à l'activation de la réponse spécifique ce qui permet de limiter les doses d'antigènes à administrer, de réduire le nombre d'injections nécessaires, et de renforcer la réponse immunitaire chez les faibles répondeurs (personnes immunodéprimées, âgées...) (364)

### **2.3.2) L'importance de la mémoire des cellules T**

Malgré l'importance des lymphocytes B mémoires et des anticorps dans la réponse vaccinale, les lymphocytes T jouent aussi un rôle clé. Les lymphocytes T persistants spécifiques de la varicelle qui se développent après une vaccination contre le virus de la varicelle participent activement à la protection contre une potentielle infection ou la réactivation par un zona chez les enfants. (365)

L'objectif d'un vaccin au niveau des cellules T est de pouvoir développer des lymphocytes mémoires spécifiques de l'antigène qui persistent longtemps après l'élimination de l'antigène. Ainsi il s'agit d'assurer une protection contre une infection ultérieure, sur le même principe que les lymphocytes B. La différenciation des lymphocytes T CD4+ induite par la vaccination peut donner lieu à des populations de cellules diversifiées sur le plan phénotypique et fonctionnel. Les lymphocytes T naïfs peuvent se différencier en cellules effectrices de courte durée selon différentes voies telles que Th1, Th2, Th17, TFH ou Treg. Chacune de ces voies est dotée de fonctions effectrices particulières. Ainsi, les agents pathogènes intracellulaires nécessitent l'induction de Th1, alors que les infections à

helminthes sont mieux contrôlées par les réponses Th2. Les LT peuvent également se différencier en LT mémoires centraux, ou se loger ou non dans les tissus muqueux. (366)

Les cellules T CD8 + naïves peuvent se différencier en cellules effectrices circulantes ou résident dans les tissus et ainsi offrir une protection aux points d'entrée. Les lymphocytes T mémoires centraux résident dans les zones riches en lymphocytes T des organes lymphoïdes et constituent un pool de cellules précurseurs qui subissent une expansion clonale rapide en réponse à une provocation antigénique et se différencient en cellules effectrices. (366)

L'expansion clonale des cellules T dépend de plusieurs paramètres, notamment des cytokines du système inné telles que IL-12 et IL-18, qui sont sécrétées par les cellules dendritiques et induisent la production d'IFN- $\gamma$  par les cellules T. Il peut agir directement sur les cellules T pour induire une expansion robuste de la population de cellules T CD8 + effectrices. (367)

Il y a aussi mobilisation des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6, qui peuvent vaincre les effets suppresseurs des cellules T régulatrices. (368)

Au niveau cellulaire, le type de cellule dendritique et la nature des PRR déclenchés par le vaccin, ainsi que les signaux environnementaux locaux, donnent des indications qui guident la différenciation des lymphocytes T. (369, 370) Une autre décision consiste à déterminer si une cellule va rejoindre une mémoire centrale ou un pool de cellule de mémoire effectrice. (371, 372, 373)

#### **2.4) Des particularités selon le type de vaccin**

Selon la nature du vaccin, l'exposition antigénique et donc la réponse immunitaire mémoire diffèrent. (333)

	Cible(s) du vaccin	Caractéristique physico-chimique de l'antigène	
Vaccins inactivés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diphtérie</li> <li>• Tétanos</li> <li>• Coqueluche</li> <li>• Poliomyélite</li> </ul>	Protéine	
	<i>Haemophilus influenzae</i> type b (Hib)	Polysaccharide conjugué	
	Pneumocoques	Pneumovax 23	Polysaccharide pur
		Prevenar	Polysaccharide conjugué
	Méningocoque C	Polysaccharide conjugué	
	Méningocoques ACW <sub>135</sub> Y	Mencevax ACWY	Polysaccharide pur
		Menveo	Polysaccharide conjugué
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hépatite A</li> <li>• Hépatite B</li> <li>• Encéphalite à tiques</li> <li>• Encéphalite japonaise</li> </ul>	Protéine	
	Fièvre typhoïde (injectable)	Polysaccharide pur	
Rage	Protéine		
Vaccins vivants atténués	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rougeole-oreillons-rubéole (ROR)</li> <li>• Varicelle</li> <li>• Zona</li> <li>• Fièvre jaune</li> <li>• Fièvre typhoïde (oral)</li> <li>• Tuberculose (BCG)</li> </ul>	Antigène vivant	

**Figure 27 : Catégories et caractéristiques physico-chimiques des vaccins.**

Ce Tableau représente les différents types de vaccins pouvant être rencontrés, leur cible ainsi que la nature de l'antigène qu'ils contiennent. Figure adaptée de la revue médicale suisse, 2013 volume 9.

Les vaccins peuvent être classés en deux grands groupes. (Figure 27) Le premier groupe, les vaccins vivants atténués, comprend les versions affaiblies des agents pathogènes; ceux-ci imitent le type d'immunité protectrice induite chez les personnes qui survivent à une infection vivante. Des exemples de ce groupe comprennent les vaccins contre les infections aiguës causées par des agents pathogènes tels que ceux de la variole, la fièvre jaune, la rougeole, les oreillons, la rubéole et la varicelle. (374)

Prenons l'exemple d'un vaccin vivant atténué comme le vaccin contre la variole utilisant le virus de la vaccine. Développé il y a plus de deux siècles, il a permis de par son efficacité d'éradiquer l'agent pathogène de sorte que nos générations n'ont plus besoin de se vacciner contre lui. Des dizaines d'années après la vaccination, 90% des personnes vaccinées contre la variole maintiennent des niveaux protecteurs d'anticorps spécifiques et des lymphocytes B mémoires. Cette protection dure jusqu'à 50 ans après la vaccination (348, 375, 376). Il reste l'un des meilleurs vaccins pour induire une immunité à vie (348). De même, les vaccins capables d'induire une immunité à vie, comme ceux contre la rougeole, les oreillons, la rubéole, la poliomyélite et la fièvre jaune, consistent également en virus vivants atténués.

Au niveau physiologique il a été constaté que l'engagement de multiples PRR, récepteurs innés de reconnaissance de pathogènes, était essentiel pour générer des réponses lymphocytaires T de différentes amplitudes et de différents profils fonctionnels, suggérant que la fonctionnalité et la durée des réponses immunitaires acquises étaient dictées par des signaux innés précoces déclenchés par ces vaccins vivants atténués. (377, 378, 379, 380)

Dans un autre registre, les antigènes polysaccharidiques contenus dans un vaccin ne sont pas immunogènes chez les enfants de moins de 2 ans ; même chez l'adulte, ils ne provoquent que des réponses d'anticorps de courte durée, sans induction de mémoire efficace (334, 381). Ils ne sont donc pas des antigènes optimaux pour l'induction d'une réponse immunitaire efficace et la mise en place d'une mémoire de long terme.

Pour pallier les problèmes posés, notamment recruter des lymphocytes T helpers dans la réponse aux polysaccharides, ces antigènes ont été conjugués de manière covalente à des protéines pour mettre à contribution ces lymphocytes T helpers, le développement de lymphocytes B mémoires à une longue durée de vie nécessitant l'aide des lymphocytes T essentielle au maintien de la mémoire sérologique protectrice. On parle de vaccins conjugués. Blanchard Rohner et al. ont réalisé une étude sur les réponses des cellules B après la première dose du vaccin conjugué contre le méningocoque C. Leur travail a montré que les nouveau-nés ayant développé un large répertoire de lymphocytes B mémoires après la vaccination initiale présentaient une plus grande persistance des anticorps à 1 an, ainsi qu'une réponse optimale à la vaccination de rappel. (382)

### **3) Exposition spécifique aux antigènes vaccinaux dans le contexte d'un système immunitaire immature**

L'objectif primordial lors de la conception d'un vaccin en vue de son administration est donc de déclencher une réponse immunitaire humorale protectrice contre des micro-organismes pathogènes mettant la vie en danger, tout en restant eux-mêmes inoffensifs.

La vaccinologie néonatale et infantile est confrontée à un certain nombre de défis liés aux particularités intrinsèques du système immunitaire inné et adaptatif dans les premières années de vie. Celles-ci comprennent les réponses anti-inflammatoires aux signaux innés plutôt que les réactions pro-inflammatoires, la différenciation préférentielle des lymphocytes

en Th2 limitant l'induction des réponses Th1 et cytotoxiques, les tendances en matière de réponses immuno-régulatrices et les réponses faibles des cellules B plasmocytaires et germinales. (383)

D'un point de vue général, la réponse immunitaire néonatale est orientée en terme de réponses immunitaires vers les réponses de type Th2, avec une atténuation de l'immunité de type Th1 et des voies de l'inflammasome ce qui complique la prise en charge d'un antigène contenu dans un vaccin du fait d'une moindre stimulation du système immunitaire inné (384, 385, 386). Ces adaptations empêchent les réactions allo-immunes entre la mère et le fœtus, permettent la colonisation microbienne à la naissance et évitent les réponses pro-inflammatoires excessives (387, 388, 389). À l'inverse, ils rendent le nouveau-né susceptible à l'infection et empêchent une réponse vaccinale optimale puisque le milieu immuno-régulateur empêche la production d'anticorps et le développement d'une mémoire immunitaire (390, 391). Par exemple, les nouveau-nés ont un plasma riche en facteurs de régulation immunitaire tels que l'adénosine (392, 393). Des concentrations élevées d'adénosine dans le plasma néonatal inhibent sélectivement la production de cytokines Th1-polarisantes via des mécanismes intracellulaires impliquant l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) (392, 394). Le nombre de cellules présentatrices d'antigène étant moindre qu'à l'âge adulte, on constate aussi de faibles taux de molécules co-stimulatrices, une expression de surface réduite du CMH classe II et une faible capacité de produire des cytokines comme l'IL-12 après une simple stimulation du TLR (388, 395). En outre, la limitation des fonctions des lymphocytes T entraîne des défauts dans la différenciation des LB en plasmocytes. (290)

D'un point de vue physiologique les lymphocytes T CD4 + néonataux sont principalement des émigrants thymiques récents dont la fonction immunitaire est réduite, c'est à dire qu'ils ont une capacité de prolifération réduite, et produisent peu d'IL-2 et d'IFN $\gamma$ . Les cellules T quittent d'abord le thymus dans un état phénotypiquement et fonctionnellement immature et nécessitent une période d'environ 3 semaines de maturation post-thymique avant de passer dans le compartiment de cellules T matures, exprimant le TCR à leur surface (396, 397). Les cellules Th1 néonatales expriment les récepteurs IL4R $\alpha$  / IL13R $\alpha$ , ce qui peut déclencher l'apoptose ultérieurement lors de la ligature avec IL4, un produit des cellules Th2 (398). De plus, il existe après la naissance une quantité de cellules régulatrices T suppressives qui sécrètent des molécules tolérogènes en quantité importante telles que l'IL10 et le TGF $\beta$ , ce qui a pour conséquence de limiter les réponses des cellules T effectrices. (399, 400, 401)

L'immunité humorale chez les nouveau-nés est altérée, par conséquent cela nécessite de faire des rappels du vaccin par l'injection de plusieurs doses. Les titres d'anticorps sont plus faibles et sécrétés avec un répertoire d'anticorps plus étroit, ainsi que des réponses fonctionnelles sous-optimales à certains antigènes par rapport aux enfants plus âgés (290, 388, 402). Cela reflète des défauts dans la différenciation des cellules B néonatales, avec une prédominance des cellules B mémoires par rapport aux plasmocytes, ce qui reflète une réponse extra-folliculaire et germinale limitée. Intrinsèquement, la signalisation plus faible médiée par le BCR (B-cell receptor) dans les cellules naïves, l'expression plus faible des molécules de co-stimulation pour les cellules T et la maturation lente de la zone marginale conduisent à des défauts dans la différenciation des cellules B néonatales. De plus, les lymphocytes T folliculaires helpers ont une fonction altérée avec notamment une baisse d'expression de l'IL-21, cytokine importante pour la différenciation des LB, et maturation non optimale (23, 403). Le devenir de la cellule lymphocytaire B est aussi conditionné par l'aide limitée fournie par les cellules dendritiques folliculaires qui sont encore immatures au stade néonatal (404). Enfin, des facteurs de survie tels que APRIL (A Proliferation Inducing Ligand) sont déficients. (291)

L'impact de l'immunité néonatale sur la vaccination peut varier d'un type de vaccin à l'autre. Les nouveau-nés vaccinés à la naissance avec le VHB (virus de l'hépatite B) ou le VPO (vaccin oral contre la poliomyélite) mettent en œuvre des réponses de type Th1 inférieures à celles des adultes mais ont des titres en anticorps plus élevés que chez les adultes recevant des doses de rappel. (405, 406)

En revanche, il est maintenant bien établi que le BCG induit de puissantes réponses Th1 matures chez le nouveau-né ce qui a pour conséquence, via la sécrétion d'IFN $\gamma$ , de favoriser un titre en anticorps élevé de type IgG, ainsi que la prolifération des LB par la production d'IL-2. (407)

#### **4) Intérêt de l'exposition antigénique par la vaccination: diversification du répertoire d'anticorps**

L'établissement d'un répertoire diversifié de réponses en anticorps est essentiel pour l'immunité humorale acquise, par l'intermédiaire d'infections naturelles et par la vaccination (408, 409, 410). La plupart des vaccins confèrent une protection contre les maladies infectieuses par l'induction de plasmocytes à vie longue, qui sécrètent des anticorps servant à neutraliser et à opsoniser l'agent pathogène pendant de nombreuses années, voire des décennies (411, 412, 413). De plus, la génération de cellules B mémoires fournit à la fois un mécanisme de synthèse rapide d'anticorps matures en terme d'affinité, spécifiques à un antigène, après rappel, et un moyen de diversifier la réponse immunitaire humorale pour conférer une protection contre les virus ou bactéries en évolution rapide. Les cellules T et B mémoires ainsi que les plasmocytes à longue durée de vie peuvent être maintenus à des nombres relativement constants en l'absence de l'antigène provoquant pendant une longue durée. (371)

Kuraoka M et al. ont étudié la réponse des cellules B du centre germinatif à des antigènes complexes (414). Plus précisément, ils ont montré que la maturation par affinité a donné lieu à une réponse polyclonale très diverse, composée de centaines à des milliers de clonotypes de lymphocytes B distincts. Les réponses polyclonales contre des antigènes complexes consistent en un grand nombre de clonotypes de fréquence relativement basse. Pour les antigènes complexes, ces réponses hautement polyclonales entraînent un déplacement systématique des propriétés à l'échelle du répertoire pour s'éloigner du répertoire naïf, de manière spécifique à l'antigène. Ces propriétés à l'échelle du répertoire incluent des caractéristiques telles que l'utilisation de la famille V des segments VDJ, le pourcentage d'hyper-mutations somatiques ou les propriétés de la troisième région déterminant la complémentarité (CDR3) de la chaîne d'Ig lourde principalement responsable de la liaison à l'antigène. (324)

Lavinder et al. ont défini les répertoires des lymphocytes B après vaccination de rappel à l'anatoxine tétanique et ont montré que le répertoire des IgG sériques comprenait environ 100 clonotypes d'anticorps. En revanche, seulement trois clonotypes représentaient plus de 40% de la réponse. Le pic de la réponse au septième jour voit une fraction encore plus petite

des cellules B mémoires mettant en œuvre des anticorps détectés dans la réponse mémoire sérologique jusqu'à 9 mois après la vaccination. Cela suggère que seule une petite fraction des cellules B périphériques répondantes donne naissance aux plasmocytes à vie longue de la moelle osseuse, responsables de la production de quantités biologiquement pertinentes d'anticorps spécifiques de l'antigène vaccinal. (415)

## **5) Effets non spécifiques de l'exposition antigénique par la vaccination**

Un vaccin conférant une protection contre les agents pathogènes non apparentés, en plus de l'agent pathogène cible, est décrit comme ayant des effets hétérologues, ou non spécifiques, différents d'une réaction croisée par mimétisme moléculaire. Il est à noter que les effets hétérologues de la vaccination peuvent persister pendant de longues périodes. (416)

En effet, il est possible que les vaccins de routine administrés dans la petite enfance aient un impact supérieur à l'association attendue avec la pathologie spécifique du vaccin. En effet, l'introduction du vaccin anti-rougeoleux dans certaines communautés africaines dans les années 1980 a entraîné une réduction de la mortalité globale des enfants bien plus importante que ce à quoi on pourrait s'attendre si elle ne touchait que la mortalité due à la rougeole. (417).

Dans certains cas, les effets hétérologues peuvent être attribués à une réactivité croisée antigène, les lymphocytes spécifiques de l'antigène du vaccin reconnaissant également d'autres antigènes en raison du mimétisme moléculaire. Cependant, la plupart des effets hétérologues de la vaccination ne peuvent être expliqués par le mimétisme moléculaire. Les réductions observées de la mortalité toutes causes confondues semblent aller au-delà de la protection directe induite par ces vaccins contre leurs agents pathogènes cibles et reflètent probablement induction de la résistance à des agents pathogènes non liés via l'amélioration des réponses immunitaires adaptatives hétérologues et / ou des mécanismes immunitaires innés non spécifiques de l'antigène. Ces effets hétérologues positifs de certains vaccins vivants atténués peuvent ne pas être limités aux environnements pauvres en ressources. En effet, certains vaccins vivants atténués, tels que les vaccins contre la rougeole, la variole et la polio, peuvent également réduire l'hospitalisation liée à l'infection dans les pays développés en offrant une protection contre les agents pathogènes non liés (419, 420, 421, 422). Le Groupe consultatif stratégique d'experts sur la vaccination (SAGE) de l'Organisation mondiale

de la santé (OMS) a récemment conclu que les données disponibles suggéraient un effet bénéfique possible de la vaccination avec Bacille Calmette-Guérin (BCG; souche vivante atténuée de *Mycobacterium bovis*) et de vaccin vivant atténué vaccin contre la mortalité toutes causes confondues chez les populations à haut risque au cours des premières semaines de vie. (423, 424, 425)

Les vaccins ont des effets autres que ceux induisant des réponses immunitaires adaptatives à médiation cellulaire T et B classiques spécifiques de l'antigène, ciblant un agent pathogène spécifique (423). Des effets hétérologues protecteurs (c'est à dire «non spécifiques») des vaccins ont été démontrés avec des vaccins vivants atténués tels que *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG), les vaccins antipoliomyélitiques oraux et anti-rougeoleux, qui permettent tous de réduire la morbidité et la mortalité bien au-delà de celles imputables à la prévention de la maladie (419, 420, 423, 426, 427). En plus de fournir une protection immunitaire contre les cibles visées, les vaccins peuvent avoir d'autres effets bénéfiques, tels que l'élargissement de la diversité de la protection contre les taxons au sein d'une espèce donnée. Par exemple, le vaccin anti-grippal avec adjuvant MF59 a élargi la couverture pour inclure des souches du virus grippal apparentées mais distinctes sur le plan antigénique en plus de la souche cible (428). Des diminutions importantes similaires de l'incidence de la mortalité toutes causes confondues ont été constatées après l'introduction de la vaccination anti-rougeoleuse à Matlab, au Bangladesh (429). Il existe également des preuves que le vaccin contre le bacille Calmette-Guérin (BCG) protège de la mortalité néonatale (430).

Il est à noter que le BCG active les modifications épigénétiques des cellules innées dans le cadre de l'immunité innée formée et favorise les réponses des cellules T et B à des antigènes non apparentés (407, 431, 432, 433, 434). L'hypothèse selon laquelle les vaccins ont des effets non spécifiques sur la mortalité a été validée par des études sur des animaux dans lesquelles un mécanisme d'action plausible a été proposé. L'administration du vaccin BCG à des souris a entraîné une immunité efficace et une protection non spécifique contre les infections par reprogrammation épigénétique de cellules de l'immunité innée notamment des monocytes (435). Chez la souris, le BCG néonatal augmente également le nombre de cellules sécrétrices de Treg et d'IL-10, suggérant de puissants effets anti-inflammatoires (436). Les données existantes suggèrent une protection contre la pathologie immunitaire (437, 438). Cette activité homéostatique immuno-modulatrice aussi étendue du BCG pourrait contribuer à ses effets hétérologues, généralement protecteurs, contre les maladies à la fois infectieuses et à médiation immunitaire.

## CHAPITRE 5 : Exposition antigénique dans la petite enfance : intérêt officinal

Comme vu dans le Chapitre 2, le microbiote désigne l'écosystème constitué de micro-organismes tels que les bactéries, les virus, les champignons qui vivent au niveau des muqueuses internes (sphère ORL, tractus intestinal, urogénital) et à la surface de la peau. Nous savons que ce microbiote se met en place au cours du temps par différentes étapes après la naissance sur les différents territoires de l'organisme et qu'il influence en parallèle le développement du système immunitaire au fil des premiers mois de vie. Les déséquilibres provoqués dans la petite enfance comme l'usage d'antibiotiques, l'accouchement par césarienne et l'alimentation sont associés à des différences d'exposition antigénique au microbiote intestinal. Ces perturbateurs sont également associés à un dysfonctionnement immunitaire et à des maladies à médiation immunitaire qui se manifestent plus tard dans l'enfance voire à l'âge adulte. La fenêtre de susceptibilité et d'opportunité représente la période autour de la naissance lorsque les promoteurs de l'homéostasie microbienne peuvent avoir le plus grand effet sur la correction des dysbioses microbiennes, avec une extension inconnue dans la gestation et peut-être même avant la conception. (Figure 28). Les probiotiques néonataux, l'accouchement par voie vaginale et l'allaitement ont des liens étroits avec une colonisation en bonne santé et un risque réduit de maladie à médiation immunitaire.

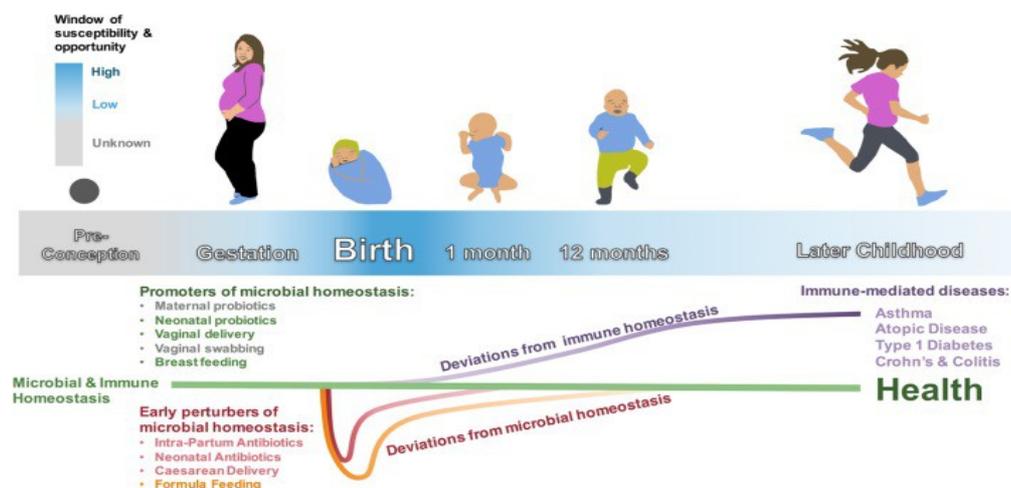
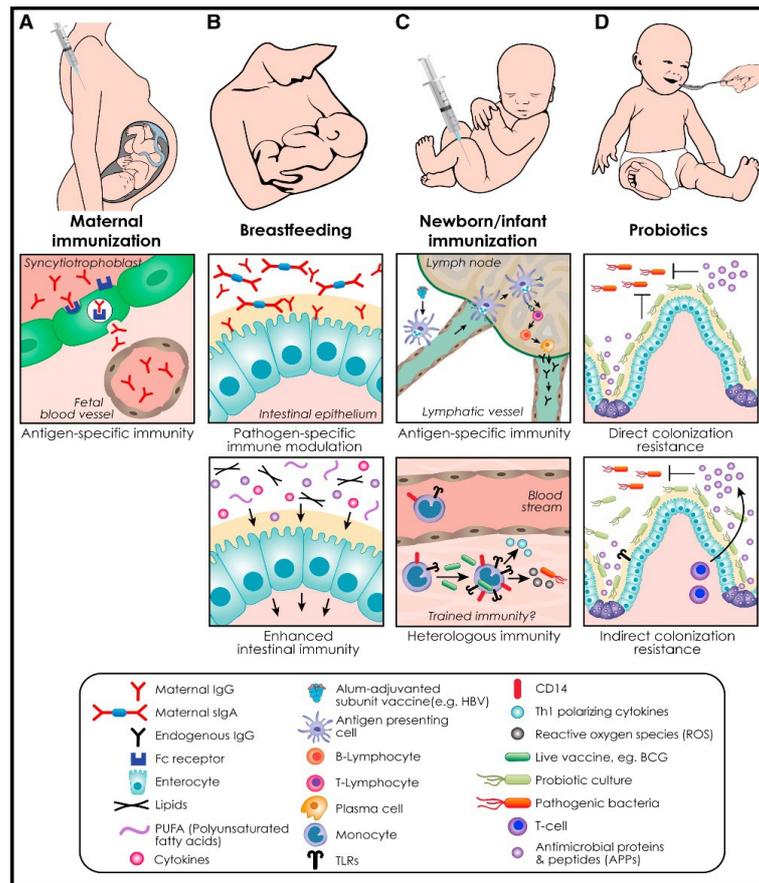


Figure 28 : Equilibre entre microbes et système immunitaire de la grossesse à la petite enfance. Figure adaptée de Nelly Amenyogbe, 2017.

Comme vu précédemment, le système immunitaire est doté d'une mémoire à long terme des antigènes auxquels il a été exposé. Plus la perturbation du microbiote est précoce dans la vie, plus l'impact est important en terme de fonction et de durée dans le temps (78, 131, 439, 440, 441, 442, 443). Ceci suggère que les interventions visant à réparer une perturbation comme avec les probiotiques, par exemple, auraient une influence plus bénéfique s'ils sont administrés le plus tôt possible. (444, 445).

De par les différentes preuves accumulées et traitées précédemment concernant les micro-organismes bénéfiques au développement du système immunitaire, on peut considérer que les différentes perturbations, par exemple la césarienne (100, 446), l'alimentation au lait maternisé (447, 448), l'utilisation d'antibiotiques (448, 449) ainsi que l'hygiène (175, 193) dans les premiers mois de vie peuvent aboutir à des conséquences sur le système immunitaire à un âge plus avancé. Ces facteurs peuvent en effet causer une dysbiose souvent considérée comme un déséquilibre entre les microbes commensaux et potentiellement pathogènes lors de la colonisation anormale des différents territoires de l'organisme : intestin, peau, muqueuses... Cela donne à penser que les interventions et corrections ciblant ces voies d'exposition microbienne procurent probablement des avantages de grande portée et largement bénéfiques.

Au cours de la vie prénatale et du début de la vie postnatale, il existe des « fenêtres d'opportunités » pour augmenter la résistance de l'hôte à des infections spécifiques via des réactions « homologues » - c'est-à-dire des réponses « classiques » spécifiques des antigènes pathogènes - ainsi que des réactions hétérologues protectrices larges «non spécifiques» (Figure 29).



**Figure 29 : Interventions améliorant globalement la défense de l'hôte contre les maladies infectieuses au début de la vie. Figure adaptée de Kollmann et al, 2017.**

L'immunisation maternelle exploite le transfert passif d'anticorps IgG maternels à travers le placenta afin de protéger le fœtus et le nouveau-né. (Figure 29 encadré A)

La spécificité des IgG maternelles reflète les expositions antérieures de la mère, ciblant ainsi des agents pathogènes spécifiques. Comme illustré dans l'encadré B l'allaitement transmet des IgA sécrétoires, avec des spécificités reflétant le microbiote maternel, transférées dans l'intestin avec des IgG maternelles. Le lait maternel contient également des facteurs solubles, notamment des cytokines, des lipides et des acides gras, qui augmentent largement la résistance des muqueuses à l'infection. L'immunisation précoce du nouveau-né ou du nouveau-né réduit le risque d'infection par des agents pathogènes spécifiquement ciblés (encadré C) (Clemens et al., 2010, Levine, 2011). Enfin, les probiotiques peuvent réduire une infection (encadré D). Les mécanismes sous-jacents aux effets probiotiques restent à déterminer et peuvent inclure, par exemple, l'amélioration de la résistance à la colonisation. (289)

## **1) Fenêtre de susceptibilité et d'opportunité**

Nous avons déjà mentionné précédemment le concept d'une fenêtre de susceptibilité accrue en début de vie, au cours de laquelle des perturbations de l'interaction immunité-microbiome causent les dommages les plus graves et les plus durables sur le système immunitaire. (78, 439, 440, 441, 443, 450)

En d'autres termes, la perturbation de la mise en place de la relation hôte-microbiome au début de la vie peut être considérée comme une pathologie de la petite enfance dont les conséquences résonnent jusqu'à l'âge adulte. Une part importante de ces perturbations provoquant des maladies au début de la vie sont du fait de l'intervention humaine, telles que la césarienne, l'alimentation par lait non maternel, et traitement par antibiothérapie durant la grossesse ou après la naissance. Ces perturbations sont toutes en lien avec l'exposition antigénique globale durant cette période, et les théories hygiénistes et des vieux amis développées précédemment. Chez les modèles animaux il a été mis en évidence cette "fenêtre critique" ou « fenêtre de susceptibilité » au début de la vie où les modifications microbiennes de l'intestin (dysbiose) ont le plus d'influence sur le développement de pathologies inflammatoires. En effet, Bendtsen et al ont montré que la colonisation intestinale initie le système immunitaire dès la naissance, favorisant la tolérance aux micro-organismes non nuisibles et aux antigènes alimentaires, ainsi que les réactions appropriées aux agents pathogènes envahissants. Cette colonisation précoce est cruciale pour l'établissement d'un individu en bonne santé et, tout au long de la vie, l'interaction équilibrée du microbiote et du système immunitaire est un élément clé du maintien de la santé, un déséquilibre du système immunitaire au début de la vie augmentant le risque de maladies inflammatoires plus tard dans la vie. (451, 452, 453)

Dans l'étude canadienne CHILD, les auteurs ont montré que les nourrissons présentant un risque d'asthme présentaient une dysbiose microbienne intestinale transitoire au cours des 100 premiers jours de leur vie. (132)

Cette prise de conscience nous donne l'occasion non seulement de reprendre le contrôle et de modifier certains comportements, mais également de concevoir des interventions pour contrer ces perturbations, qui sont souvent primordiales et ne peuvent être évitées. Ce faisant, nous pouvons transformer la fenêtre de susceptibilité en une fenêtre d'opportunité via, par exemple, l'administration en temps opportun de probiotiques et de facteurs correctifs, points qui seront développés dans la partie 6. (132, 133, 454, 455, 456).

## **2) Influence du mode d'accouchement**

### **2.1) Contexte**

Actuellement dans la plupart des pays à revenu élevé, plus d'une femme sur quatre accouche par césarienne (457). Même dans les pays à faible revenu, certaines femmes sont sujettes à des taux très élevés de césariennes. (458)

Les taux d'induction du travail augmentent considérablement et jusqu'à 50% des femmes et des nouveau-nés en travail reçoivent des antibiotiques (459). Il est de plus en plus évidents que ces interventions ont des effets cliniques. (460)

Ces dernières années des auteurs ont examiné l'augmentation rapide des interventions périnatales telles que les césariennes (461, 462), l'utilisation d'antibiotiques (459), les taux d'alimentation du lait maternisé, et l'association éventuelle à une augmentation similaire des cas d'asthme et de troubles atopiques dans le monde (463).

### **2.2) Conséquences microbiennes de la césarienne**

Lors de l'accouchement vaginal, le contact avec la flore vaginale et intestinale de la mère est une source importante pour le début de la colonisation du nourrisson. Pendant la césarienne, ce contact direct est absent et les bactéries environnementales d'origine non maternelle jouent un rôle important dans la colonisation intestinale du nourrisson. (464)

Une partie des microbes auxquels le nouveau-né est exposé lors de la naissance colonise les niches de son organisme et contribuera au microbiote hébergé par les différents territoires de l'organisme humain, cela permettant de stimuler son système immunitaire par une exposition antigénique massive (465). De plus en plus d'accouchements évitent la voie basse, et de fait ces nouveau-nés peuvent ne pas être exposés à ces micro-organismes à la naissance. Les différences dans les modes d'accouchement ont été liées à des modifications dans le microbiote intestinal au cours des premiers jours de vie, et le microbiote étant un partenaire primordial de l'immunité au début de la vie, il est fort probable que le mode d'accouchement ait des conséquences immunitaires et cliniques. (466, 467, 468, 469)

Les communautés bactériennes initialement présentes sur la mère servent de source première et directe de bactéries protectrices bénéfiques (ou pathogènes) très tôt dans la vie. Une étude récente de Dominguez-Bello MG et al montre précisément les premiers stades de la

colonisation du corps par les microbes, que nous avons déjà abordés dans la seconde partie. Les bébés nés par voie vaginale étaient principalement colonisés par *Lactobacillus*, alors que les bébés nés par césarienne étaient colonisés par un mélange de bactéries moins bénéfiques et potentiellement pathogènes que l'on trouve généralement sur la peau et dans l'environnement du milieu hospitalier, comme entre autres *Staphylococcus* et *Acinetobacter*, ce qui peut amener à penser que les bébés nés par césarienne ont été colonisés avec de la flore cutanée. (100, 130)

La flore vaginale fournit aux nourrissons nés par cette voie leur premier inoculum microbien ex utero. Le microbiote cutané et oral de nourrissons nés par voie basse quelques instants après la naissance et du rectum 24 h après la naissance ressemble beaucoup au microbiote vaginal de la mère (100). En revanche, le microbiote des bébés nés par césarienne ressemble beaucoup aux microbes de la peau et ne ressemble pas davantage à celui de leur mère qu'au microbiote de la peau d'une autre femme. Par exemple, dans une étude de Bäckhed F et al. portant sur des nourrissons suédois et leurs mères, 72% des espèces détectées dans les selles des nourrissons nés par voie vaginale une semaine après leur naissance étaient également présentes dans les selles de la mère. En comparaison, les enfants nés de césarienne ont vu cette proportion diminuer à 40%. (448)

Dans une autre étude, il a été constaté que le microbiote des enfants nés par césarienne était aussi moins diversifié au cours de la première semaine de vie, abritait moins de *Bifidobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Bacteroides* et *Lactobacilli*, et une plus grande abondance relative d'*Hemophilus*, *Veillonella*, *Clostridiaceae* et *Klebsiella* que les enfants nés par voie basse (470). En outre, l'abondance accrue de *Clostridiaceae* était détectable jusqu'à 2 mois, et la diversité et l'abondance relative de *Bifidobacteria* et de *Bacteroides* étaient toutes deux détectables jusqu'à l'âge de 3 mois. Cependant, le microbiote des nourrissons quel que soit le mode de naissance est devenu de moins en moins identifiable au bout de trois à six mois de vie, ce qui montre une influence de stabilisation et de convergence de l'environnement. Cela a de nouveau été noté dans des études plus récentes, où le microbiote des nourrissons différait selon le mode d'accouchement à la naissance pour les narines, la bouche et la peau, quelques différences étant encore observées à l'âge de 6 semaines mais pas après (471). Une autre enquête de Bokulich NA et ses collaborateurs portant sur 24 nouveau-nés nés selon les deux modes a montré que, même si le microbiote des selles des deux groupes convergait vers 2 ans cette fois, les bébés nés par césarienne étaient moins colonisés par le genre *Bacteroidales* au cours de la première année de vie, tandis que d'autres taxons tels que les *Clostridiales* et *Enterobacteriaceae* étaient présents en quantité abondante.

L'exposition antigénique dans les premiers mois de vie est donc modifiée (466, 472). Gronlund et ses collaborateurs ont confirmé que la flore intestinale primaire chez les nourrissons nés par césarienne pouvait être perturbée jusqu'à 6 mois après la naissance. (467) Une autre étude utilisant des techniques basées sur la culture des bactéries du microbiote a montré que le mode d'accouchement était associé à des différences de microbes intestinaux jusqu'à 7 ans après l'accouchement (473). Les conclusions au sujet de la durée de la perturbation diffèrent donc selon les études, il existe néanmoins un consensus quant à leur influence.

### **2.3) Conséquences cliniques pour les enfants nés par césarienne**

Une étude très récente, la plus grande sur le microbiome des nouveaux-nés, et dirigée par Trevor Lawley a montré l'importance du mode de naissance, et combien le microbiome d'un enfant né par césarienne est différent de celui des enfants nés par voie vaginale, ceux nés par césarienne ayant un microbiome constitué de microbes présents dans les hôpitaux, notamment d'agents considérés comme pathogènes et de moins de bactéries commensales (474). Il est de plus en plus évident que les bactéries intestinales jouent un rôle important dans le développement postnatal du système immunitaire. Ainsi, si la flore intestinale évolue différemment selon le mode d'accouchement, le développement postnatal du système immunitaire pourrait également être différent. Les données épidémiologiques disponibles montrent que les maladies atopiques, c'est-à-dire impliquant une prédisposition génétique à l'hypersensibilité à un antigène, apparaissent plus souvent chez les nourrissons après une césarienne qu'après un accouchement par voie vaginale. (475, 476, 477, 478)

Ainsi, Thavagnanam S et ses collaborateurs ont montré après analyse de la littérature et des études existantes que l'accouchement par césarienne a été associé à l'asthme, avec une augmentation de 20% du risque d'asthme chez les enfants nés par césarienne (479), d'allergies (480), de diabète de type 1 (481), probablement en raison d'une exposition réduite aux microbes de la mère lors de l'accouchement.

La naissance par césarienne entraîne donc un retard du développement du microbiote intestinal, dont l'implantation et la nature des micro-organismes peuvent être modifiés, entraînant une évolution inhabituelle de celui-ci et nécessitant davantage de temps pour se régulariser et atteindre la composition optimale d'un adulte (100). Cela est associé à une

augmentation du diabète de type 1 (481, 482) et de l'asthme (479, 483) alors qu'une augmentation du contact avec le microbiote maternel peut avoir un effet protecteur. (484)

L'ordre de naissance dans une fratrie module également le microbiote intestinal. En effet, Penders et al ont montré qu'avec l'augmentation du nombre de frères et sœurs plus âgés, les taux de colonisation à l'âge de 5 semaines de lactobacilles et de bactéroïdes augmentaient, alors que les taux de Clostridia diminuaient. La colonisation par les clostridies, à l'âge de 5 et 13 semaines, était également associée à un risque accru de développer un trouble immunitaire au cours des 6 mois suivants. Ceci explique probablement la protection contre les troubles allergiques imputables au fait d'avoir des frères et sœurs plus âgés, ce qui était la théorie de Strachan (175, 485). Il avait constaté que plus les enfants britanniques avaient de frères et sœurs, moins ils étaient susceptibles de développer un rhume des foins. Il expliquait alors que les allergies pouvaient être bloquées par de multiples infections contractées durant l'enfance, par des contacts non hygiéniques entre frères et sœurs.

Bien que les études épidémiologiques aient démontré que l'accouchement par césarienne entraînait un risque accru de maladies allergiques dans l'enfance, des facteurs concomitants pouvaient également jouer un rôle. Les données disponibles provenant de plusieurs études indiquent un début d'allaitement retardé avec césarienne, l'allaitement conditionnant aussi le développement du microbiote (486, 487). Ainsi, de nombreux nourrissons nés par césarienne n'avaient pas non plus le soutien précoce du lait maternel en tant que stimulateur d'une flore intestinale physiologique. La mise en place désorganisée et non physiologique de la colonisation ainsi que le manque de soutien alimentaire précoce dû au retard du début de la lactation pourraient avoir ces effets à long terme sur l'exposition antigénique et le développement du système immunitaire.

Une étude observationnelle sur des nourrissons atopiques et non atopiques a mesuré la réponse immunitaire aux allergènes et montré comment une régulation immunitaire défaillante au contact d'un microbiote modifié par l'accouchement conduit à une allergie, par la production supérieure de cytokines Th2 telles que l'IL-4, l'IL-6 et l'IL-13 et une production défectueuse d'IFN $\gamma$  (488). Les nourrissons non atopiques initialement (dans la période néonatale) ont présenté une réponse Th2 aux allergènes plus grande que les nourrissons atopiques, stimulant ainsi la production d'IgE impliquées dans les réactions allergiques. Chez les nourrissons non atopiques, cette réponse Th2 a été progressivement supprimée au cours des deux premières années de la vie. Chez les nourrissons atopiques, cette réponse a progressivement augmenté au cours de la même période. Des données plus récentes ont

démontré que les accouchements par césarienne provoquent une colonisation retardée et une prédominance des réponses Th2 prolongées, ce qui pourrait expliquer un mécanisme par lequel la sensibilisation aux allergènes entraîne une réponse immunitaire croissante (plutôt que décroissante). (446)

L'accouchement par césarienne a été associé à plusieurs reprises à la rhinite allergique et à l'asthme. Une caractéristique particulièrement frappante de ces données est que les accouchements par césarienne à répétition sont associés encore plus fortement aux maladies allergiques (489). Les nourrissons nés par césarienne programmée sont probablement les moins exposés à la flore vaginale maternelle: ces accouchements sont programmés et ont généralement lieu avant la rupture des membranes. En revanche, les nourrissons nés d'une césarienne émergente ont probablement eu une rupture de la membrane pendant un temps considérable et ont probablement été exposés à des sécrétions vaginales pendant le travail.

### **3) Nutrition : allaitement et lait maternisé**

Dans la partie sur l'allaitement nous avons vu que le lait maternel contient des micro et macro-nutriments, des oligosaccharides, des cytokines, des enzymes, des facteurs de croissance, des cellules immunitaires ainsi que des microbes. Ces composants bio-actifs influencent la maturation du microbiote intestinal et du système immunitaire du nourrisson. (490, 491). De plus, l'allaitement a des propriétés anti-inflammatoires importantes, notamment par le biais de concentrations élevées dans le lait de TGF- $\beta$  et d'IL-10, et d'autres propriétés immuno-modulatrices grâce à des molécules telles que le CD14 soluble, les défensines, la lactoferrine et les lysozymes qui agissent ensemble pour maintenir l'homéostasie dans l'intestin colonisé (492, 493, 494, 495). En effet, une étude a révélé des concentrations plus élevées de TGF $\beta$  anti-inflammatoire et des concentrations plus faibles de TNF $\alpha$  et IL-2 pro-inflammatoires dans les sérums d'enfants allaités par rapport aux nourrissons nourris au lait artificiel au cours de la première année de vie (496). L'alimentation artificielle par lait industriel perturbe le microbiote intestinal et peut entraver le développement immunitaire (448, 497, 498). De ce fait, cela peut par la suite influencer sur le développement de pathologies d'origine immunitaire telles que l'asthme. (132)

La nutrition néonatale fait suite à l'inoculation initiale, par l'accouchement, de l'intestin du nourrisson en tant que déterminant majeur du microbiote du nourrisson. (130) Des différences dans le microbiote des nourrissons allaités et des nourrissons nourris au lait maternisé ont été signalées pour la première fois il y a près de 100 ans, des composés présents

dans le lait maternel ayant été trouvés pour favoriser la croissance des bifidobactéries. (499) En conséquence, les enfants nourris au sein hébergent plus de bifidobactéries et de lactobacilles dans leur intestin que les enfants nourris au lait maternisé qui abritent des quantités similaires de Bacteroides et de bifidobactéries (500, 501). Il est aujourd'hui admis grâce à un certain nombre d'étude que l'allaitement influence profondément le développement du microbiote buccal et intestinal du nourrisson (502, 503, 504). Le microbiote intestinal joue un rôle important dans la formation du système immunitaire du nourrisson naïf comme vu dans la seconde partie (505). En effet, le lait humain contient des microbes vivants qui contribuent àensemencer l'intestin du nourrisson, ainsi que des oligosaccharides qui constituent un substrat pour les micro-organismes qui constituent le microbiote intestinal (506). Le contact peau à peau direct pendant l'allaitement peut constituer une source supplémentaire de microbes protecteurs de la mère pour le nourrisson allaité (507). Les préparations artificielles pour nourrissons ne contiennent pas les composants prébiotiques et probiotiques divers et personnalisés présents dans le lait maternel et ne peuvent donc pas soutenir de manière optimale l'assemblage naturel et le développement du microbiote intestinal humain, ce qui peut entraîner une altération de l'exposition antigénique et du développement immunitaire, ainsi qu'une susceptibilité accrue à l'asthme à un âge plus avancé chez les nourrissons nourris au lait maternisé. (508)

Dans leur étude de l'influence de l'exposition antigénique du microbiote, dans la petite enfance, sur la santé à un âge plus avancé, Abrahamsson TR et al. ont montré que le microbiote des enfants asthmatiques à 7 ans était moins diversifié que celui des enfants non asthmatiques à l'âge d'une semaine et d'un mois. Les enfants souffrant d'eczéma associé aux IgE dans la petite enfance et développant par la suite un asthme présentaient une diversité microbienne inférieure à celle des autres (508, 509). Dogaru et ses collaborateurs ont examiné plus d'une centaine d'études et en ont déduit que favoriser l'allaitement à un autre type d'alimentation était associé à un risque d'asthme réduit de 22% (510). Sjogren YM et al ont montré que les nourrissons colonisés avec un plus grand nombre d'espèces de Bifidobactéries à l'âge d'un mois produisent des taux plus élevés d'IgA salivaire à 6 mois, ce qui est également en corrélation avec une protection contre les symptômes allergiques. (511)

D'autres recherches soutiennent un mécanisme à médiation immunitaire de l'allaitement. Par exemple, il est associée à un risque plus faible d'eczéma et de respiration sifflante récurrente au cours de la première année de vie et un allaitement exclusif pendant plus de 4 mois est associé à un risque réduit d'asthme jusqu'à 8 ans (512, 513). Dans une

cohorte de patients atteints de spondylarthrite ankylosante et de leurs familles, la prévalence de la maladie était de 25% chez les enfants allaités et de 40% chez la population de comparaison nourrie au lait artificiel (514). De plus, la prévalence de l'eczéma, de la rhinite allergique et de la respiration sifflante était significativement moins fréquente chez les patients avec prolongement de l'allaitement jusqu'à 6 mois par rapport aux nourrissons nourris à court terme. L'association entre allaitement et eczéma tendait à être similaire chez les enfants ayant des antécédents familiaux d'atopie et d'eczéma par rapport à ceux sans antécédent. Chez les enfants des pays en développement, l'allaitement au sein prolongé réduit le risque de développer des maladies allergiques et l'eczéma, même en présence d'une allergie maternelle. (515)

Cependant, l'impact de l'allaitement sur l'asthme reste en partie incompris. Cette incertitude est reflétée dans les résultats parfois incohérents de nombreuses études antérieures présentant d'importantes limites méthodologiques et est probablement également liée à la très grande variabilité biologique du lait maternel. (509)

#### **4) L'environnement**

##### **4.1) Statut socio-économique**

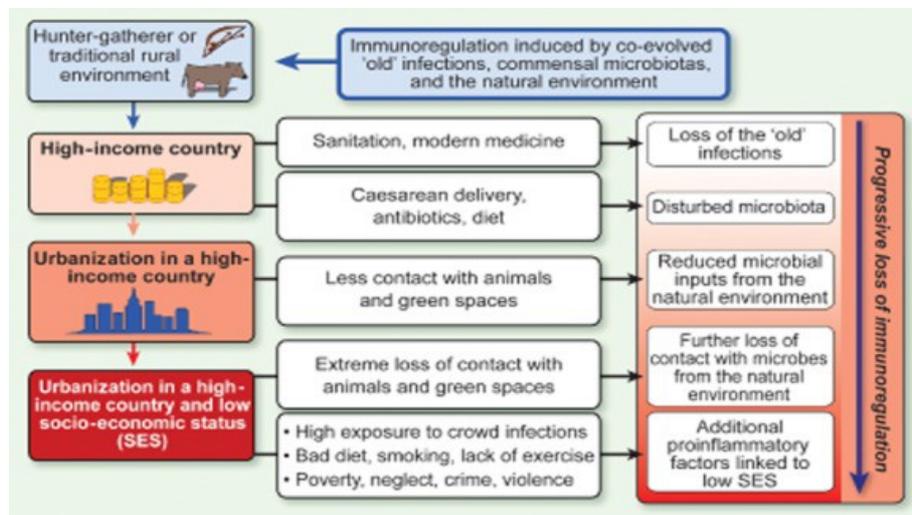
Le mode de vie dans les milieux à faibles revenus, comprenant notamment l'alimentation industrielle standardisée et aseptisée, qu'il affecte directement ou indirectement l'enfant, prédispose également à certains des troubles inflammatoires chroniques qui se développent dans les pays à revenus élevés et qui sont associés de manière plus traditionnelle avec «l'hypothèse d'hygiène» développée précédemment. Par exemple, la maladie auto-immune du diabète de type 1 est augmentée chez les enfants à faible statut socio-économique (516, 517, 518). Les enfants à faible statut socio-économique ont également tendance à souffrir d'asthme plus grave, accompagné d'une expression accrue des voies et mécanismes pro-inflammatoires (519). Dans certains contextes, les pathologies inflammatoires de l'intestin sont également plus fréquentes chez les enfants à faible statut socio-économique (520). Ces observations suggèrent un problème immuno-régulateur généralisé dans les communautés à faible statut socio-économique de par la nature différente de l'exposition antigénique durant la petite enfance.

Sous l'angle du statut socio-économique, des disparités apparaissent selon la région du monde dans laquelle un individu vient au monde. Le mécanisme des « vieux amis » implique que l'inflammation est mieux régulée dans les pays à faible revenu qui les ont conservés que dans les pays urbanisés à revenu élevé où leur présence a diminué. À première vue, cela semble paradoxal, car on pourrait s'attendre à ce que la prévalence élevée d'infections dans les pays à faible revenu soit à l'origine d'une inflammation importante (521). Les travaux de McDade et al. ont largement résolu ce paradoxe (522, 523). Leur étude révèle que dans un pays à faible revenu où l'exposition aux « vieux amis » induisant l'immuno-régulation est encore abondante, celle-ci est efficace et la réponse inflammatoire est vigoureuse lors d'une infection, mais elle cesse quand elle n'est plus nécessaire. Il en résulte que la protéine C-réactive (CRP) en dehors du contexte d'une stimulation est proche de zéro. McDade et ses collaborateurs ont confirmé la précédente constatation selon laquelle des hauts niveaux d'exposition microbienne pendant la période périnatale et pendant la petite enfance étaient corrélés à des niveaux résiduels plus faibles de CRP hors stimulation à l'âge adulte (524). À l'inverse, aux États-Unis et dans les pays à revenus élevés, il existe souvent une inflammation de bas grade constante qui tend à être stable entre les individus, se manifestant par une augmentation chronique de la CRP ou de l'interleukine 6, en l'absence de toute manifestation inflammatoire cliniquement apparente.

#### **4.2) Le contact avec la biodiversité**

Environ un tiers des bactéries présentes dans le microbiote intestinal sont capables de former des spores, et les spores sont facilement identifiables dans les selles humaines (195, 525). Les spores sont remarquablement résistantes et peuvent rester viables pendant des milliers d'années (526). Le sol est considéré comme l'habitat naturel des spores responsables de la formation de nombreux micro-organismes beaucoup d'entre eux pouvant germer et se reproduire dans le tractus intestinal des insectes et d'autres animaux. (526, 527, 528, 529) De plus, après la germination, ils se sont répliqués dans l'intestin grêle puis se sont resporulés à mesure qu'ils entraient dans le côlon. La même chose se produit chez l'homme. (525) La plupart de ces souches sont capables de former des biofilms, de sporuler de manière anaérobie et de sécréter des antimicrobiens, propriétés qui pourraient faciliter la survie dans l'intestin (530). Il y a donc un constat croissant qui consiste à considérer que ces micro-organismes considérés comme extérieurs tels que *B. subtilis* et d'autres espèces de

l'environnement sont des commensaux intestinaux tout autant que des micro-organismes du sol (531). Cela pourrait être très pertinent pour le mécanisme des «vieux amis», en particulier pour l'importance évidente de l'exposition aux animaux, aux terres agricoles et aux espaces verts dans la petite enfance, jouant le rôle éducatif du système immunitaire par une exposition antigénique massive et diverse. Par exemple, *B. subtilis* est un stimulus important pour le développement du tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT) chez le lapin, et l'exposition antigénique issue de la sporulation de bacilles vivants dans le GALT est considérée comme essentielle à ce processus (529). *B. subtilis* est aussi capable de stimuler le GALT en synergie avec *B. fragilis*, organisme qui favorise également la formation de GALT murin et sécrète un antigène polysaccharidique qui favorise la prolifération de Treg. (231)



**Figure 30 : Facteurs d'altération de l'interaction avec les organismes immunorégulateurs.**  
*Figure adaptée de Rook et al, 2014.*

La figure 30 représente la perte progressive, dans les pays à revenu élevé et urbanisés, du contact avec les organismes immunorégulateurs avec lesquels les humains ont co-évolué et qui se développent dans les environnements naturels ainsi que la perte en nombre et en qualité de l'exposition antigénique précoce nécessaire au développement optimal du système immunitaire. Le contact avec les animaux fournit une grande source de contact avec les micro-organismes. (Figure 30)

L'effet protecteur de l'environnement agricole a été noté il y a déjà longtemps au 19ème siècle et a été associé aux étables. En effet, Riedler et ses collaborateurs ont montré

qu'un environnement agricole protège contre le développement de l'asthme, du rhume des foins et de la sensibilisation atopique chez les enfants. En outre, l'exposition des enfants âgés de moins de 1 an, comparativement à ceux âgés de 1 à 5 ans, aux étables et la consommation de lait de ferme était associée à des fréquences plus basses d'asthme, de rhume des foins et de sensibilité atopique. L'exposition continue à long terme aux écuries jusqu'à l'âge de 5 ans présentait un effet encore plus bénéfique. (532)

Les contacts avec les chiens, avec lesquels les humains ont co-évolué pendant des millénaires, protègent également des maladies allergiques. Ownby DR et son équipe ont constaté que l'exposition à 2 chiens ou plus au cours de la première année de vie était associée à un risque significativement plus faible d'atopie, environ deux fois moins. La baisse de la sensibilité allergique semble valable pour une multitude d'allergènes divers (177, 533). Ceci peut être dû au fait que des personnes semblent partager leur microbiote via les chiens de par les multiples contacts qu'ils ont avec l'animal, ce qui augmente considérablement la biodiversité microbienne de l'environnement et la stimulation antigénique qui en découle. (534, 535, 536)

Dans une étude américaine effectuée en Équateur et en Amazonie, où le niveau des maladies infectieuses est élevé, la présence de matières fécales d'animaux domestiques à la maison était corrélée à une meilleure capacité à maîtriser l'inflammation, avec un niveau de CRP mieux contrôlé, à l'âge adulte (522). En Carélie russe où la prévalence de l'atopie chez l'enfant est quatre fois plus faible et le diabète type 1 d'origine immunitaire six fois moins qu'en Carélie finlandaise, la poussière domestique contenait un nombre sept fois plus élevé de clones d'espèces associées aux animaux que celle présente dans la poussière domestique de Carélie finlandaise. (537)

La vie et l'exposition microbienne durant la petite enfance, entre les milieux urbains et ruraux, a une influence sur le développement de pathologie à un âge plus avancé. (538) Il a été prouvé que l'exposition à l'agriculture protégeait contre le risque allergique. Dans une cohorte d'écoliers ruraux, les enfants dont les parents sont agriculteurs sont protégés contre les symptômes allergiques tels que la respiration sifflante et le rhume des foins par rapport aux autres enfants moins exposés. (539)

L'association entre la consommation de lait cru de ferme et la protection contre l'asthme et l'atopie a également été prouvée dans une étude nommée GABRIELA: l'étude de la consommation de lait dans les familles rurales a montré que le lait cru de ferme, mais non le lait de ferme bouilli, était inversement associé à l'asthme, à l'atopie et au rhume des foins,

même après ajustement pour les autres expositions agricoles. Cela tend à prouver que l'exposition antigénique conférée dans le milieu rural protège de certaines pathologies immunitaires (540). Chez les consommateurs consommant à la fois du lait de ferme et du lait de consommation, une consommation plus fréquente (quotidienne) de lait cru de ferme, ainsi qu'une exposition plus précoce au lait de ferme brut (âgé de moins d'un an) ont montré des associations inverses plus fortes avec l'asthme, l'atopie et le rhume des foins.

Plus récemment, ont été identifiées et analysées les expositions microbiennes dans deux études de cohortes d'enfants européens. Dans les deux études de cohortes, les chercheurs ont constaté que les enfants grandissant dans des exploitations d'Europe centrale étaient exposés à une gamme plus large d'expositions microbiennes et présentaient une prévalence moins élevée d'asthme et d'atopie que le groupe de référence. (541)

Comme vu précédemment, en 1989, David Strachan, a noté que les nourrissons nés dans un ménage comptant de nombreux frères et sœurs étaient moins susceptibles de souffrir d'eczéma dans la première année de vie et au rhume des foins plus tard dans la vie. (175)

## **5) Exposition aux antibiotiques**

### **5.1) Contexte**

L'exposition aux antibiotiques, tout comme l'alimentation au lait maternisé et la césarienne peuvent retarder et altérer le développement de la population microbienne intestinale, suggérant un lien possible avec les risques pour la santé associés à ces procédures.

Au cours de la dernière décennie en particulier, l'impact d'une utilisation excessive des antibiotiques a été de plus en plus étudiée, notamment du fait de la découverte de résistances bactériennes. En outre, il a été de plus en plus reconnu que cette utilisation des antibiotiques dans la petite enfance avait un lien avec des pathologies immunitaires étant en grande partie dues à l'interaction du microbiome avec le système immunitaire humain (130, 505, 542, 543). Ainsi, les antibiotiques, en particulier leur utilisation excessive ou inappropriée pendant la grossesse ou la période néonatale, induisent des modifications du microbiote impliquées dans l'asthme, l'allergie au lait de vache, ainsi que le syndrome du côlon irritable (544, 545, 546, 547). Au vu des liens que nous avons exposés précédemment entre le microbiote et l'immunité de l'hôte il n'est pas surprenant que les perturbations par les antibiotiques de cette interaction bénéfique augmentent le risque de développer plusieurs maladies immunitaires (131)

## **5.2) Action sur le microbiome**

Les antibiotiques perturbent directement et durablement la flore microbienne intestinale, avec plus ou moins de conséquence selon la molécule utilisée, entraînant une altération des états de composition du microbiote chez les enfants et les adultes (548, 549). Si l'on sait que la molécule perturbe les micro-organismes présents, les conséquences de ces changements sur la physiologie de l'hôte ne sont pas encore totalement comprises. Outre les troubles immunitaires telles que l'allergie et l'asthme. (132, 546), découlant d'une perturbation précoce du microbiote, l'exposition aux antibiotiques chez les enfants a été associée à des perturbations métaboliques avec notamment un risque accru d'obésité, de diabète, de maladies inflammatoires de l'intestin. (550, 551, 552)

Bien que les effets des expositions aux antibiotiques sur la dysbiose intestinale chez les adultes soient bien caractérisés, leurs effets sur le développement du microbiote pendant la petite enfance ont été moins pris en compte même si les recherches sur le sujet suscitent de plus en plus d'intérêt. (548). Il est cependant reconnu aujourd'hui que les antibiotiques ont une influence considérable sur le microbiome pendant l'enfance, avec des effets durables. Les travaux de Cox et ses collaborateurs ont démontré que même de faibles doses sur de courtes périodes de pénicilline entraînaient la formation de phénotypes durables d'expression altérée des gènes induite par la dysbiose. (453, 538). Dans les faits, Bokulich et al. ont montré que l'utilisation d'antibiotiques diminuait significativement la diversité phylogénétique et la diversité microbienne qui s'installe immédiatement après la naissance, et par là même perturbait l'exposition antigénique précoce. Cependant, cela accélérât le taux d'augmentation des espèces qui restaient présentes au cours de la première année de vie. L'exposition aux antibiotiques a modifié la trajectoire de la diversité microbienne au cours des deux premières années de la vie, bien que les effets soient restés transitoires. (449)

Ils ont de plus constaté que les nourrissons qui n'avaient pas été exposés à des antibiotiques et ceux qui avaient été exposés à une époque antérieure présentaient des différences significatives. Les enfants exposés aux antibiotiques présentaient un retard de maturation du microbiote comparé à ceux non exposés aux antibiotiques. Ces effets auraient été les plus prononcés au cours des six derniers mois de la première année de vie. Cette observation pourrait fournir des preuves que les antibiotiques ont altéré le microbiote intestinal chez les

nourrissons, même s'ils soulignent que les conséquences étaient plus faibles que selon le mode d'accouchement. La maturation retardée au cours de la petite enfance était due à l'épuisement de certains taxons, notamment des constituants d'Enterobacteriaceae, de Lachnospiraceae et d'Erysipelotrichaceae, retardant ainsi le développement de communautés microbiennes dans l'intestin par rapport aux enfants non exposés. (449)

Certaines études épidémiologiques indiquent que l'utilisation d'antibiotiques dans la petite enfance, au même titre que la naissance par césarienne, pousse vers une diminution du nombre d'espèces bactériennes comme Bacteroides, ces deux facteurs étant associés à une augmentation de l'asthme chez l'enfant. (469, 553, 554)

Les souris infantiles exposées aux antibiotiques hébergeaient également un microbiote riche en Enterococcus faecalis (555), ce qui concorde avec les observations selon lesquelles les nouveau-nés humains nés de mères sous antibiothérapie avaient un microbiote enrichi en Enterococcaceae. (502, 556, 557, 558, 559)

### **5.3) Preuves expérimentales**

Pour déterminer si des perturbations du microbiote intestinal causées par des antibiotiques influent sur l'apparition de l'asthme, un asthme murin expérimental a été induit grâce à l'ovalbumine, protéine du blanc d'œuf fortement immunogène et inducteur dans les modèles expérimentaux d'asthme, chez des souris qui ont par la suite été exposées à la vancomycine ou à la streptomycine, à deux moments de la vie, chez le nouveau-né ou uniquement à l'âge adulte (560). Les souris soumises à l'ovalbumine et qui ont été traitées tôt dans la vie avec de la vancomycine, mais pas de la streptomycine, ont connu une augmentation des infiltrats de cellules inflammatoires dans le lavage broncho-alvéolaire par rapport aux témoins. Ils ont de plus constaté que le traitement des souris adultes avec les mêmes antibiotiques n'a eu aucun effet sur l'induction d'asthme. Le traitement néonatal à la vancomycine a également augmenté les éosinophiles dans le lavage broncho-alvéolaire. L'immunoglobuline E spécifique de l'antigène était également significativement plus élevée chez les animaux traités à la vancomycine. Enfin, les auteurs ont remarqué que les cellules T CD4 + CD25 + Foxp3 + dans le colon, qui sont des cellules régulatrices de l'inflammation, étaient en nombre moins important chez les souris traitées à la vancomycine, tandis que leur fréquence chez les animaux traités à la streptomycine était comparable à celle des témoins (561).

Le moment de l'antibiothérapie, ainsi que la nature de la molécule employée ont donc une influence sur le microbiote et sur les conséquences qui en découlent.

D'autres études exposant des souris à la vancomycine dans l'eau de boisson pendant la gestation et au sevrage exacerbait l'asthme chez les rats après le sevrage (545). Il a aussi été constaté un plus grand nombre d'éosinophiles et de neutrophiles dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire, une augmentation de l'IgE sérique et une fréquence réduite des lymphocytes T régulateurs du colon. La streptomycine administrée par voie intranasale a peu d'effet sur l'asthme, mais elle exacerbe la pneumopathie d'hypersensibilité et augmente l'expression de l'IL-17 et de l'IFN $\gamma$  dans les poumons. (562)

Il faut cependant préciser qu'aucune de ces études ne rend compte de la dose, de la fréquence ou de la voie d'exposition aux antibiotiques néonataux au-delà desquels des conséquences néfastes seraient constatées. (130)

Atarashi et al ont cependant eux aussi observé que le traitement à la vancomycine réduisait les cellules T CD4 + Foxp3 + au niveau intestinal. Ils suggèrent que cette observation est due à une réduction des espèces de Clostridium qu'ils identifient comme de puissants inducteurs de Treg (138). Le microbiote modifié par la vancomycine produit probablement un ensemble de signaux microbiens totalement différent de celui des témoins sains, qui pourrait altérer les cascades de signalisation des cellules épithéliales intestinales et dysréguler les réponses immunitaires innées et adaptatives. On sait déjà que les souris traitées à la vancomycine ont moins de cellules Th17 dans l'intestin grêle et moins de cellules Treg CD4 + dans le côlon (91, 138).

Des études sur des animaux sans germes montrent que la régulation des sous-ensembles de cellules immunitaires par les microbes intestinaux ne se limite pas au compartiment intestinal (563). Des informations tirées de l'utilisation d'antibiotiques dans d'autres modèles de maladies suggèrent des mécanismes induits par des réponses immunitaires Th2 asymétriques et des taux sériques élevés d'IgE. Les résultats d'Oyama et al suggèrent que l'utilisation d'antibiotiques, ici la kanamycine, pendant la petite enfance peut perturber quantitativement, qualitativement la microflore intestinale et ainsi empêcher la maturation des cellules Th1 après la naissance, entraînant ainsi une déviation immunitaire polarisée vers Th2 (564, 565). Par ailleurs, l'administration d'antibiotiques spécifiquement pendant la période néonatale a été associée à un risque accru de respiration sifflante au cours de la première année de vie et de rhinite allergique chez les enfants d'âge scolaire (566, 567).

Nous avons cité la vancomycine précédemment dont les effets ont été observés dans plusieurs études mais d'autres molécules sont susceptibles de conduire aux même résultat. Le risque de l'asthme est directement proportionnel au nombre de prescriptions d'antibiotiques au cours des deux premières années de la vie. Les macrolides et les céphalosporines ont démontré des associations particulièrement significatives avec le développement de l'asthme. (568)

## **6) L'hygiène**

Le concept d'hygiène repose sur la corrélation entre la propreté individuelle et collective et le maintien d'une bonne santé. Depuis la théorie des germes sur les maladies, l'hygiène est devenue de plus en plus assimilée à la neutralisation et à l'absence de micro-organismes. En effet, presque toutes les études sur l'hygiène utilisent la réduction du nombre de micro-organismes comme indicateur de la réduction de la transmission d'organismes pathogènes. Or, et nous l'avons vu précédemment, les humains particulièrement en début de vie, ont des relations intimes et évolutives significatives avec un ensemble diversifié de micro-organismes. La raison d'être de l'hygiène en tant que simple destruction des microbes n'est pas pertinente. En conséquence il est plus intéressant de considérer à présent l'hygiène comme un ensemble de pratiques qui visent à contrer la propagation ou la transmission de micro-organismes pathogènes, réduisant ainsi l'incidence des pathologies infectieuses.

### **6.1) Contexte actuel**

Aujourd'hui, les études épidémiologiques et expérimentales tendent à confirmer la théorie de G.Rook selon laquelle l'exposition précoce à une gamme variée de microbes considérés comme «vieux amis» - et non d'agents pathogènes infectieux dans leur ensemble comme le pensait Strachan - est nécessaire pour que le système immunitaire humain puisse réagir correctement aux stimuli de l'environnement. Cependant, la réduction de l'hygiène personnelle et les règles prophylactiques anti-infectieuses n'auront pas d'incidence sur les taux de troubles inflammatoires et allergiques chroniques, et cela ne ferait qu'augmenter le taux des infections transmissibles.

Le terme d'hygiène dans la plupart des articles de la littérature scientifique actuelle désigne le plus souvent l'hygiène des mains, en particulier dans le domaine médical et

hospitalier, que l'Organisation mondiale de la santé définit comme «un terme général désignant toute action de nettoyage des mains» (569). L'hygiène peut aussi faire référence à l'hygiène de l'environnement, qui peut signifier soit le nettoyage des surfaces dans l'environnement de la personne (généralement le patient), soit, plus généralement, les modifications d'infrastructures qui modifient l'environnement de manière telle qu'elle est considérée comme étant bénéfique pour la santé humaine telles que l'installation de traitement de l'eau et des eaux usées (570, 571). Lorsque le travail sur l'hygiène des mains a été effectué en dehors du cadre hospitalier, il s'est concentré sur d'autres domaines à risque élevé de transmission d'agents pathogènes, tels que les structures de garde d'enfants dans lesquels les maladies transmissibles virales ou bactériennes sont récurrentes et dans lesquels les mesures préventives peuvent être efficace pour réduire l'incidence de cas pathologiques (572, 573, 574). Les mesures d'hygiène personnelle s'accompagnent généralement d'efforts visant à améliorer l'hygiène environnementale des communautés, par diverses infrastructures d'assainissement. (575)

Dans une revue de la littérature scientifique existante, Aiello et Larson n'ont trouvé qu'une cinquantaine d'études établissant un lien explicite entre l'hygiène et les conséquences sanitaires en dehors des établissements de santé. (575)

Les études liant les interventions en matière d'hygiène à la santé démontrent l'efficacité de l'hygiène individuelle notamment du lavage des mains pour réduire le risque de maladie diarrhéique, et globalement les risques de propagation des maladies transmissibles, telles que les infections des voies respiratoires supérieures. (576, 577, 578)

En somme, l'augmentation des niveaux de vie dans les pays développés s'est accompagnée d'un accroissement des mesures d'hygiène individuelle et collective bien qu'il soit encore aujourd'hui difficile d'en évaluer toutes les conséquences.

## **6.2) De quelle hygiène s'agit-il ?**

Ce que l'on entend par «hygiène» dans une étude donnée n'est toutefois souvent pas précisé et reste généralement incohérent entre les études de groupes de recherche différents, mais est généralement mesuré par la seule évolution au cours du temps de la charge microbienne ou de la dispersion des microbes à partir des mains. (579, 580, 581)

Les recherches existantes et les connaissances actuelles en matière d'hygiène en général sont basées sur des études qui utilisent la culture, et qui impliquent la croissance et le

dénombrement de bactéries en laboratoire. Elles sont pour la plupart basées uniquement sur le nombre d'unités formant des colonies mais sont étudiées sans analyse approfondie des taxons qui les composent. Ces techniques ne tiennent pas compte de la diversité de nature ou de fonction et de l'omniprésence de bactéries non nuisibles et même utiles, comme nous l'avons vu précédemment, sur la peau humaine et dans les différents microbiotes de l'organisme (582, 583). Des techniques plus spécifiques comme la technologie de séquençage d'ADN à haut débit, ont permis une exploration plus approfondie de la diversité microbienne, vivant sur le corps humain sain (584, 585, 586). Les études axées sur l'hygiène et ses liens sur la santé doivent tenir compte de cette diversité et reconnaître que tous les microbes ne sont pas nocifs et qu'il existe un continuum entre microbes pathogènes et mutualistes et leur influence notamment, sur l'immunité de leur hôte.

Les recherches scientifiques sur les micro-organismes qui colonisent la peau utilisent deux ensembles de vocabulaire différents pour les caractériser: les microbes résidents et transitoires par rapport aux microbes commensaux et pathogènes (587, 588). Les microbes résidents étaient qualifiés de stables sur la peau humaine, leur élimination s'avérant difficile, alors que les microbes transitoires colonisaient la peau par contact et pouvaient être éliminés avec moins de difficulté (589). L'opposition entre des microbes résidents et transitoires est devenue l'hypothèse selon laquelle les microbes résidents sont ceux qui résident habituellement sur la peau, tandis que les microbes transitoires sont considérés comme des contaminants (590). La peau humaine peut avoir des microbes mutualistes, commensaux et pathogènes dans le cadre de son microbiote «de base» résident. Une seule espèce microbienne peut appartenir à ces trois catégories à la fois. Par exemple, la bactérie *S. epidermidis* vue précédemment est retrouvée presque systématiquement sur la peau humaine et est généralement considérée comme commensale, bien qu'elle puisse parfois jouer le rôle de pathogène opportuniste, ou de mutualiste protecteur. (591, 592, 593, 594)

La propreté personnelle est inversement liée aux composés bactériens présents sur les sols et les matelas, tandis que la propreté domestique réduit efficacement la quantité de poussière mais pas les marqueurs microbiens. Or on sait que l'exposition à des antigènes bactériens tels que l'acide muramique est associée à une prévalence plus basse d'asthme à l'âge scolaire (595, 596). Les endotoxines de matelas au cours de la première année de vie étaient inversement associées à la sensibilisation atopique et à l'asthme à l'âge scolaire. Cependant, ni la propreté personnelle ni celle de la maison n'était associée à un risque

d'asthme et d'allergies. D'autres composants microbiens de la poussière domestique non affectés par l'hygiène personnelle sont susceptibles de jouer un rôle. (595)

Des travaux plus anciens ont montré que le lavage des mains à l'eau et au savon est efficace pour éliminer les microbes acquis par le patient, et des études plus récentes ont montré que les désinfectants à base d'alcool étaient aussi efficaces, voire supérieurs à l'eau et au savon. (590, 597, 598, 599)

La compréhension de la dynamique au sein du microbiote offre la possibilité d'améliorer les stratégies de gestion des microbiotes. Puisque l'objectif des mesures prophylactiques d'hygiène est d'améliorer la santé mais que la santé est améliorée grâce à une gestion microbienne optimale au sein de l'hôte, il serait alors bénéfique de disposer de directives d'hygiène tenant compte de cela. (600)

La preuve que les microbes sont essentiels au maintien de la santé conforte donc l'idée que des pratiques d'hygiène visant à éliminer simplement les microbes ne sont peut-être pas la meilleure approche. Il est clair que la colonisation microbienne de la peau ou d'autres territoires de l'organisme n'est pas délétère en soi. Les pratiques d'hygiène devraient plutôt viser à réduire les micro-organismes pathogènes tout en augmentant et en maintenant simultanément la présence de ceux qui sont mutualistes ou du moins commensaux, et qui sont eux essentiels à la protection et au développement de l'hôte dans la petite enfance. Il serait plus convenu que l'hygiène soit définie comme des actions et pratiques qui réduisent la propagation ou la transmission de micro-organismes pathogènes et réduisent ainsi l'incidence des maladies infectieuses (600). Cependant il existe une difficulté à identifier des pratiques réduisant spécifiquement la propagation de micro-organismes pathogènes. (601, 602, 603, 604)

Pour la population, le terme «hygiène» est interprété comme une propreté personnelle: se laver les mains, garder les aliments propres et frais, assainir les habitations. La théorie hygiéniste étant en grande partie dissociée des pathologies infectieuses, la solution selon laquelle il faudrait aller vers moins d'hygiène est fautive. Selon Bloomfield, le renoncement à des normes d'hygiène ne modifierait en rien l'incidence de pathologies immunitaires, et n'aurait pour effet que d'augmenter les risques de transmission de maladies infectieuses (605). De nombreux noms ont été proposés en remplacement de l'hypothèse d'hygiène comme l'hypothèse d'épuisement du microbiome, l'hypothèse de diversité microbienne et, bien sûr, l'hypothèse des vieux amis (605, 606). Afin de tenter de modifier les comportements

du public, certains parlent maintenant d'hygiène ciblée, c'est-à-dire d'éliminer la propagation d'agents pathogènes tout en préconisant des mesures pour restaurer un microbiome diversifié. Par exemple, cela consiste à apprendre aux enfants à se laver les mains après avoir manipulé des aliments crus, mais aussi les encourager à jouer dehors dans la terre.

### **6.3) Hygiène et infection**

Durant plusieurs décennies, la communauté scientifique était optimiste quant à la possibilité de vaincre la plupart des infections grâce à la vaccination et aux antibiotiques librement disponibles. Au cours des dernières années, cette opinion s'est inversée. Les maladies infectieuses continuent de peser lourdement sur la santé. Les différentes questions relatives aux maladies infectieuses sont le plus souvent examinées isolément mais, considérées dans leur ensemble, elles constituent un argument en faveur d'un regain d'intérêt pour l'hygiène, qui, à côté des stratégies de vaccination, reste essentielle pour contenir les maladies infectieuses (607). Les preuves montrent que l'hygiène des mains et des surfaces peut limiter la propagation d'infections respiratoires, en particulier de rhumes et d'influenza. Les infections virales respiratoires et intestinales ne pouvant être traitées à l'aide d'antibiotiques, la prévention par l'hygiène est essentielle (608, 609, 610). De plus, Les changements sociétaux signifient que les personnes plus susceptibles aux maladies infectieuses représentent une proportion croissante de la population, jusqu'à 20% ou plus, les mesures prophylactiques ne peuvent donc pas être mises de côté (611). La plus grande proportion comprend les personnes âgées qui ont une immunité réduite, souvent exacerbée par d'autres maladies. Cela inclut également les très jeunes enfants et les membres de la famille porteurs de dispositifs invasifs tels que les cathéters et les personnes immunodéprimées en raison de maladies chroniques ou de chimiothérapie anticancéreuse.

De plus les agents pathogènes émergents et les nouvelles souches sont une préoccupation importante. Il est remarquable que les norovirus, Campylobacter et Legionella étaient en grande partie inconnus en tant que pathogènes humains avant les années 1970, tandis que d'autres, comme E. coli O157 et O104, ont émergé au cours des décennies suivantes. Le dernier en date étant le virus Zika (612). Les agences du monde entier reconnaissent que, pour les menaces telles que les nouvelles souches de grippe, le SRAS (syndrome respiratoire aigu sévère) et le virus Ebola, l'hygiène est une première ligne de défense pendant la crise avant que des mesures de masse telles que la vaccination ne

deviennent disponibles (613). Comme vu précédemment, il est à signaler que ces infections qualifiées par Rook « de foule » ne sont en rien bénéfiques à la mise en place des fonctions immunitaires dans la petite enfance. La faible dose infectieuse observée pour plusieurs agents pathogènes émergents, tels que E. coli O157 et le norovirus, est une préoccupation supplémentaire qui souligne le rôle que peut jouer l'hygiène dans la prévention. (614, 615)

Auparavant nous avons signalé que l'utilisation d'antibiotiques n'était pas souhaitable dans les premiers mois de vie ou du moins qu'elle devait être limitée au maximum au vu de ses conséquences sur les flores microbiennes.

La résistance aux antibiotiques est un autre facteur allant dans ce sens et elle est une priorité mondiale (616). L'hygiène répond à ce problème en réduisant le besoin de prescrire des antibiotiques et en limitant la propagation «silencieuse» des souches résistantes aux antibiotiques dans la communauté et les hôpitaux. (617)

## **7) Futures thérapies et probiotiques**

Puisque le mode de naissance a un impact important, il est fort probable que des interventions ciblées auront des avantages largement bénéfiques et durables. Par exemple, l'inoculation de nourrissons nés de césariennes non urgentes avec les sécrétions vaginales de leur mère leur laisse un microbiote plus semblable aux nourrissons nés par voie vaginale que les nourrissons nés de césariennes sans avoir été inoculés. (618)

Au cours des dernières décennies, l'évitement des allergènes par des mesures d'éviction a été considéré comme une mesure prophylactique basique pour prévenir l'apparition de symptômes allergiques. Récemment, le concept de "tolérance immunitaire" a remplacé cette théorie ancienne et l'induction de la tolérance par exposition est la méthode appropriée pour la prévention des maladies atopiques, par le biais de probiotiques tels que les bifidobactéries, les helminthes et les mycobactéries saprophytes. (619, 620)

Il est évident que pour des raisons de santé publique, l'abandon des pratiques médicales et hygiéniques notamment en matière de protection personnelle ou collective (assainissement de l'eau par exemple) actuelles n'est pas souhaitable. En conséquence, des alternatives n'impliquant pas un risque infectieux, telles que les probiotiques, sont de plus en plus suggérées et étudiées pour fournir la stimulation microbienne nécessaire.

Nous avons vu précédemment que plusieurs types de microbes sont utiles au développement du système immunitaire d'un enfant. Ce sont notamment les théories de

l'hygiène, et des vieux amis qui permettent de comprendre quelles peuvent être les pistes à étudier pour élaborer des probiotiques. La littérature récente concentre son intérêt sur les propriétés immunologiques de micro-organismes relativement inoffensifs, notamment les lactobacilles et les bifidobactéries, les helminthes et les mycobactéries saprophytes susceptibles d'orienter les réponses immunitaires vers l'immuno-régulation en induisant des cellules Treg, plutôt que de provoquer une réponse immunitaire pro-inflammatoire. Pour cette raison, de nombreuses recherches ont été effectuées avec plus ou moins de réussite sur l'utilisation de probiotiques pour promouvoir l'immuno-régulation dans les maladies atopiques, telles que la dermatite atopique, l'eczéma et l'allergie alimentaire, ainsi que dans les maladies inflammatoires telles que les MICI, la polyarthrite rhumatoïde, l'eczéma et l'asthme. (172, 621, 622, 623, 624)

Les probiotiques sont des bactéries vivantes qui, lorsqu'elles sont administrées, sont parfois bénéfiques pour la santé de l'hôte, bien que les résultats soient à nuancer. Cependant, des recherches sur des modèles animaux utilisant des probiotiques ont montré leur capacité à atténuer les symptômes de la maladie atopique, de la rhinite allergique, des MICI et du DT1 (625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633). En revanche, les recherches effectuées à ce jour révèlent de nombreuses lacunes dans la thérapie probiotique, probablement en raison de phénotypes de maladie individualisés qui peuvent ou non être liés à l'espèce microbienne spécifique testée. (634, 635, 636)

### **7.1) Utilisation de prébiotiques**

Les prébiotiques sont des produits chimiques ou des composants alimentaires comme par exemple l'inuline, la pectine, les GOS/FOS (galacto-oligosaccharide et fructo-oligosaccharide) qui sont des oligosaccharides, et qui ne sont pas métabolisées par les enzymes de l'organisme, mais qui jouent un rôle important dans la croissance et la prolifération du microbiote intestinal (637). Ces molécules peuvent induire la production d'acides gras tels que les SCFA par les microbes intestinaux, dont il a été prouvé qu'ils favorisaient la différenciation des lymphocytes T FoxP3 + (638, 639). Il a été montré par exemple, qu'une supplémentation avec des prébiotiques pouvait réduire l'inflammation des voies respiratoires et diminuer les phénomènes d'inflammations allergiques. (96, 640, 641)

## **7.2) Traitements par probiotiques**

Dans une étude de Kalliomäki M et al, chez des enfants génétiquement à risque de maladie atopique avec des antécédents familiaux, un probiotique, Lactobacillus GG, a été inoculé aux femmes enceintes et aux enfants au cours des six premiers mois de leur vie. L'administration du probiotique Lactobacillus GG a diminué de manière conséquente la dermatite atopique et les symptômes cliniques jusqu'à quatre années après. (642, 643)

La microflore intestinale pourrait alors constituer une source d'immunomodulateurs et de probiotiques naturels. Kalliomäki suggère en plus que l'effet préventif de Lactobacillus sur l'eczéma atopique s'étend au-delà de la petite enfance.

Dans un essai effectué par Abrahamsson, l'administration de Lactobacillus reuteri à des femmes enceintes et à leurs nourrissons diminuait la sensibilisation atopique et l'eczéma à l'âge de 2 ans mais n'avait aucun effet sur les allergies respiratoires à l'âge de 7 ans. (634, 644). Dans une autre étude, un ensemble de plusieurs probiotiques a été administré à des femmes enceintes et à leurs enfants à haut risque d'allergie. Les probiotiques ont réduit la proportion d'enfants qui ont développé une maladie allergique associée aux IgE. (643)

Des modèles animaux et expériences sur l'homme dont celles citées ci-dessus appuient le concept d'utilisation de probiotiques en fin de grossesse et en bas âge pour modifier le risque de développer une maladie allergique ou un asthme dans les familles à haut risque. Cependant il est difficile encore de recommander une souche, un dosage ou une durée de traitement spécifiques.

## **7.3) Thérapies symbiotiques**

Les thérapies symbiotiques consistent en une combinaison prébiotiques et probiotiques. Kivit et ses collaborateurs ont utilisé un modèle murin d'allergie au lait de vache, et ont montré que les souris auxquelles a été administrée une combinaison symbiotique constituée d'oligosaccharides GOS et FOS (galacto-oligosaccharide et fructo-oligosaccharide) ainsi que Bifidobacterium breve, ont présenté une atténuation de la réaction cutanée aiguë et à une baisse de la dégranulation des mastocytes. Des résultats similaires ont été mesurés chez des humains nourris avec le mélange symbiotique, suggérant un mécanisme par lequel ce traitement pourrait protéger efficacement l'homme de la dermatite atopique (645). À l'inverse, un essai clinique utilisant un mélange similaire, Immunofortis®, n'a révélé aucune différence

de sévérité de la dermatite atopique entre le groupe ayant reçu le produit symbiotique et le groupe placebo. (646)Cependant, ce groupe de recherche a découvert par la suite chez des nourrissons atteints de dermatite que la supplémentation avec ce mélange pendant 12 semaines était corrélée à la diminution de la prévalence de l'utilisation de médicaments pour la respiration sifflante et l'asthme après un an (647). Les symbiotiques sont également des traitements potentiels pour les pathologies inflammatoires de l'intestin. Dans le cadre d'une étude impliquant 18 patients atteints de rectocolite hémorragique active, une thérapie symbiotique à court terme associant *Bifidobacterium longum* et de l'inuline-oligofructose a réduit de manière significative les biomarqueurs inflammatoires chroniques de la maladie, notamment les niveaux de TNF $\alpha$  et d'IL-1. (648)

#### **7.4) L'utilisation des helminthes**

À ce jour, les essais cliniques ont mis l'accent sur l'utilisation de l'infection par les helminthes vivants comme stratégie améliorante plutôt que préventive.

Nous avons vu dans la partie traitant de la vaccination, que ces helminthes avaient un fort potentiel de diminution de la réactivité au vaccin, en induisant un profil immunitaire de tolérance immunitaire. Chez les souris et les humains infectés par les helminthes à un âge précoce, la mise en place d'une réaction immunitaire était entravée par l'influence de ces helminthes qui induisait la différenciation de lymphocytes T en cellules Treg. (649, 650)

Des essais cliniques visant à déterminer l'action et l'efficacité d'infections à helminthes vivants ont été menés chez des patients atteints de maladie de Crohn, de rectocolite hémorragique et de sclérose en plaque. Fleming et al en 2019 ont montré une amélioration des symptômes, très variable cependant selon les patients. (651, 652)

L'administration d'ovules de *Trichuris suis* semblait réduire l'inflammation intestinale chez un petit nombre de patients atteints de ces pathologies, et l'administration de larves de *N. americanus* à des patients atteints de maladie de Crohn entraînait une amélioration. (653, 654, 655, 656)

Les helminthes vivants libèrent une série de produits immunomodulateurs qui ont des effets suppresseurs dans les modèles expérimentaux de maladie allergique et de colite expérimentale (657). Chez les souris utilisées comme modèles expérimental d'asthme provoqué par l'ovalbumine et un champignon allergène : *Alternaria alternata*, l'administration d'un nématode intestinal, *H. polygyrus*, était suffisant pour supprimer la prolifération des

éosinophiles au niveau pulmonaire et modifier l'histopathologie en réponse à une provocation par un antigène. McSorley et al ont en effet montré que cet helminthe inhibait fortement l'allergie médiée par la voie Th2, en inhibant la sécrétion d'IL-33, IL-4, IL-5 et IL-13, ainsi que des cellules lymphoïdes innées. En outre, l'administration de l'helminthe était capable d'inhiber la réponse allergique s'il était administré 6h avant l'allergène (658, 659). Il a également été démontré que les produits solubles provenant de différents helminthes réduisaient la sévérité de la maladie dans les modèles murins de rectocolite induite. (660, 661, 662, 663)

L'infection de souris par des helminthes vivants tels que *H.polygyrus* entraîne une perturbation marquée de la composition du microbiote intestinal, suggérant que les effets immunosuppresseurs consécutifs à une infection par helminthes pourraient être dus à une modulation indirecte du microbiote. (627, 664, 665)

### **7.5) L'importance constante de l'âge**

Le contexte immunitaire inhérent au début de la vie évoqué dans cette thèse, et les paramètres pouvant influencer sur lui tels que le régime alimentaire et l'exposition aux antibiotiques, suggèrent que l'utilisation d'helminthes, de pro-, pré et symbiotiques avant l'âge d'apparition de la maladie pourrait être utile pour prévenir son développement. Il est fort probable que les interventions survenant trop tard dans la vie ou après l'apparition de la maladie peuvent être inefficaces après la fermeture de la fenêtre d'opportunité, lors du développement d'un système immunitaire mature. Cette fenêtre de développement pourrait être déterminé par des modifications épigénétiques de facteurs spécifiques, régulés par des agents microbiens, tels que le gène CXCL16 décrit par Olszak et al (133). Comme vu précédemment, cela suppose que les traitements à base de microbes visant à protéger contre les maladies inflammatoires sont sensibles à l'âge. (605, 666)

En raison de la multiplicité des facteurs en cause, les stratégies de préservation ou de manipulation du microbiote qui est lui-même spécifique de chaque individu, nécessiteront probablement une approche personnalisée, adaptée aux facteurs génétiques et de style de vie de chacun. (667)

## CONCLUSION

Compte tenu du nombre de pathologies inflammatoires d'origine immunitaire rencontrées en pratique dans les pharmacies, il m'a paru important de faire une revue des diverses théories pouvant les expliquer. Ces pathologies sont causées par des facteurs génétiques et environnementaux, mais l'on sait aujourd'hui que les comportements individuels en début de vie peuvent avoir une influence considérable à l'âge adulte.

Cette thèse avait donc pour objectif d'identifier les causes possibles de développement de ces pathologies durant la petite enfance, par l'étude de l'exposition aux antigènes de l'environnement qui contribuent à façonner le système immunitaire d'un individu. Cette thèse constitue donc une revue des différentes hypothèses et nouvelles découvertes qui permettront à l'avenir de mieux appréhender la santé d'une population en fonction de son environnement et de ses pratiques individuelles et collectives. En pratique, elle permet d'identifier certains critères tels que le mode de naissance, pour connaître la susceptibilité d'un patient concernant l'allergie ou la pathologie auto-immune, de conseiller sur les pratiques d'hygiène pour les enfants, leur alimentation et, à l'avenir, conseiller des compléments alimentaires capables de mieux prendre en charge les pathologies des patients.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1- Janewaw, Murphy, Travers, Walport, Immunobiologie, 7<sup>e</sup> édition, de boeck, 2009.
- 2- Gord-Rüdiger Burmester, Antonio Pezzutto, Atlas de poche Immunologie, Flammarion, collection « Médecine-Sciences », 2000.
- 3- Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol.* 2013 Apr;21(4):167-73.
- 4- Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009 May;9(5):313-23.
- 5- A. Katharina Simon, Georg A. Hollander, and Andrew McMichael. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proc Biol Sci.* 2015 Dec 22; 282(1821)
- 6- Saleem Basha, Naveen Surendran, and Michael Pichichero. Immune Responses in Neonates. *Expert Rev Clin Immunol.* 2014 Sep; 10(9): 1171–1184.
- 7- Waaijenborg S, Hahné SJ, Mollema L, Smits GP, Berbers GA, van der Klis FR et al. Waning of maternal antibodies against measles, mumps, rubella, and varicella in communities with contrasting vaccination coverage. *J Infect Dis.* 2013 Jul;208(1):10-6.
- 8- Walker JM, Slifka MK. Longevity of T-cell memory following acute viral infection. *Adv Exp Med Biol.* 2010;684:96-107.
- 9- Zinkernagel RM. On immunological memory.. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2000 Mar 29;355(1395):369-71.
- 10- Förster-Waldl E, Sadeghi K, Tamandl D, Gerhold B, Hallwirth U, Rohrmeister K. Monocyte toll-like receptor 4 expression and LPS-induced cytokine production increase during gestational aging.. *Pediatr Res.* 2005 Jul;58(1):121-4.
- 11- Yan SR, Qing G, Byers DM, Stadnyk AW, Al-Hertani W, Bortolussi R. Role of MyD88 in diminished tumor necrosis factor alpha production by newborn mononuclear cells in response to lipopolysaccharide. *Infect Immun.* 2004 Mar;72(3):1223-9.
- 12- Sadeghi K, Berger A, Langgartner M, Prusa AR, Hayde M, Herkner K et al. Immaturity of infection control in preterm and term newborns is associated with impaired toll-like receptor signaling. *J Infect Dis.* 2007 Jan 15;195(2):296-302

- 13- Al-Hertani W, Yan SR, Byers DM, Bortolussi R. Human newborn polymorphonuclear neutrophils exhibit decreased levels of MyD88 and attenuated p38 phosphorylation in response to lipopolysaccharide. *Clin Invest Med.* 2007;30(2):E44-53.
- 14- Filias A, Theodorou GL, Mouzopoulou S, Varvarigou AA, Mantagos S, Karakantza M. Phagocytic ability of neutrophils and monocytes in neonates. *BMC Pediatr.* 2011 Apr 14;11:29.
- 15- Nussbaum C, Gloning A, Pruenster M, Frommhold D, Bierschenk S, Genzel-Boroviczény O et al. Neutrophil and endothelial adhesive function during human fetal ontogeny. *J Leukoc Biol.* 2013 Feb;93(2):175-84.
- 16- Willems F, Vollstedt S, Suter M. Phenotype and function of neonatal DC. *Eur J Immunol.* 2009 Jan;39(1):26-35.
- 17- De Wit D, Tonon S, Olislagers V, Goriely S, Boutriaux M, Goldman M, et al. Impaired responses to toll-like receptor 4 and toll-like receptor 3 ligands in human cord blood. *J Autoimmun.* 2003 Nov;21(3):277-81.
- 18- Schüller SS, Sadeghi K, Wisgrill L, Dangl A, Diesner SC, Prusa AR et al. Preterm neonates display altered plasmacytoid dendritic cell function and morphology. *J Leukoc Biol.* 2013 May;93(5):781-8.
- 19- Ivarsson MA, Loh L, Marquardt N, Kekäläinen E, Berglin L, Björkström NK, et al. Differentiation and functional regulation of human fetal NK cells. *J Clin Invest.* 2013 Sep;123(9):3889-901.
- 20- McGreal EP, Hearne K, Spiller OB. Off to a slow start: under-development of the complement system in term newborns is more substantial following premature birth. *Immunobiology.* 2012 Feb;217(2):176-86.
- 21- B.Weill (05/11/2018) Chapitre 11 : Immunité à médiation humorale [http://lvts.fr/Pages\\_html/Encyclopedies/Cours%20Immuno/chapitre11.htm](http://lvts.fr/Pages_html/Encyclopedies/Cours%20Immuno/chapitre11.htm)
- 22- Matthieu SIMON. (06/12/2018). Immunologie, Activation des lymphocytes. <https://www.cours-pharmacie.com/immunologie/activation-des-lymphocytes.html>
- 23- Mastelic B, Kamath AT, Fontannaz P, Tougne C, Rochat AF, Belnoue E et al. Environmental and T cell-intrinsic factors limit the expansion of neonatal follicular T helper cells but may be circumvented by specific adjuvants. *J Immunol.* 2012 Dec 15;189(12):5764-72.
- 24- Sanz E, Muñoz-A N, Monserrat J, Van-Den-Rym A, Escoll P, Ranz I, et al. Ordering human CD34+CD10-CD19+ pre/pro-B-cell and CD19- common lymphoid progenitor stages in two pro-B-cell development pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Mar 30;107(13):5925-30.
- 25- Griffin DO, Rothstein TL. A small CD11b(+) human B1 cell subpopulation stimulates T cells and is expanded in lupus. *J Exp Med.* 2011 Dec 19;208(13):2591-8.

- 26- Hannel I, Erkeller-Yuksel F, Lydyard P, Deneys V, DeBruyère M. Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. *Immunol Today*. 1992 Jun;13(6):215, 218.
- 27- Mold JE, Venkatasubrahmanyam S, Burt TD, Michaëlsson J, Rivera JM, Galkina SA, et al. Fetal and adult hematopoietic stem cells give rise to distinct T cell lineages in humans. *Science*. 2010 Dec 17;330(6011):1695-9.
- 28- Takahata Y, Nomura A, Takada H, Ohga S, Furuno K, Hikino S, et al. CD25+CD4+ T cells in human cord blood: an immunoregulatory subset with naive phenotype and specific expression of forkhead box p3 (Foxp3) gene. *Exp Hematol*. 2004 Jul;32(7):622-9.
- 29- Burlingham WJ, Grailer AP, Heisey DM, Claas FH, Norman D, Mohanakumar T, et al. The effect of tolerance to noninherited maternal HLA antigens on the survival of renal transplants from sibling donors. *N Engl J Med*. 1998 Dec 3;339(23):1657-64.
- 30- Mackroth MS, Malhotra I, Mungai P, Koech D, Muchiri E, King CL. Human cord blood CD4+CD25hi regulatory T cells suppress prenatally acquired T cell responses to *Plasmodium falciparum* antigens. *J Immunol*. 2011 Mar 1;186(5):2780-91.
- 31- Kaur K, Chowdhury S, Greenspan NS, Schreiber JR. Decreased expression of tumor necrosis factor family receptors involved in humoral immune responses in preterm neonates. *Blood*. 2007 Oct 15;110(8):2948-54.
- 32- Klein Klouwenberg P, Bont L. Neonatal and infantile immune responses to encapsulated bacteria and conjugate vaccines. *Clin Dev Immunol*. 2008;2008:628963.
- 33- Haase C1, Yu L, Eisenbarth G, Markholst H. Antigen-dependent immunotherapy of non-obese diabetic mice with immature dendritic cells. *Clin Exp Immunol*. 2010 Jun;160(3):331-9.
- 34- Gatto D, Pfister T, Jegerlehner A, Martin SW, Kopf M, Bachmann MF. Complement receptors regulate differentiation of bone marrow plasma cell precursors expressing transcription factors Blimp-1 and XBP-1. *J Exp Med*. 2005 Mar 21;201(6):993-1005.
- 35- Ridings J, Dinan L, Williams R, Robertson D, Zola H. Somatic mutation of immunoglobulin V(H)6 genes in human infants. *Clin Exp Immunol*. 1998 Oct;114(1):33-9.
- 36- Pihlgren M, Friedli M, Tougne C, Rochat AF, Lambert PH, Siegrist CA. Reduced ability of neonatal and early-life bone marrow stromal cells to support plasmablast survival. *J Immunol*. 2006 Jan 1;176(1):165-72.
- 37- Sproul TW, Malapati S, Kim J, Pierce SK. Cutting edge: B cell antigen receptor signaling occurs outside lipid rafts in immature B cells. *J Immunol*. 2000 Dec 1;165(11):6020-3.
- 38- Hashimoto A, Takeda K, Inaba M, Sekimata M, Kaisho T, Ikehara S, et al. Cutting edge: essential role of phospholipase C-gamma 2 in B cell development and function. *J Immunol*. 2000 Aug 15;165(4):1738-42.

- 39- Goudeau B, Huetz F, Samson S, Di Santo JP, Cumano A, Beg A, Israël A, Mémet S. I $\kappa$ B $\alpha$ /I $\kappa$ B $\epsilon$  deficiency reveals that a critical NF- $\kappa$ B dosage is required for lymphocyte survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Dec 23;100(26):15800-5.
- 40- Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K. Formation of B-1 B cells from neonatal B-1 transitional cells exhibits NF- $\kappa$ B redundancy. *J Immunol*. 2011 Dec 1;187(11):5712-9.
- 41- Hayward AC, Frigaszy EB, Bermingham A, Wang L, Copas A, Edmunds WJ, et al; Flu Watch Group. Comparative community burden and severity of seasonal and pandemic influenza: results of the Flu Watch cohort study. *Lancet Respir Med*. 2014 Jun;2(6):445-54.
- 42- Hinton PR, Xiong JM, Johlfs MG, Tang MT, Keller S, Tsurushita N. An engineered human IgG1 antibody with longer serum half-life. *J Immunol*. 2006 Jan 1;176(1):346-56.
- 43- Tew JG, Phipps RP, Mandel TE. The maintenance and regulation of the humoral immune response: persisting antigen and the role of follicular antigen-binding dendritic cells as accessory cells. *Immunol Rev*. 1980;53:175-201.
- 44- Patricia Palmeira, Camila Quinello, Ana Lúcia Silveira-Lessa, Cláudia Augusta Zago, and Magda Carneiro-Sampaio. IgG Placental Transfer in Healthy and Pathological Pregnancies. *Clin Dev Immunol*. 2012; 2012: 985646.
- 45- Christopher R. Wilcox, Beth Holder, and Christine E. Jones. Factors Affecting the FcRn-Mediated Transplacental Transfer of Antibodies and Implications for Vaccination in Pregnancy  
*Front Immunol*. 2017; 8: 1294.
- 46- Stapleton NM, Einarsdóttir HK, Stemerding AM, Vidarsson G. The multiple facets of FcRn in immunity. *Immunol Rev*. 2015 Nov;268(1):253-68.
- 47- Firan M, Bawdon R, Radu C, Ober RJ, Eaken D, Antohe F, Ghetie V, Ward ES. The MHC class I-related receptor, FcRn, plays an essential role in the maternofetal transfer of gamma-globulin in humans. *Int Immunol*. 2001 Aug;13(8):993-1002.
- 48- Martins JP, Kennedy PJ, Santos HA, Barrias C Sarmiento B. A comprehensive review of the neonatal Fc receptor and its application in drug delivery. *Pharmacol Ther*. 2016 May;161:22-39.
- 49- Martin WL, West AP Jr, Gan L, Bjorkman PJ. Crystal structure at 2.8 Å of an FcRn/heterodimeric Fc complex: mechanism of pH-dependent binding. *Mol Cell*. 2001 Apr;7(4):867-77.
- 50- Raghavan M, Bonagura VR, Morrison SL, Bjorkman PJ. Analysis of the pH dependence of the neonatal Fc receptor/immunoglobulin G interaction using antibody and receptor variants. *Biochemistry*. 1995 Nov 14;34(45):14649-57.
- 51- Charlotte Magdelaine-Beuzelin, Marc Ohresser, Hervé Watier. FcRn, un récepteur d'IgG aux multiples facettes. *MEDECINE/SCIENCES* 2009 ; 25 : 1053-6

- 52- Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Koyama M. Dynamics of immunoglobulins at the fetomaternal interface. *Rev Reprod.* 1999 May;4(2):81-9.
- 53- Malek A, Sager R, Kuhn P, Nicolaidis KH, Schneider H. Evolution of maternofetal transport of immunoglobulins during human pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 1996 Nov;36(5):248-55.
- 54- Palmeira P, Yu Ito L, Arslanian C, Carneiro-Sampaio MM. Passive immunity acquisition of maternal anti-enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157:H7 IgG antibodies by the newborn.. *Eur J Pediatr.* 2007 May;166(5):413-9. Epub 2006 Oct 21.
- 55- Elefant E. [Placental immunoglobulin transfer]. *Bull Acad Natl Med.* 2012 Nov;196(8):1601-12.
- 56- Doroudchi M, Samsami Dehaghani A, Emad K, Ghaderi A. Placental transfer of rubella-specific IgG in fullterm and preterm newborns. *Int J Gynaecol Obstet.* 2003 May;81(2):157-62.
- 57- van den Berg JP, Westerbeek EA, Berbers GA, van Gageldonk PG, van der Klis FR, van Elburg RM. Transplacental transport of IgG antibodies specific for pertussis, diphtheria, tetanus, haemophilus influenzae type b, and *Neisseria meningitidis* serogroup C is lower in preterm compared with term infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2010 Sep;29(9):801-5.
- 58- Silveira Lessa AL1, Krebs VL, Brasil TB, Pontes GN, Carneiro-Sampaio M, Palmeira P. Preterm and term neonates transplacentally acquire IgG antibodies specific to LPS from *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2011 Jul;62(2):236-43.
- 59- K. Zaman, M.B., B.S., Ph.D., Eliza Roy, M.B., B.S., D.C.H., Shams E. Arifeen, M.B., B.S., Dr.P.H., Mahbubur Rahman, M.B., B.S., Ph.D., Rubhana Raqib, et al. Effectiveness of Maternal Influenza Immunization in Mothers and Infants. *N Engl J Med* 2008; 359:1555-1564
- 60- Steinhoff MC, Omer SB, Roy E, Arifeen SE, Raqib R, Altaye M, Breiman RF. Influenza immunization in pregnancy--antibody responses in mothers and infants. *N Engl J Med.* 2010 Apr 29;362(17):1644-6.
- 61- - Benowitz I, Esposito D.B., Gracey K.D. et al. Influenza vaccine given to pregnant women reduces hospitalization due to influenza in their infants. *Clin. Infect. Dis.*, 2010, 51, 1355-61.
- 62- Eick AA, Uyeki TM, Klimov A, Hall H, Reid R, Santosham M, O'Brien KL. Maternal influenza vaccination and effect on influenza virus infection in young infants. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2011 Feb;165(2):104-11.
- 63- - Ministère des affaires sociales et de la santé — Vaccination contre la grippe — saison 2012-2013 : Questions / Réponses — Professionnels de santé. (24/03/2019) Disponible sur : <http://www.sante.gouv.fr/vaccination-contre-la-grippe-saison-2012-2013-questionsreponses-professionnels-de-sante.html>.

- 64- Olivia Ballard and Ardythe L. Morrow. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatr Clin North Am.* 2013 Feb; 60(1): 49–74.
- 65- Castellote C, Casillas R, Ramírez-Santana C, Pérez-Cano FJ, Castell M, Moretones MG, et al. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. *J Nutr.* 2011 Jun;141(6):1181-7.
- 66- Kulski JK, Hartmann PE. Changes in human milk composition during the initiation of lactation. *Aust J Exp Biol Med Sci.* 1981 Feb;59(1):101-14.
- 67- Hanson L, Silfverdal SA, Strömbäck L, Erling V, Zaman S, Olcén P, Telemo E. The immunological role of breast feeding. *Pediatr Allergy Immunol.* 2001;12 Suppl 14:15-9.
- 68- Garofalo R. Cytokines in human milk. *J Pediatr.* 2010 Feb;156(2 Suppl):S36-40.
- 69- Brandtzaeg P. The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *J Pediatr.* 2010 Feb;156(2 Suppl):S8-15.
- 70- Kadaoui KA, Corthésy B.J *Immunol.* Secretory IgA mediates bacterial translocation to dendritic cells in mouse Peyer's patches with restriction to mucosal compartment. 2007 Dec 1;179(11):7751-7.
- 71- Lilius EM, Marnila P. The role of colostral antibodies in prevention of microbial infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2001 Jun;14(3):295-300.
- 72- Glass RI, Svennerholm AM, Stoll BJ, Khan MR, Hossain KM, Huq M, Holmgren J. Protection against cholera in breast-fed children by antibodies in breast milk. *N Engl J Med.* 1983 Jun 9;308(23):1389-92.
- 73- Ruiz-Palacios GM, Calva JJ, Pickering LK, Lopez-Vidal Y, Volkow P, Pezzarossi H, West MS. Protection of breast-fed infants against *Campylobacter* diarrhea by antibodies in human milk. *J Pediatr.* 1990 May;116(5):707-13.
- 74- Walter L. Hurley, Peter K. Theil. Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk Nutrients. 2011 Apr; 3(4): 442–474.
- 75- Comité de nutrition de la Société française de pédiatrie ; D. Turcka, (coordonnateur), M. Vidailhetb, A. Bocquetc , J.-L. Bressond, A. Briende, J.-P. Chouraouif , D. Darmaung, C. Dupontd (secrétaire), M.-L. Freluth, J.-P. Girardeth, O. Gouletd, R. Hankardi, D. Rieuj , U. Simeonik Allaitement maternel : les bénéfices pour la santé de l'enfant et de sa mère. *Archives de Pédiatrie* 2013;20:S29-S48. <http://www.sfpediatrie.com/sites/default/files/recommandations/cnsfp-benefices-sante-allaitement-maternel-2013.pdf>
- 76- Fondation Canadienne de l'Allaitement. (18/10/2018) Comment le lait maternel protège les nouveaux-nés. [en ligne]. [http://www.canadianbreastfeedingfoundation.org/fr/articles/protege\\_nouveau\\_nes.shtml](http://www.canadianbreastfeedingfoundation.org/fr/articles/protege_nouveau_nes.shtml)

- 77- Rooks MG, Garrett WS. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol*. 2016 May 27;16(6):341-52.
- 78- Gensollen T, Iyer SS, Kasper DI, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*. 2016 Apr 29;352(6285):539-44.
- 79- Honda K, Littman DR. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature*. 2016 Jul 7;535(7610):75-84. .
- 80- Christian Milani, Sabrina Duranti, Francesca Bottacini, Eoghan Casey, Francesca Turroni, Jennifer Mahony, 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 Dec; 81(4): e00036-17.
- 81- Ofer Levy. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nature Reviews Immunology* volume 7, pages 379–390 (2007)
- 82- Noel T. Mueller, Elizabeth Bakacs, Joan Combellick, Zoya Grigoryan, and Maria G. Dominguez-Bello. The infant microbiome development: mom matters. *Trends Mol Med*. 2015 Feb; 21(2): 109–117.
- 83- Jiménez E, Fernández L, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Nuño-Palop C, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol*. 2005 Oct;51(4):270-4.
- 84- Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014 May 21;6(237):237ra65.
- 85- Tatsuo Ichinohe, Takahiko Miyama, Takakazu Kawase, Yasuko Honjo, Kazutaka Kitaura, Hiroyuki Sato, et al. Generation Immune Repertoire Sequencing as a Clue to Elucidate the Landscape of Immune Modulation by Host–Gut Microbiome Interactions. *Front Immunol*. 2018; 9: 668.
- 86- Faith JJ, Rey FE, O'Donnell D, Karlsson M, McNulty NP, Kallstrom G, et al. Creating and characterizing communities of human gut microbes in gnotobiotic mice. *ISME J*. 2010 Sep;4(9):1094-8.
- 87- Deplancke B, Gaskins HR. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *Am J Clin Nutr*. 2001 Jun;73(6):1131S-1141S.
- 88- Smith K, McCoy KD, Macpherson AJ. Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota. *Semin Immunol*. 2007 Apr;19(2):59-69.
- 89- Pabst O. New concepts in the generation and functions of IgA. *Nat Rev Immunol*. 2012 Dec;12(12):821-32.

- 90- Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*. 2005 Jul 15;122(1):107-18.
- 91- Ivanov II, Frutos Rde L, Manel N, Yoshinaga K, Rifkin DB, Sartor RB, et al. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe*. 2008 Oct 16;4(4):337-49.
- 92- Strauch UG, Obermeier F, Grunwald N, Gürster S, Dunger N, Schultz M, et al. Influence of intestinal bacteria on induction of regulatory T cells: lessons from a transfer model of colitis. *Gut*. 2005 Nov;54(11):1546-52.
- 93- Thomas Gensollen, Shankar S. Iyer, Dennis L. Kasper, and Richard S. Blumberg. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*. 2016 Apr 29; 352(6285): 539–544.
- 94- Michelle G. Rooks and Wendy S. Garrett. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol*. 2016 May 27; 16(6): 341–352.
- 95- Smith PM, Howitt MR, Panikov N, Michaud M, Gallini CA, Bohlooly-Y M, et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science*. 2013 Aug 2;341(6145):569-73.
- 96- Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, Sichelstiel AK, Sprenger N, Ngom-Bru C, et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med*. 2014 Feb;20(2):159-66.
- 97- Thorburn AN, McKenzie CI, Shen S, Stanley D, Macia L, Mason LJ, et al. Evidence that asthma is a developmental origin disease influenced by maternal diet and bacterial metabolites. *Nat Commun*. 2015 Jun 23;6:7320.
- 98- Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. 2013 Dec 19;504(7480):446-50.
- 99- Avershina E, Lundgård K, Sekelja M, Dotterud C, Storrø O, Øien T, et al. Transition from infant- to adult-like gut microbiota. *Environ Microbiol*. 2016 Jul;18(7):2226-36.
- 100- Dominguez-Bello MG, Costello EK, 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. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jun 29;107(26):11971-5.
- 101- Del Chierico F, Vernocchi P, Petrucca A, Paci P, Fuentes S, Praticò G, et al. Phylogenetic and Metabolic Tracking of Gut Microbiota during Perinatal Development. *PLoS One*. 2015 Sep 2;10(9):e0137347.
- 102- INSERM :Rémy Burcelin et al. (22/11/2018) Microbiote intestinale (flore intestinale).  
<https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinale-flore-intestinale>

- 103- Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012 May 9;486(7402):222-7.
- 104- Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014 Mar 27;157(1):121-41.
- 105- Belkaid Y, Segre JA. Dialogue between skin microbiota and immunity. *Science*. 2014 Nov 21;346(6212):954-9.
- 106- Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*. 2012 Jun 8;336(6086):1268-73.
- 107- Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*. 2012 Sep 13;489(7415):242-9.
- 108- Maloy KJ, Powrie F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011 Jun 15;474(7351):298-306.
- 109- Pasparakis M, Haase I, Nestle FO. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2014 May;14(5):289-301.
- 110- Grice EA, Kong HH, Renaud G, Young AC; NISC Comparative Sequencing Program, Bouffard GG, et al. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Res*. 2008 Jul;18(7):1043-50.
- 111- Tiffany C. Scharschmidt, Kimberly S. Vasquez, Hong-An Truong, Sofia V. Gearty, Mariela L. Pauli, Audrey Nosbaum, et al. A wave of regulatory T cells into neonatal skin mediates tolerance to commensal microbes. *Immunity*. 2015 Nov 17; 43(5): 1011–1021.
- 112- Chen YE, Fischbach MA, Belkaid Y. Skin microbiota-host interactions. *Nature*. 2018 Jan 24;553(7689):427-436.
- 113- Tiffany C. Scharschmidt. Establishing tolerance to commensal skin bacteria: timing is everything. *Dermatol Clin*. 2017 Jan; 35(1): 1–9.
- 114- Scharschmidt TC1, Vasquez KS, Truong HA, Gearty SV, Pauli ML, Nosbaum A, et al. *Immunity*. 2015 Nov 17;43(5):1011-21.
- 115- Tollin M, Bergsson G, Kai-Larsen Y, Lengqvist J, Sjövall J, Griffiths W, et al. Vernix caseosa as a multi-component defence system based on polypeptides, lipids and their interactions. *Cell Mol Life Sci*. 2005 Oct;62(19-20):2390-9.
- 116- Zasloff, M. Vernix, the newborn, and innate defense. *Pediatr. Res*. 53, 203–204 (2003).
- 117- Marchini G, Nelson A, Edner J, Lonne-Rahm S, Stavréus-Evers A, Hultenby K. *Pediatr Res*. Erythema toxicum neonatorum is an innate immune response to commensal microbes penetrated into the skin of the newborn infant. 2005 Sep;58(3):613-6.

- 118- Yang S, Fujikado N, Kolodin D, Benoist C3, Mathis D. Immune tolerance. Regulatory T cells generated early in life play a distinct role in maintaining self-tolerance. *Science*. 2015 May 1;348(6234):589-94.
- 119- Rotimi VO, Duerden BI. The development of the bacterial flora in normal neonates. *J Med Microbiol*. 1981 Feb;14(1):51-62.
- 120- Lathrop SK, Bloom SM, Rao SM, Nutsch K, Lio CW, Santacruz N, et al. Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature*. 2011 Sep 21;478(7368):250-4.
- 121- Cebula A, Seweryn M, Rempala GA, Pabla SS, McIndoe RA, Denning TL, et al. Thymus-derived regulatory T cells contribute to tolerance to commensal microbiota. *Nature*. 2013 May 9;497(7448):258-62.
- 122- Hill CJ, Lynch DB, Murphy K, Ulaszewska M, Jeffery IB, O'Shea CA, et al. Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort. *Microbiome*. 2017 Jan 17;5(1):4.
- 123- Palmer C1, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*. 2007 Jul;5(7):e177.
- 124- Pantoja-Feliciano IG, Clemente JC, Costello EK, Perez ME, Blaser MJ, Knight R, Dominguez-Bello MG. Biphase assembly of the murine intestinal microbiota during early development. *ISME J*. 2013 Jun;7(6):1112-5.
- 125- Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2004 Jun;4(6):478-85.
- 126- Hansen CH, Nielsen DS, Kverka M, Zakostelska Z, Klimesova K, Hudcovic T, et al. Patterns of early gut colonization shape future immune responses of the host. *PLoS One*. 2012;7(3):e34043.
- 127- Madhusudan Grover and Purna C Kashyap. Germ free mice as a model to study effect of gut microbiota on host physiology. *Neurogastroenterol Motil*. 2014 Jun; 26(6): 745–748.
- 128- BAUER H, HOROWITZ RE, LEVENSON SM, POPPER H. The response of the lymphatic tissue to the microbial flora. Studies on germfree mice. *Am J Pathol*. 1963 Apr;42:471-83.
- 129- Mosconi I, Geuking MB, Zaiss MM, Massacand JC, Aschwanden C, Kwong Chung CK, McCoy KD, Harris NL. Intestinal bacteria induce TSLP to promote mutualistic T-cell responses. *Mucosal Immunol*. 2013 Nov;6(6):1157-67.
- 130- Nelly Amenyogbe, Tobias R. Kollmann, and Rym Ben-Othman. Early-Life Host–Microbiome Interphase: The Key Frontier for Immune Development. *Front Pediatr*. 2017; 5: 111.

- 131- Tamburini S, Shen N, Wu HC, Clemente JC. The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat Med*. 2016 Jul 7;22(7):713-22.
- 132- Arrieta MC, Stiemsma LT, Dimitriu PA, Thorson L, Russell S, et al. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci Transl Med*. 2015 Sep 30;7(307):307ra152.
- 133- Olszak T, An D, Zeissig S, Vera MP, Richter J, Franke A, et al. *Science*. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. 2012 Apr 27;336(6080):489-93.
- 134- Torsten Olszak, Dingding An, Sebastian Zeissig, Miguel Pinilla Vera, Julia Richter, Andre Franke, Jonathan N, et al. Microbial Exposure During Early Life Has Persistent Effects on Natural Killer T Cell Function. *Science*. 2012 Apr 27; 336(6080): 489–493.
- 135- Josefowicz SZ, Rudensky A. Control of regulatory T cell lineage commitment and maintenance. *Immunity*. 2009 May;30(5):616-25.
- 136- Lathrop SK, Santacruz NA, Pham D, Luo J, Hsieh CS. Antigen-specific peripheral shaping of the natural regulatory T cell population. *J Exp Med*. 2008 Dec 22;205(13):3105-17.
- 137- Thornton AM, Korty PE, Tran DQ, Wohlfert EA, Murray PE, Belkaid Y, Shevach EM. Expression of Helios, an Ikaros transcription factor family member, differentiates thymic-derived from peripherally induced Foxp3<sup>+</sup> T regulatory cells. *J Immunol*. 2010 Apr 1;184(7):3433-41.
- 138- Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*. 2011 Jan 21;331(6015):337-41.
- 139- Stephanie K. Lathrop, Seth M. Bloom, Sindhuja M. Rao, Katherine Nutsch, Chan-Wang Lio, Nicole Santacruz, et al. Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature*. 2011 Oct 13; 478(7368): 250–254.
- 140- Curotto de Lafaille MA, Kutchukhidze N, Shen S, Ding Y, Yee H, Lafaille JJ. Adaptive Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cell-dependent and -independent control of allergic inflammation. *Immunity*. 2008 Jul 18;29(1):114-26.
- 141- Sun CM, Hall JA, Blank RB, Bouladoux N, Oukka M, Mora JR, Belkaid Y. Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3<sup>+</sup> T reg cells via retinoic acid. *J Exp Med*. 2007 Aug 6;204(8):1775-85.
- 142- Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3<sup>+</sup> regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jul 6;107(27):12204-9.
- 143- van de Pavert SA, Mebius RE. New insights into the development of lymphoid tissues. *Nat Rev Immunol*. 2010 Sep;10(9):664-74.

- 144- Craig L. Maynard, Charles O. Elson, Robin D. Hatton, and Casey T. Weaver. Reciprocal Interactions of the Intestinal Microbiota and Immune System. *Nature*. 2012 Sep 13; 489(7415): 231–241.
- 145- Eberl G, Lochner M. The development of intestinal lymphoid tissues at the interface of self and microbiota. *Mucosal Immunol*. 2009 Nov;2(6):478-85.
- 146- Sutton BJ, Gould HJ. The human IgE network. *Nature*. 1993 Dec 2;366(6454):421-8.
- 147- Qing Zhao Charles O. Elson. Adaptive immune education by gut microbiota antigens. *Immunology* Volume 154, Issue 1.
- 148- Julia Cahenzli, Yasmin Köller, Madeleine Wyss, Markus B. Geuking, and Kathy D. McCoy. Intestinal Microbial Diversity during Early-Life Colonization Shapes Long-Term IgE Levels. *Cell Host Microbe*. 2013 Nov 13; 14(5): 559–570.
- 149- Julia Cahenzli, Yasmin Köller, Madeleine Wyss, Markus B. Geuking, and Kathy D. McCoy. Intestinal Microbial Diversity during Early-Life Colonization Shapes Long-Term IgE Levels. *Cell Host Microbe*. 2013 Nov 13; 14(5): 559–570.
- 150- Herbst T, Sichelstiel A, Schär C, Yadava K, Bürki K, Cahenzli J, McCoy K, Marsland BJ, Harris NL. Dysregulation of allergic airway inflammation in the absence of microbial colonization. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Jul 15;184(2):198-205.
- 151- McCoy KD, Harris NL, Diener P, Hatak S, Odermatt B, Hangartner L, et al. Natural IgE production in the absence of MHC Class II cognate help. *Immunity*. 2006 Mar;24(3):329-39.
- 152- Holt PG. Programming for responsiveness to environmental antigens that trigger allergic respiratory disease in adulthood is initiated during the perinatal period. *Environ Health Perspect*. 1998 Jun;106 Suppl 3:795-800.
- 153- Macpherson AJ, Gatto D, Sainsbury E, Harriman GR, Hangartner H, Zinkernagel RM. A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science*. 2000 Jun 23;288(5474):2222-6.
- 154- Macpherson AJ, Uhr T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science*. 2004 Mar 12;303(5664):1662-5.
- 155- Moor K, Diard M, Sellin ME, Felmy B, Wotzka SY, Toska A. High-avidity IgA protects the intestine by enchainning growing bacteria. *Nature*. 2017 Apr 27;544(7651):498-502.
- 156- Johnson S, Sypura WD, Gerding DN, Ewing SL, Janoff EN. Selective neutralization of a bacterial enterotoxin by serum immunoglobulin A in response to mucosal disease. *Infect Immun*. 1995 Aug;63(8):3166-73.
- 157- Peterson DA1, McNulty NP, Guruge JL, Gordon JI. IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. *Cell Host Microbe*. 2007 Nov 15;2(5):328-39.

- 158- Lindner C, Wahl B, Fohse L, Suerbaum S, Macpherson AJ, Prinz I et al. Age, microbiota, and T cells shape diverse individual IgA repertoires in the intestine. *J Exp Med* 2012; 209:365–77.
- 159- Hapfelmeier S, Lawson MA, Slack E, Kirundi JK, Stoel M, Heikenwalder M. Reversible microbial colonization of germ-free mice reveals the dynamics of IgA immune responses. *Science*. 2010 Jun 25;328(5986):1705-9.
- 160- Lindner C, Thomsen I, Wahl B, Ugur M, Sethi MK, Friedrichsen M et al. Diversification of memory B cells drives the continuous adaptation of secretory antibodies to gut microbiota. *Nat Immunol* 2015; 16:880–8.
- 161- Calderón-Gómez E, Bassolas-Molina H, Mora-Buch R, Dotti I, Planell N, Esteller M. Commensal-Specific CD4(+) Cells From Patients With Crohn's Disease Have a T-Helper 17 Inflammatory Profile. *Gastroenterology*. 2016 Sep;151(3):489-500.e3.
- 162- Pirzer U, Schonhaar A, Fleischer B, Hermann E, Meyer zum Buschenfelde KH. Reactivity of infiltrating T lymphocytes with microbial antigens in Crohn's disease. *Lancet* 1991; 338:1238–9.
- 163- Hegazy AN, West NR, Stubbington MJT, Wendt E, Suijker KIM, Datsi A. Circulating and Tissue-Resident CD4+ T Cells With Reactivity to Intestinal Microbiota Are Abundant in Healthy Individuals and Function Is Altered During Inflammation. *Gastroenterology*. 2017 Nov;153(5):1320-1337.e16.
- 164- Pianta A, Arvikar S, Strle K, Drouin EE, Wang Q, Costello CE et al. Evidence of the immune relevance of *Prevotella copri*, a gut microbe, in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2017; 69:964–75.
- 165- Pianta A, Arvikar S, Strle K, Drouin EE, Wang Q, Costello CE et al. Evidence of the immune relevance of *Prevotella copri*, a gut microbe, in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2017; 69:964–75.
- 166- Tulic MK, Fiset PO, Manoukian JJ, Frenkiel S, Lavigne F, Eidelman DH, Hamid Q. Role of toll-like receptor 4 in protection by bacterial lipopolysaccharide in the nasal mucosa of atopic children but not adults. *Lancet*. 2004 May 22;363(9422):1689-97.
- 167- Alenius H, Pakarinen J, Saris O, Andersson MA, Leino M, Sirola K, et al. Contrasting immunological effects of two disparate dusts - preliminary observations. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009;149(1):81-90.
- 168- Butchart SH, Walpole M, Collen B, van Strien A, Scharlemann JP, Almond RE. Global biodiversity: indicators of recent declines. *Science*. 2010 May 28;328(5982):1164-8.
- 169- Leena von Hertzen, Ilkka Hanski, and Tari Haahtela. Biodiversity loss and inflammatory diseases are two global megatrends that might be related. *EMBO Rep*. 2011 Nov; 12(11): 1089–1093.
- 170- Thomas A.E. Platts-Mills. The Allergy Epidemics: 1870–2010. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Jul; 136(1): 3–13.

- 171- Platts-Mills TA. The allergy epidemics: 1870-2010. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Jul;136(1):3-13.
- 172- Leah T Stiemsma, Lisa A Reynolds, Stuart E Turvey, and B Brett. The hygiene hypothesis: current perspectives and future therapies. *Finlay Immunotargets Ther*. 2015; 4: 143–157.
- 173- Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clin Exp Immunol*. 2010 Apr;160(1):1-9.
- 174- [No authors listed] ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema. *Lancet*. 1998 Apr 25;351(9111):1225-32.
- 175- Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*. 1989 Nov 18;299(6710):1259-60.
- 176- Strachan DP, Taylor EM, Carpenter RG. Family structure, neonatal infection, and hay fever in adolescence. *Arch Dis Child*. 1996 May;74(5):422-6.
- 177- Ownby DR, Johnson CC, Peterson EL. Exposure to dogs and cats in the first year of life and risk of allergic sensitization at 6 to 7 years of age. *JAMA*. 2002 Aug 28;288(8):963-72.
- 178- Benn CS, Melbye M, Wohlfahrt J, Björkstén B, Aaby P. Cohort study of sibling effect, infectious diseases, and risk of atopic dermatitis during first 18 months of life. *BMJ*. 2004 May 22;328(7450):1223.
- 179- Matricardi PM, Rosmini F, Riondino S, Fortini M, Ferrigno L, Rapicetta M, Bonini S. Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study. *BMJ*. 2000 Feb 12;320(7232):412-7.
- 180- Graham A. W. Rook, Christopher A. Lowry, and Charles L. Microbial 'Old Friends', immunoregulation and stress resilience. *Raison Evol Med Public Health*. 2013; 2013(1): 46–64.
- 181- Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol*. 1986 Apr 1;136(7):2348-57.
- 182- Bosnjak B, Stelzmueller B, Erb KJ, Epstein MM. Treatment of allergic asthma: modulation of Th2 cells and their responses. *Respir Res*. 2011 Aug 25;12:114.
- 183- Oriss TB, McCarthy SA, Morel BF, Campana MA, Morel PA. Crossregulation between T helper cell (Th)1 and Th2: inhibition of Th2 proliferation by IFN-gamma involves interference with IL-1. *J Immunol*. 1997 Apr 15;158(8):3666-72.

- 184- Huang L, Krieg AM, Eller N, Scott DE. Induction and regulation of Th1-inducing cytokines by bacterial DNA, lipopolysaccharide, and heat-inactivated bacteria. *Infect Immun*. 1999 Dec;67(12):6257-63.
- 185- Graham A W Rook. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: The broader implications of the hygiene hypothesis. *Immunology*. 2009 Jan; 126(1): 3–11.
- 186- Maizels RM, McSorley HJ, Smyth DJ. Helminths in the hygiene hypothesis: sooner or later? *Clin Exp Immunol*. 2014 Jul;177(1):38-46.
- 187- Rook GA, Brunet LR. Microbes, immunoregulation, and the gut. *Gut*. 2005 Mar;54(3):317-20.
- 188- Krug N, Madden J, Redington AE, Lackie P, Djukanovic R, Schauer U, et al. T-cell cytokine profile evaluated at the single cell level in BAL and blood in allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1996 Apr;14(4):319-26.
- 189- Klunker S, Trautmann A, Akdis M, Verhagen J, Schmid-Grendelmeier P, Blaser K, Akdis CA. A second step of chemotaxis after transendothelial migration: keratinocytes undergoing apoptosis release IFN-gamma-inducible protein 10, monokine induced by IFN-gamma, and IFN-gamma-inducible alpha-chemoattractant for T cell chemotaxis toward epidermis in atopic dermatitis. *J Immunol*. 2003 Jul 15;171(2):1078-84.
- 190- Lammas DA, Casanova JL, Kumararatne DS. Clinical consequences of defects in the IL-12-dependent interferon-gamma (IFN-gamma) pathway. *Clin Exp Immunol*. 2000 Sep;121(3):417-25.
- 191- Hansen G1, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT. Allergen-specific Th1 cells fail to counterbalance Th2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation. Hansen G1, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT. *J Clin Invest*. 1999 Jan;103(2):175-83.
- 192- Yazdanbakhsh M, Kreamsner PG, van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science*. 2002 Apr 19;296(5567):490-4.
- 193- Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med*. 2002 Sep 19;347(12):911-20.
- 194- Stene LC, Nafstad P. Relation between occurrence of type 1 diabetes and asthma. *Lancet*. 2001 Feb 24;357(9256):607-8.
- 195- G A W Rook, C L Raison, and C A Lowry. Microbial ‘old friends’, immunoregulation and socioeconomic status. *Clin Exp Immunol*. 2014 Jul; 177(1): 1–12.
- 196- Mathilde Versini, Pierre-Yves Jeandel, Tomer Bashi, Giorgia Bizzaro, Miri Blank, and Yehuda Shoenfeld. Unraveling the Hygiene Hypothesis of helminthes and autoimmunity: origins, pathophysiology, and clinical applications. *BMC Med*. 2015; 13: 81.

- 197- Dunder T, Tapiainen T, Pokka T, Uhari M. Infections in child day care centers and later development of asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis: prospective follow-up survey 12 years after controlled randomized hygiene intervention. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2007 Oct;161(10):972-7.
- 198 - Yoo J, Tcheurekdjian H, Lynch SV, Cabana M, Boushey HA. Microbial manipulation of immune function for asthma prevention: inferences from clinical trials. *Proc Am Thorac Soc.* 2007 Jul;4(3):277-82.
- 199 - Koloski NA, Bret L, Radford-Smith G. Hygiene hypothesis in inflammatory bowel disease: a critical review of the literature. *World J Gastroenterol.* 2008 Jan 14;14(2):165-73.
- 200 - Cardwell CR, Carson DJ, Yarnell J, Shields MD, Patterson CC. Atopy, home environment and the risk of childhood-onset type 1 diabetes: a population-based case-control study. *Pediatr Diabetes.* 2008 Jun;9(3 Pt 1):191-6.
- 201 - Amre DK, Lambrette P, Law L, Krupoves A, Chotard V, Costea F, Grimard G, Israel D, Mack D, Seidman EG. Investigating the hygiene hypothesis as a risk factor in pediatric onset Crohn's disease: a case-control study. *Am J Gastroenterol.* 2006 May;101(5):1005-11.
- 202- Bernstein CN, Rawsthorne P, Cheang M, Blanchard JF. A population-based case control study of potential risk factors for IBD. *Am J Gastroenterol.* 2006 May;101(5):993-1002.
- 203- Rook GA, Adams V, Hunt J, Palmer R, Martinelli R, Brunet LR. Mycobacteria and other environmental organisms as immunomodulators for immunoregulatory disorders. *Springer Semin Immunopathol.* 2004 Feb;25(3-4):237-55. Epub 2003 Oct 8.
- 204- Rook GA. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: darwinian medicine and the 'hygiene' or 'old friends' hypothesis. *Clin Exp Immunol.* 2010 Apr;160(1):70-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04133.x.
- 205- von Hertzen L, Hanski I, Haahtela T. Natural immunity. Biodiversity loss and inflammatory diseases are two global megatrends that might be related. *EMBO Rep.* 2011 Oct 28;12(11):1089-93.
- 206- Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 1989;7:145-73.
- 207- Annunziato F, Romagnani S. Heterogeneity of human effector CD4+ T cells. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(6):257.
- 208- Gause WC, Urban JF Jr, Stadecker MJ. The immune response to parasitic helminths: insights from murine models. *Trends Immunol.* 2003 May;24(5):269-77.
- 209- Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. T(H)-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity. *Nat Immunol.* 2007 Apr;8(4):345-50.

- 210- Singh RP, Hasan S, Sharma S, Nagra S, Yamaguchi DT, Wong DT, Hahn BH, Hossain A. Th17 cells in inflammation and autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2014 Dec;13(12):1174-81.
- 211- Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell.* 2000 May 26;101(5):455-8.
- 212- Hawrylowicz CM, O'Garra A. Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. *Nat Rev Immunol.* 2005 Apr;5(4):271-83.
- 213- Kim JM, Rasmussen JP, Rudensky AY. Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice. *Nat Immunol.* 2007 Feb;8(2):191-7.
- 214- Akdis M, Verhagen J, Taylor A, Karamloo F, Karagiannidis C, Cramer R, Thunberg. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. *S J Exp Med.* 2004 Jun 7;199(11):1567-75.
- 215- Viglietta V, Baecher-Allan C, Weiner HL, Hafler DA. Loss of functional suppression by CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med.* 2004 Apr 5;199(7):971-9.
- 216- Kraus TA, Toy L, Chan L, Childs J, Mayer L. Failure to induce oral tolerance to a soluble protein in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2004 Jun;126(7):1771-8.
- 217- Powrie F, Read S, Mottet C, Uhlig H, Maloy K. Control of immune pathology by regulatory T cells. *Novartis Found Symp.* 2003;252:92-8; discussion 98-105, 106-14.
- 218- Umetsu DT, Dekruyff RH. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: microbes, apoptosis and TIM-1 in the development of asthma. *Clin Exp Immunol.* 2010 Apr;160(1):125-9.
- 219- Stoll, 1947 This wormy world. *J. Parasitol.*, 33 (1947), pp. 1-18.
- 220- Schröder NW. The role of innate immunity in the pathogenesis of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2009 Feb;9(1):38-43.
- 221- Comas et al., Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of *Mycobacterium tuberculosis* with modern humans. *Nat. Genet* (2013)
- 222- Linz et al. An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori* *Nature*, 445 (2007), pp. 915-918
- 223- Wolfe et al., N.D. Wolfe, et al. Origins of major human infectious diseases *Nature*, 447 (2007), pp. 279-283
- 224- Rook GA, Lowry CA, Raison CL. Hygiene and other early childhood influences on the subsequent function of the immune system. *Brain Res.* 2015 Aug 18;1617:47-62.

- 225- Rook GA. Hygiene hypothesis and autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2012 Feb;42(1):5-15.
- 226- Rook GA, Raison CL, Lowry CA. Microbial 'old friends', immunoregulation and socioeconomic status. *Clin Exp Immunol*. 2014 Jul;177(1):1-12.
- 227- Le Bert N, Chain BM, Rook G, Noursadeghi M. DC priming by *M. vaccae* inhibits Th2 responses in contrast to specific TLR2 priming and is associated with selective activation of the CREB pathway. *PLoS One*. 2011 Apr 1;6(4):e18346.
- 228- Linz B, Balloux F, Moodley Y, Manica A, Liu H, Roumagnac P, et al. An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature*. 2007 Feb 22;445(7130):915-918.
- 229- Harriet Mpairwe, Emily L Webb, Lawrence Muhangi, Juliet Ndibazza, Denise Akishule, Margaret Nampijja. Anthelmintic treatment during pregnancy is associated with increased risk of infantile eczema: randomised-controlled trial results. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011 May; 22(3): 305–312.
- 230- Obihara CC, Beyers N, Gie RP, Potter PC, Marais BJ, Lombard CJ, Enarson DA, Kimpfen JL. Inverse association between *Mycobacterium tuberculosis* infection and atopic rhinitis in children. *Allergy*. 2005 Sep;60(9):1121-5.
- 231- Round JL, Lee SM, Li J, Tran G, Jabri B, Chatila TA, Mazmanian SK. The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. *Science*. 2011 May 20;332(6032):974-7.
- 232- Grainger JR, Smith KA, Hewitson JP, McSorley HJ, Harcus Y, Filbey KJ. Helminth secretions induce de novo T cell Foxp3 expression and regulatory function through the TGF- $\beta$  pathway. *J Exp Med*. 2010 Oct 25;207(11):2331-41.
- 233- Hanski I, von Hertzen L, Fyhrquist N, Koskinen K, Torppa K, Laatikainen T, et al. Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 May 22;109(21):8334-9.
- 234- Singhal S, Dian D, Keshavarzian A, Fogg L, Fields JZ, Farhadi A. The role of oral hygiene in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci*. 2011 Jan;56(1):170-5.
- 235- Rook GA. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: the broader implications of the hygiene hypothesis. *Immunology*. 2009 Jan;126(1):3-11.
- 236- Osada Y, Kanazawa T. Parasitic helminths: new weapons against immunological disorders. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:743758.
- 237- Karimi K, Inman MD, Bienenstock J, Forsythe P. *Lactobacillus reuteri*-induced regulatory T cells protect against an allergic airway response in mice. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Feb 1;179(3):186-93.
- 238- Smits HH, Engering A, van der Kleij D, de Jong EC, Schipper K, van Capel TM, et al. Selective probiotic bacteria induce IL-10-producing regulatory T cells in vitro by modulating

- dendritic cell function through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 Jun;115(6):1260-7.
- 239- Correale J, Farez M. Association between parasite infection and immune responses in multiple sclerosis. *Neurol.* 2007 Feb;61(2):97-108.
- 240- Correale J, Farez MF. The impact of parasite infections on the course of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2011 Apr;233(1-2):6-11.
- 241- Fleming JO, Isaak A, Lee JE, Luzzio CC, Carrithers MD, Cook TD, Field AS, Boland J, Fabry Z. Probiotic helminth administration in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 1 study. *Mult Scler.* 2011 Jun;17(6):743-54.
- 242- McSorley HJ, Maizels RM. Helminth infections and host immune regulation. *Clin Microbiol Rev.* 2012 Oct;25(4):585-608.
- 243- Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ, Jacobson J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J Clin Invest.* 2008 Apr;118(4):1311-21.
- 244- Ziegelbauer K, Speich B, Mäusezahl D, Bos R, Keiser J, Utzinger J. Effect of sanitation on soil-transmitted helminth infection: systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2012 Jan;9(1):e1001162.
- 245- Babu S, Blauvelt CP, Kumaraswami V, Nutman TB. J Immunol. Regulatory networks induced by live parasites impair both Th1 and Th2 pathways in patent lymphatic filariasis: implications for parasite persistence. 2006 Mar 1;176(5):3248-56.
- 246- van der Kleij D1, Latz E, Brouwers JF, Kruize YC, Schmitz M, Kurt-Jones EA, et al. A novel host-parasite lipid cross-talk. Schistosomal lyso-phosphatidylserine activates toll-like receptor 2 and affects immune polarization. *J Biol Chem.* 2002 Dec 13;277(50):48122-9.
- 247- Weinstock JV. Autoimmunity: The worm returns. *Nature.* 2012 Nov 8;491(7423):183-5.
- 248- Ben-Ami Shor D, Harel M, Eliakim R, Shoenfeld Y. The hygiene theory harnessing helminths and their ova to treat autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2013 Oct;45(2):211-6.
- 249- Shor DB, Shoenfeld Y. Autoimmunity: Will worms cure rheumatoid arthritis? *Nat Rev Rheumatol.* 2013 Mar;9(3):138-40.
- 250- Torres-Aguilar H, Blank M, Jara LJ, Shoenfeld Y. Tolerogenic dendritic cells in autoimmune diseases: crucial players in induction and prevention of autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2010 Nov;10(1):8-17.
- 251- Smits HH, Hokke CH, Yazdanbakhsh M. Helminths and dendritic cells: sensing and regulating via pattern recognition receptors, Th2 and Treg responses. *Everts B. Eur J Immunol.* 2010 Jun;40(6):1525-37.
- 252- Diebold SS. Determination of T-cell fate by dendritic cells. *Immunol Cell Biol.* 2008 Jul;86(5):389-97.

- 253- Pulendran B, Tang H, Manicassamy S. Programming dendritic cells to induce T(H)2 and tolerogenic responses. *Nat Immunol.* 2010 Aug;11(8):647-55.
- 254- Hang L, Setiawan T, Blum AM, Urban J, Stoyanoff K, Arihiro S, et al. Heligmosomoides polygyrus infection can inhibit colitis through direct interaction with innate immunity. *J Immunol.* 2010 Sep 15;185(6):3184-9.
- 255- Blum AM, Hang L, Setiawan T, Urban JP Jr, Stoyanoff KM, Leung J, Weinstock JV. Heligmosomoides polygyrus bakeri induces tolerogenic dendritic cells that block colitis and prevent antigen-specific gut T cell responses. *J Immunol.* 2012 Sep 1;189(5):2512-20.
- 256- Elliott DE, Metwali A, Leung J, Setiawan T, Blum AM, Ince MN, et al. Colonization with Heligmosomoides polygyrus suppresses mucosal IL-17 production. *J Immunol.* 2008 Aug 15;181(4):2414-9.
- 257- Wu Z, Nagano I, Asano K, Takahashi Y. Infection of non-encapsulated species of Trichinella ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis involving suppression of Th17 and Th1 response. *Parasitol Res.* 2010 Oct;107(5):1173-88.
- 258- Gruden-Movsesijan A, Ilic N, Mostarica-Stojkovic M, Stosic-Grujicic S, Milic M, Sofronic-Milosavljevic L. Mechanisms of modulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by chronic Trichinella spiralis infection in Dark Agouti rats. *Parasite Immunol.* 2010 Jun;32(6):450-9.
- 259- Osada Y, Shimizu S, Kumagai T, Yamada S, Kanazawa T. Schistosoma mansoni infection reduces severity of collagen-induced arthritis via down-regulation of pro-inflammatory mediators. *Int J Parasitol.* 2009 Mar;39(4):457-64.
- 260- Pineda MA, McGrath MA, Smith PC, Al-Riyami L, Rzepecka J, Gracie JA, Harnett W, Harnett MM. The parasitic helminth product ES-62 suppresses pathogenesis in collagen-induced arthritis by targeting the interleukin-17-producing cellular network at multiple sites. *Arthritis Rheum.* 2012 Oct;64(10):3168-78.
- 261- Saunders KA, Raine T, Cooke A, Lawrence CE. Inhibition of autoimmune type 1 diabetes by gastrointestinal helminth infection. *Infect Immun.* 2007 Jan;75(1):397-407.
- 262- Hübner MP, Stocker JT, Mitre E. Inhibition of type 1 diabetes in filaria-infected non-obese diabetic mice is associated with a T helper type 2 shift and induction of FoxP3+ regulatory T cells. *Immunology.* 2009 Aug;127(4):512-22.
- 263- Zaccone P, Burton O, Miller N, Jones FM, Dunne DW, Cooke A. Schistosoma mansoni egg antigens induce Treg that participate in diabetes prevention in NOD mice. *Eur J Immunol.* 2009 Apr;39(4):1098-107.
- 264- Zaccone P, Burton OT, Gibbs SE, Miller N, Jones FM, Schramm G, Haas H, Doenhoff MJ, Dunne DW, Cooke A. The S. mansoni glycoprotein  $\omega$ -1 induces Foxp3 expression in NOD mouse CD4<sup>+</sup> T cells. *Eur J Immunol.* 2011 Sep;41(9):2709-18.

- 265- McInnes IB, Leung BP, Harnett M, Gracie JA, Liew FY, Harnett W. A novel therapeutic approach targeting articular inflammation using the filarial nematode-derived phosphorylcholine-containing glycoprotein ES-62. *J Immunol*. 2003 Aug 15;171(4):2127-33.
- 266- Kalampokis I, Yoshizaki A, Tedder TF. IL-10-producing regulatory B cells (B10 cells) in autoimmune disease. *Arthritis Res Ther*. 2013;15 Suppl 1:S1.
- 267- Yang M, Rui K, Wang S, Lu L. Regulatory B cells in autoimmune diseases. *Cell Mol Immunol*. 2013 Mar;10(2):122-32.
- 268- Khan AR, Amu S, Saunders SP, Fallon PG. The generation of regulatory B cells by helminth parasites. *Methods Mol Biol*. 2014;1190:143-62.
- 269- van der Vlugt LE, Zinsou JF, Ozir-Fazalalikhani A, Kremsner PG, Yazdanbakhsh M, Adegnik AA, Smits HH. Interleukin 10 (IL-10)-producing CD1dhi regulatory B cells from *Schistosoma haematobium*-infected individuals induce IL-10-positive T cells and suppress effector T-cell cytokines. *J Infect Dis*. 2014 Oct 15;210(8):1207-16.
- 270- Rodgers DT, Pineda MA, McGrath MA, Al-Riyami L, Harnett W, Harnett MM. Protection against collagen-induced arthritis in mice afforded by the parasitic worm product, ES-62, is associated with restoration of the levels of interleukin-10-producing B cells and reduced plasma cell infiltration of the joints. *Immunology*. 2014 Mar;141(3):457-66.
- 271- Correale J, Farez M, Razzitte G. Helminth infections associated with multiple sclerosis induce regulatory B cells. *Ann Neurol*. 2008 Aug;64(2):187-99.
- 272- Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest*. 2012 Mar;122(3):787-95.
- 273- Herbert DR, Hölscher C, Mohrs M, Arendse B, Schwegmann A, Radwanska M, et al. Alternative macrophage activation is essential for survival during schistosomiasis and downmodulates T helper 1 responses and immunopathology. *Immunity*. 2004 May;20(5):623-35.
- 274- Liu AH. Revisiting the hygiene hypothesis for allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Oct;136(4):860-5.
- 275- Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Angenent LT, Ley RE. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Mar 15;108 Suppl 1:4578-85.
- 276- Lynch SV, Wood RA, Boushey H, Bacharier LB, Bloomberg GR, Kattan M, et al. Effects of early-life exposure to allergens and bacteria on recurrent wheeze and atopy in urban children. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Sep;134(3):593-601.e12.
- 277- Bisgaard H, Hermansen MN, Buchvald F, Loland L, Halkjaer LB, Bønnelykke K, et al. Childhood asthma after bacterial colonization of the airway in neonates. *N Engl J Med*. 2007 Oct 11;357(15):1487-95.

- 278- Scharschmidt TC. Establishing Tolerance to Commensal Skin Bacteria: Timing Is Everything. *Dermatol Clin.* 2017 Jan;35(1):1-9.
- 279- Smits HH, Akdis CA. In utero priming by worms protects against respiratory allergies. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Dec;134(6):1280-1281.
- 280- Philip J Cooper, Martha E Chico, Irene Guadalupe, Carlos A Sandoval, Edward Mitre, Thomas AE Platts-Mills, et al. Impact of early life exposures to geohelminth infections on the development of vaccine immunity, allergic sensitization, and allergic inflammatory diseases in children living in tropical Ecuador: the ECUAVIDA birth cohort study *BMC Infect Dis.* 2011; 11: 184.
- 281- Cooper PJ, Barreto ML, Rodrigues LC. Human allergy and geohelminth infections: a review of the literature and a proposed conceptual model to guide the investigation of possible causal associations. *Br Med Bull.* 2006;79-80:203-18.
- 282- Rodrigues LC, Newcombe PJ, Cunha SS, Alcantara-Neves NM, Genser B, Cruz AA, et al. Early infection with *Trichuris trichiura* and allergen skin test reactivity in later childhood. *Clin Exp Allergy.* 2008 Nov;38(11):1769-77.
- 283- Figueiredo CA, Alcantara-Neves NM, Amorim LD, Silva NB, Carvalho LC, Cooper PJ, Rodrigues LC, Barreto ML. Evidence for a modulatory effect of IL-10 on both Th1 and Th2 cytokine production: the role of the environment. *Clin Immunol.* 2011 Apr;139(1):57-64.
- 284- Turner JD, Jackson JA, Faulkner H, Behnke J, Else KJ, Kamgno J, Boussinesq M, Bradley JE. Intensity of intestinal infection with multiple worm species is related to regulatory cytokine output and immune hyporesponsiveness. *J Infect Dis.* 2008 Apr 15;197(8):1204-12.
- 285- Figueiredo CA, Alcântara-Neves NM, Veiga R, Amorim LD, Dattoli V, Mendonça LR et al. Spontaneous cytokine production in children according to biological characteristics and environmental exposures. *Environ Health Perspect.* 2009 May;117(5):845-9.
- 286- Figueiredo CA, Barreto ML, Rodrigues LC, Cooper PJ, Silva NB, Amorim LD, Alcantara-Neves NM. Chronic intestinal helminth infections are associated with immune hyporesponsiveness and induction of a regulatory network. *Infect Immun.* 2010 Jul;78(7):3160-7.
- 287- Cooper PJ. Interactions between helminth parasites and allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2009 Feb;9(1):29-37.
- 288- World Health Organization. (06/05/2018). Global Health Observatory. Child Mortality and causes of death. [en ligne] [www.who.int/gho/child\\_health/mortality/en/](http://www.who.int/gho/child_health/mortality/en/).
- 289- Kollmann TR, Kampmann B, Mazmanian SK, Marchant A, Levy O. Protecting the Newborn and Young Infant from Infectious Diseases: Lessons from Immune Ontogeny. *Immunity.* 2017 Mar 21;46(3):350-363.

- 290- Wood N, Siegrist CA. Neonatal immunization: where do we stand? *Curr Opin Infect Dis.* 2011 Jun;24(3):190-5.
- 291- Anja Saso and Beate Kampmann. Vaccine responses in newborns *Semin Immunopathol.* 2017; 39(6): 627–642.
- 292- Henry Dunand, and Patrick C. Noel T. Pauli, Carole J. Wilson. Exploiting Human Memory B Cell Heterogeneity for Improved Vaccine Efficacy. *Front Immunol.* 2011; 2: 77.
- 293- Colditz GA, Brewer TF, Berkey CS, Wilson ME, Burdick E, Fineberg HV, Mosteller F. Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis. Meta-analysis of the published literature. *JAMA.* 1994 Mar 2;271(9):698-702.
- 294- Goldhaber-Fiebert JD, Lipsitch M, Mahal A, Zaslavsky AM, Salomon JA. Quantifying child mortality reductions related to measles vaccination. *PLoS One.* 2010 Nov 4;5(11):e13842.
- 295- van den Ent MM, Brown DW, Hoekstra EJ, Christie A, Cochi SL. Measles mortality reduction contributes substantially to reduction of all cause mortality among children less than five years of age, 1990-2008. *J Infect Dis.* 2011 Jul;204 Suppl 1:S18-23.
- 296- Koenig MA, Roy NC, McElrath T, Shahidullah M, Wojtyniak B. Duration of protective immunity conferred by maternal tetanus toxoid immunization: further evidence from Matlab, Bangladesh. *Am J Public Health.* 1998 Jun;88(6):903-7.
- 297- Feikin DR, Flannery B, Hamel MJ, et al. Vaccine preventable diseases in children. In: Jamison DT, Gelband H, Horton S, et al., editors. *Disease Control Priorities in Developing Countries.* 3rd ed. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; In press)
- 298- Organisation mondiale de la santé. (22/04/2018). 10 faits sur la vaccination. [en ligne] <https://www.who.int/features/factfiles/immunization/fr/>
- 299-HAS. (08/12/2018) Recommandations vaccinales et rappels chez l'enfants. [en ligne] [https://www.hassante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2017reco\\_vaccinale\\_necessite\\_des\\_rappels\\_vaccinaux\\_chez\\_lenfant\\_exigibilite\\_des\\_vaccinations\\_en\\_collectiv\\_2017-12-26\\_18-37-41\\_83.pdf](https://www.hassante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2017reco_vaccinale_necessite_des_rappels_vaccinaux_chez_lenfant_exigibilite_des_vaccinations_en_collectiv_2017-12-26_18-37-41_83.pdf)
- 300- Szakal AK, Kosco MH, Tew JG. A novel in vivo follicular dendritic cell-dependent iccosome-mediated mechanism for delivery of antigen to antigen-processing cells. *J Immunol.* 1988 Jan 15;140(2):341-53.
- 301- Junt T, Moseman EA, Iannaccone M, Massberg S, Lang PA, Boes M, et al. Subcapsular sinus macrophages in lymph nodes clear lymph-borne viruses and present them to antiviral B cells. *Nature.* 2007 Nov 1;450(7166):110-4.
- 302- Phan TG, Green JA, Gray EE, Xu Y, Cyster JG. Immune complex relay by subcapsular sinus macrophages and noncognate B cells drives antibody affinity maturation. *Nat Immunol.* 2009 Jul;10(7):786-93.

- 303- Lanzavecchia A. Receptor-mediated antigen uptake and its effect on antigen presentation to class II-restricted T lymphocytes. *Annu Rev Immunol.* 1990;8:773-93.
- 304- Okada T, Miller MJ, Parker I, Krummel MF, Neighbors M, Hartley SB, et al. Antigen-engaged B cells undergo chemotaxis toward the T zone and form motile conjugates with helper T cells. *PLoS Biol.* 2005 Jun;3(6):e150.
- 305- Haynes NM, Allen CD, Lesley R, Ansel KM, Killeen N, Cyster JG. Role of CXCR5 and CCR7 in follicular Th cell positioning and appearance of a programmed cell death gene-1high germinal center-associated subpopulation. *J Immunol.* 2007 Oct 15;179(8):5099-108.
- 306- Banchereau J, Rousset F. Growing human B lymphocytes in the CD40 system. *Nature.* 1991 Oct 17;353(6345):678-9.
- 307- Jaiswal AI, Croft M. CD40 ligand induction on T cell subsets by peptide-presenting B cells: implications for development of the primary T and B cell response. *J Immunol.* 1997 Sep 1;159(5):2282-91.
- 308- Liu YJ, Zhang J, Lane PJ, Chan EY, MacLennan IC. Sites of specific B cell activation in primary and secondary responses to T cell-dependent and T cell-independent antigens. *Eur J Immunol.* 1991 Dec;21(12):2951-62.
- 309- TALMAGE DW. Allergy and immunology. *Annu Rev Med.* 1957;8:239-56.
- 310- Weigert MG, Cesari IM, Yonkovich SJ, Cohn M. Variability in the lambda light chain sequences of mouse antibody. *Nature.* 1970 Dec 12;228(5276):1045-7.
- 311- Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, Yamada S, Shinkai Y, Honjo T. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell.* 2000 Sep 1;102(5):553-63.
- 312- Revy P, Muto T, Levy Y, Geissmann F, Plebani A, Sanal O. Activation-induced cytidine deaminase (AID) deficiency causes the autosomal recessive form of the Hyper-IgM syndrome (HIGM2). *Cell.* 2000 Sep 1;102(5):565-75.
- 313- Kincade PW, Lawton AR, Bockman DE, Cooper MD. Suppression of immunoglobulin G synthesis as a result of antibody-mediated suppression of immunoglobulin M synthesis in chickens. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1970 Dec;67(4):1918-25.
- 314- Snapper CM, Paul WE. Interferon-gamma and B cell stimulatory factor-1 reciprocally regulate Ig isotype production. *Science.* 1987 May 22;236(4804):944-7.
- 315- Nieuwenhuis P, Opstelten D. Functional anatomy of germinal centers. *Am J Anat.* 1984 Jul;170(3):421-35.
- 316- Victora GD, Schwickert TA, Fooksman DR, Kamphorst AO, Meyer-Hermann M, Dustin ML, Nussenzweig MC. Germinal center dynamics revealed by multiphoton

- microscopy with a photoactivatable fluorescent reporter. *Cell*. 2010 Nov 12;143(4):592-605.
- 317- Liu YJ, Joshua DE, Williams GT, Smith CA, Gordon J, MacLennan IC. Mechanism of antigen-driven selection in germinal centres. *Nature*. 1989 Dec 21-28;342(6252):929-31.
- 318- Liu YJ, Mason DY, Johnson GD, Abbot S, Gregory CD, Hardie DL, Gordon J, MacLennan IC. Germinal center cells express bcl-2 protein after activation by signals which prevent their entry into apoptosis. *Eur J Immunol*. 1991 Aug;21(8):1905-10.
- 319- Schwickert TA, Victora GD, Fooksman DR, Kamphorst AO, Mugnier MR, Gitlin AD, et al. A dynamic T cell-limited checkpoint regulates affinity-dependent B cell entry into the germinal center. *J Exp Med*. 2011 Jun 6;208(6):1243-52.
- 320- Arpin C, Déchanet J, Van Kooten C, Merville P, Grouard G, Brière F, Banchereau J, Liu YJ. Generation of memory B cells and plasma cells in vitro. *Science*. 1995 May 5;268(5211):720-2.
- 321- Bernasconi NL, Traggiai E, Lanzavecchia A. Maintenance of serological memory by polyclonal activation of human memory B cells. *Science*. 2002 Dec 13;298(5601):2199-202.
- 322- Dogan I, Bertocci B, Vilmont V, Delbos F, Mégret J, Storck S, et al. Multiple layers of B cell memory with different effector functions. *Nat Immunol*. 2009 Dec;10(12):1292-9.
- 323- Pape KA, Taylor JJ, Maul RW, Gearhart PJ, Jenkins MK. Different B cell populations mediate early and late memory during an endogenous immune response. *Science*. 2011 Mar 4;331(6021):1203-7.
- 324- Ilja V. Khavrutskii, Sidhartha Chaudhury, Sabrina M. Stronsky, Donald W. Lee, Jacqueline G. Benko, Anders Wallqvist, et al. Quantitative Analysis of Repertoire-Scale Immunoglobulin Properties in Vaccine-Induced B-Cell Responses. *Front Immunol*. 2017; 8: 910.
- 325- McHeyzer-Williams LJ, McHeyzer-Williams MG. Antigen-specific memory B cell development. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:487-513.
- 326- MacLennan IC, Toellner KM, Cunningham AF, Serre K, Sze DM, Zúñiga E, et al. Extrafollicular antibody responses. *Immunol Rev*. 2003 Aug;194:8-18.
- 327- Goodnow CC1, Sprent J, Fazekas de St Groth B, Vinuesa CG. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature*. 2005 Jun 2;435(7042):590-7.
- 328- Phan TG, Gray EE, Cyster JG. The microanatomy of B cell activation. *Curr Opin Immunol*. 2009 Jun;21(3):258-65.
- 329- Crotty S. Follicular helper CD4 T cells (TFH). *Annu Rev Immunol*. 2011;29:621-63.
- 330- Rodriguez Gomez M, Talke Y, Goebel N, Hermann F, Reich B, Mack M. Basophils support the survival of plasma cells in mice. *J Immunol*. 2010 Dec 15;185(12):7180-5.

- 331- Hebeis BJ, Klenovsek K, Rohwer P, Ritter U, Schneider A, Mach M, Winkler TH. Activation of virus-specific memory B cells in the absence of T cell help. *J Exp Med*. 2004 Feb 16;199(4):593-602.
- 332- Engels N, König LM, Heemann C, Lutz J, Tsubata T, Griep S, Schrader V, Wienands J. Recruitment of the cytoplasmic adaptor Grb2 to surface IgG and IgE provides antigen receptor-intrinsic costimulation to class-switched B cells. *Nat Immunol*. 2009 Sep;10(9):1018-25.
- 333- Flora Castellino, Grazia Galli, Giuseppe Del Giudice, Rino Rappuoli. Generating memory with vaccination. *European Journal of Immunology* Volume 39, Issue 8
- 334- Trotter CL, McVernon J, Ramsay ME, Whitney CG, Mulholland EK, Goldblatt D, et al. Optimising the use of conjugate vaccines to prevent disease caused by *Haemophilus influenzae* type b, *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae*. *Vaccine*. 2008 Aug 18;26(35):4434-45.
- 335- Borrow R, Miller E. Long-term protection in children with meningococcal C conjugate vaccination: lessons learned. *Expert Rev Vaccines*. 2006 Dec;5(6):851-7.
- 336- Clutterbuck EA, Oh S, Hamaluba M, Westcar S, Beverley PC, Pollard AJ. Serotype-specific and age-dependent generation of pneumococcal polysaccharide-specific memory B-cell and antibody responses to immunization with a pneumococcal conjugate vaccine. *Clin Vaccine Immunol*. 2008 Feb;15(2):182-93.
- 337- Kelly DF, Pollard AJ, Moxon ER. Immunological memory: the role of B cells in long-term protection against invasive bacterial pathogens. *JAMA*. 2005 Dec 21;294(23):3019-23.
- 338- Trotter CL, Andrews NJ, Kaczmarski EB, Miller E, Ramsay ME. Effectiveness of meningococcal serogroup C conjugate vaccine 4 years after introduction. *Lancet*. 2004 Jul 24-30;364(9431):365-7.
- 339- Nakajima H, Kariya H, Ohata R, Ogura H. Investigation of immunity level against diphtheria and reinforcement of immunity by booster vaccination for infection control staff in Okayama prefecture. *Jpn J Infect Dis*. 2008 Mar;61(2):104-6.
- 340- Francis DP, Hadler SC, Thompson SE, Maynard JE, Ostrow DG, Altman N, et al. The prevention of hepatitis B with vaccine. Report of the centers for disease control multi-center efficacy trial among homosexual men. *Ann Intern Med*. 1982 Sep;97(3):362-6.
- 341- Leuridan E, Van Damme P. Hepatitis B and the need for a booster dose. *Clin Infect Dis*. 2011 Jul 1;53(1):68-75.
- 342- Jilg W, Schmidt M, Deinhardt F. Vaccination against hepatitis B: comparison of three different vaccination schedules. *J Infect Dis*. 1989 Nov;160(5):766-9.

- 343- Poovorawan Y, Chongsrisawat V, Theamboonlers A, Crasta PD, Messier M, Hardt K Hum. Long-term anti-HBs antibody persistence following infant vaccination against hepatitis B and evaluation of anamnestic response: a 20-year follow-up study in Thailand. *Vaccin Immunother*. 2013 Aug;9(8):1679-84.
- 344- Zhu CL, Liu P, Chen T, Ni Z, Lu LL, Huang F, Lu J, Sun Z, Qu C. Presence of immune memory and immunity to hepatitis B virus in adults after neonatal hepatitis B vaccination. *Vaccine*. 2011 Oct 13;29(44):7835-41.
- 345- Ni YH, Chang MH, Wu JF, Hsu HY, Chen HL, Chen DS. Minimization of hepatitis B infection by a 25-year universal vaccination program. *J Hepatol*. 2012 Oct;57(4):730-5.
- 346- Wang F, Shen L, Cui F, Zhang S, Zheng H, Zhang Y, et al. The long-term efficacy, 13-23 years, of a plasma-derived hepatitis B vaccine in highly endemic areas in China. *Vaccine*. 2015 May 28;33(23):2704-9.
- 347- Bruce MG, Bruden D, Hurlburt D, Zanis C, Thompson G, Rea L, et al. Antibody Levels and Protection After Hepatitis B Vaccine: Results of a 30-Year Follow-up Study and Response to a Booster Dose. *Infect Dis*. 2016 Jul 1;214(1):16-22.
- 348- Amanna IJ, Carlson NE, Slifka MK. Duration of humoral immunity to common viral and vaccine antigens. *N Engl J Med*. 2007 Nov 8;357(19):1903-15.
- 349- Frölich D, Giesecke C, Mei HE, Reiter K, Daridon C, Lipsky PE, Dörner T. *J Immunol*. Secondary immunization generates clonally related antigen-specific plasma cells and memory B cells. 2010 Sep 1;185(5):3103-10.
- 350- Mei HE, Yoshida T, Sime W, Hiepe F, Thiele K, Manz RA, Radbruch A, Dörner T. Blood-borne human plasma cells in steady state are derived from mucosal immune responses. *Blood*. 2009 Mar 12;113(11):2461-9.
- 351- Benner R, Hijmans W, Haaijman JJ. The bone marrow: the major source of serum immunoglobulins, but still a neglected site of antibody formation. *Clin Exp Immunol*. 1981 Oct;46(1):1-8.
- 352- Reddy ST, Ge X, Miklos AE, Hughes RA, Kang SH, Hoi KH, et al. Monoclonal antibodies isolated without screening by analyzing the variable-gene repertoire of plasma cells. *Nat Biotechnol*. 2010 Sep;28(9):965-9.
- 353- Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:445-89.
- 354- Jinfang Zhu, Hidehiro Yamane, and William E. Paul. Differentiation of Effector CD4 T Cell Populations. *Annu Rev Immunol*. 2010; 28: 445–489.
- 355- Medzhitov R, Janeway CA Jr. Innate immune induction of the adaptive immune response. *Cold. Spring Harb Symp Quant Biol* 1999 ; 64 : 429-35.
- 356- Iwasaki A, Medzhitov R Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science*. 2010 Jan 15;327(5963):291-5.

- 357- Nat Immunol. 2010 May;11(5):373-84. doi: 10.1038/ni.1863. Epub 2010 Apr 20.  
The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors.  
Kawai T, Akira S
- 358- Ting JP, Duncan JA, Lei Y. How the noninflammasome NLRs function in the innate immune system. Science. 2010 Jan 15;327(5963):286-90.
- 359- Wilkins C, Gale M Jr. Recognition of viruses by cytoplasmic sensors. Curr Opin Immunol. 2010 Feb;22(1):41-7.
- 360- Pulendran B, Ahmed R. Translating innate immunity into immunological memory: implications for vaccine development. Cell. 2006 Feb 24;124(4):849-63.
- 361- Steinman RM. Dendritic cells in vivo: a key target for a new vaccine science. Immunity. 2008 Sep 19;29(3):319-24.
- 362- Heldwein KA, Liang MD, Andresen TK, Thomas KE, Marty AM, Cuesta N, et al. TLR2 and TLR4 serve distinct roles in the host immune response against Mycobacterium bovis BCG. J Leukoc Biol. 2003 Aug;74(2):277-86.
- 363- Soares AP, Kwong Chung CK, Choice T, Hughes EJ, Jacobs G, van Rensburg EJ, et al. Longitudinal changes in CD4(+) T-cell memory responses induced by BCG vaccination of newborns. J Infect Dis. 2013 Apr;207(7):1084-94.
- 364- INSERM. (28/12/2018). Vaccins et vaccinations. [en ligne] <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/vaccins-et-vaccinations>
- 365- Arvin AM. Humoral and cellular immunity to varicella-zoster virus: an overview. J Infect Dis. 2008 Mar 1;197 Suppl 2:S58-60.
- 366- Bali Pulendran and Rafi Ahmed. Immunological mechanisms of vaccination. Nat Immunol. 2011 Jun; 12(6): 509–517.
- 367- Kolumam GA, Thomas S, Thompson LJ, Sprent J, Murali-Krishna K. Type I interferons act directly on CD8 T cells to allow clonal expansion and memory formation in response to viral infection. J Exp Med. 2005 Sep 5;202(5):637-50.
- 368- Pasare C, Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. Science. 2003 Feb 14;299(5609):1033-6.
- 369- Pulendran B, Smith JL, Caspary G, Brasel K, Pettit D, Maraskovsky E, Maliszewski CR. Distinct dendritic cell subsets differentially regulate the class of immune response in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Feb 2;96(3):1036-41.
- 370- den Haan JM, Lehar SM, Bevan MJ. CD8(+) but not CD8(-) dendritic cells cross-prime cytotoxic T cells in vivo. J Exp Med. 2000 Dec 18;192(12):1685-96.

- 371- Sallusto F, Lanzavecchia A, Araki K, Ahmed R. From vaccines to memory and back. *Immunity*. 2010 Oct 29;33(4):451-63.
- 372- Jameson SC, Masopust D. Diversity in T cell memory: an embarrassment of riches. *Immunity*. 2009 Dec 18;31(6):859-71.
- 373- Kaech SM, Wherry EJ. Heterogeneity and cell-fate decisions in effector and memory CD8<sup>+</sup> T cell differentiation during viral infection. *Immunity*. 2007 Sep;27(3):393-405.
- 374- Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA. *Vaccines*. 5th edn Saunders/Elsevier; Philadelphia: 2008.
- 375- Crotty S, Felgner P, Davies H, Glidewell J, Villarreal L, Ahmed R. Cutting edge: long-term B cell memory in humans after smallpox vaccination. *J Immunol*. 2003 Nov 15;171(10):4969-73.
- 376- Hammarlund E, Lewis MW, Hansen SG, Strelow LI, Nelson JA, Sexton GJ, et al. Duration of antiviral immunity after smallpox vaccination. *Nat Med*. 2003 Sep;9(9):1131-7.
- 377- Querec TD, Akondy RS, Lee EK, Cao W, Nakaya HI, Teuwen D, et al. Systems biology approach predicts immunogenicity of the yellow fever vaccine in humans. *Nat Immunol*. 2009 Jan;10(1):116-125.
- 378- Precopio ML, Betts MR, Parrino J, Price DA, Gostick E, Ambrozak DR, et al. Immunization with vaccinia virus induces polyfunctional and phenotypically distinctive CD8<sup>(+)</sup> T cell responses. *J Exp Med*. 2007 Jun 11;204(6):1405-16.
- 379- Zhu J, Martinez J, Huang X, Yang Y. Innate immunity against vaccinia virus is mediated by TLR2 and requires TLR-independent production of IFN-beta. *Blood*. 2007 Jan 15;109(2):619-25.
- 380- Querec T, Bennouna S, Alkan S, Laouar Y, Gorden K, Flavell R, Akira S, Ahmed R, Pulendran B. Yellow fever vaccine YF-17D activates multiple dendritic cell subsets via TLR2, 7, 8, and 9 to stimulate polyvalent immunity. *J Exp Med*. 2006 Feb 20;203(2):413-24.
- 381- Pollard AJ, Perrett KP, Beverley PC. Maintaining protection against invasive bacteria with protein-polysaccharide conjugate vaccines. *Nat Rev Immunol*. 2009 Mar;9(3):213-20.
- 382- Blanchard Rohner G, Snape MD, Kelly DF, John T, Morant A, Yu LM, et al. *J Immunol*. The magnitude of the antibody and memory B cell responses during priming with a protein-polysaccharide conjugate vaccine in human infants is associated with the persistence of antibody and the intensity of booster response. 2008 Feb 15;180(4):2165-73.
- 383- Mohr E, Siegrist CA. Vaccination in early life: standing up to the challenges. *Curr Opin Immunol*. 2016 Aug;41:1-8.
- 384- Dowling DJ, Levy O. Ontogeny of early life immunity. *Trends Immunol*. 2014 Jul;35(7):299-310.

- 385- Fadel S, Sarzotti M. Cellular immune responses in neonates. *Int Rev Immunol*. 2000;19(2-3):173-93.
- 386- Marchant A, Goldman M. T cell-mediated immune responses in human newborns: ready to learn? *Clin Exp Immunol*. 2005 Jul;141(1):10-8.
- 387- Demirjian A, Levy O. Safety and efficacy of neonatal vaccination. *Eur J Immunol*. 2009 Jan;39(1):36-46. doi: 10.1002/eji.200838620.
- 388- Basha S, Surendran N, Pichichero M. Immune responses in neonates. *Expert Rev Clin Immunol*. 2014 Sep;10(9):1171-84.
- 389- Debock I, Flamand V. Unbalanced Neonatal CD4(+) T-Cell Immunity. *Front Immunol*. 2014 Aug 27;5:393.
- 390- PrabhuDas M, Adkins B, Gans H, King C, Levy O, Ramilo O, Siegrist CA. Challenges in infant immunity: implications for responses to infection and vaccines. *Nat Immunol*. 2011 Mar;12(3):189-94.
- 391- Siegrist CA. The challenges of vaccine responses in early life: selected examples. *J Comp Pathol*. 2007 Jul;137 Suppl 1:S4-9.
- 392- Levy O. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nat Rev Immunol*. 2007 May;7(5):379-90.
- 393- Belderbos ME, Levy O, Meyaard L, Bont L. Plasma-mediated immune suppression: a neonatal perspective. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013 Mar;24(2):102-13.
- 394- Ofer Levy, Melissa Coughlin, Bruce N. Cronstein, Rene M. Roy, Avani Desai, and Michael R. Wessels. The Adenosine System Selectively Inhibits TLR-Mediated TNF- $\alpha$  Production in the Human Newborn. *J Immunol*. 2006 Aug 1; 177(3): 1956–1966.
- 395- Krumbiegel D, Zepp F, Meyer CU. Combined Toll-like receptor agonists synergistically increase production of inflammatory cytokines in human neonatal dendritic cells. *Hum Immunol*. 2007 Oct;68(10):813-22.
- 396- Fink PJ. The biology of recent thymic emigrants. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:31-50. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-100010. Epub 2012 Nov 1.
- 397- Haines CJ, Giffon TD, Lu LS, Lu X, Tessier-Lavigne M, Ross DT, Lewis DB. Human CD4+ T cell recent thymic emigrants are identified by protein tyrosine kinase 7 and have reduced immune function. *J Exp Med*. 2009 Feb 16;206(2):275-85.
- 398- Zaghouani H, Hoeman CM, Adkins B. Neonatal immunity: faulty T-helpers and the shortcomings of dendritic cells. *Trends Immunol*. 2009 Dec;30(12):585-91.
- 399- Morris MC, Surendran N. Neonatal Vaccination: Challenges and Intervention Strategies. *Neonatology*. 2016;109(3):161-9.

- 400- Boer MC, Joosten SA1, Ottenhoff TH. Regulatory T-Cells at the Interface between Human Host and Pathogens in Infectious Diseases and Vaccination. *Front Immunol*. 2015 May 11;6:217.
- 401- Burt TD. Fetal regulatory T cells and peripheral immune tolerance in utero: implications for development and disease. *Am J Reprod Immunol*. 2013 Apr;69(4):346-58.
- 402- Siegrist CA, Aspinall R. B-cell responses to vaccination at the extremes of age. *Nat Rev Immunol*. 2009 Mar;9(3):185-94.
- 403- Debock I, Jaworski K, Chadlaoui H, Delbauve S, Passon N, Twyffels L, Leo O, Flamand V. Neonatal follicular Th cell responses are impaired and modulated by IL-. *J Immunol*. 2013 Aug 1;191(3):1231-9.
- 404- Pihlgren M, Tougne C, Bozzotti P, Fulurija A, Duchosal MA, Lambert PH, Siegrist CA. Unresponsiveness to lymphoid-mediated signals at the neonatal follicular dendritic cell precursor level contributes to delayed germinal center induction and limitations of neonatal antibody responses to T-dependent antigens. *J Immunol*. 2003 Mar 15;170(6):2824-32.
- 405- Ota MO, Vekemans J, Schlegel-Haueter SE, Fielding K, Whittle H, Lambert PH, McAdam KP, Siegrist CA, Marchant A. Hepatitis B immunisation induces higher antibody and memory Th2 responses in new-borns than in adults. *Vaccine*. 2004 Jan 2;22(3-4):511-9.
- 406- Vekemans J, Ota MO, Wang EC, Kidd M, Borysiewicz LK, Whittle H, McAdam KP, Morgan G, Marchant A. T cell responses to vaccines in infants: defective IFN $\gamma$  production after oral polio vaccination. *Clin Exp Immunol*. 2002 Mar;127(3):495-8.
- 407- Ota MO, Vekemans J, Schlegel-Haueter SE, Fielding K, Sanneh M, Kidd M, et al. Influence of *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin on antibody and cytokine responses to human neonatal vaccination. *J Immunol*. 2002 Jan 15;168(2):919-25.
- 408- Cobey S, Wilson P, Matsen FA. The evolution within us. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015 Sep 5;370(1676). pii: 20140235.
- 409- Hoehn KB, Fowler A, Lunter G, Pybus OG. The Diversity and Molecular Evolution of B-Cell Receptors during Infection. *Mol Biol Evol*. 2016 May;33(5):1147-57. doi: 10.1093/molbev/msw015. Epub 2016 Jan 22.
- 410- Greiff V, Bhat P, Cook SC, Menzel U, Kang W, Reddy ST. A bioinformatic framework for immune repertoire diversity profiling enables detection of immunological status. *Genome Med*. 2015 May 28;7(1):49.
- 411- Germain RN. Vaccines and the future of human immunology. *Immunity*. 2010 Oct 29;33(4):441-50.

- 412- Rappuoli R. Bridging the knowledge gaps in vaccine design. *Nat Biotechnol.* 2007 Dec;25(12):1361-6.
- 413- Pulendran B, Ahmed R. Immunological mechanisms of vaccination. *Nat Immunol.* 2011 Jun;12(6):509-17.
- 414- Kuraoka M, Schmidt AG, Nojima T, Feng F, Watanabe A, Kitamura D, et al. Complex Antigens Drive Permissive Clonal Selection in Germinal Centers. *Immunity.* 2016 Mar 15;44(3):542-552.
- 415- Lavinder JJ, Wine Y, Giesecke C, Ippolito GC, Horton AP, Lungu OI, et al. Identification and characterization of the constituent human serum antibodies elicited by vaccination. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Feb 11;111(6):2259-64.
- 416- Mark E. McGovern and David Canning. Vaccination and All-Cause Child Mortality From 1985 to 2011: Global Evidence From the Demographic and Health Surveys. *Am J Epidemiol.* 2015 Nov 1; 182(9): 791–798.
- 417- Aaby P, Bukh J, Lisse IM, Smits. Measles vaccination and reduction in child mortality: a community study from Guinea-Bissau. *AJ J Infect.* 1984 Jan;8(1):13-21.
- 418- Helen S. Goodridge, S. Sohail Ahmed, Nigel Curtis, Tobias R. Kollmann, Ofer Levy, et al. Harnessing the beneficial heterologous effects of vaccination *Nat Rev Immunol.* 2016 Jun; 16(6): 392–400.
- 419- de Castro MJ, Pardo-Seco J, Martín-Torres F. Nonspecific (Heterologous) Protection of Neonatal BCG Vaccination Against Hospitalization Due to Respiratory Infection and Sepsis. *Clin Infect Dis.* 2015 Jun 1;60(11):1611-9.
- 420- Sørup S, Benn CS, Poulsen A, Krause TG, Aaby P, Ravn H *JAMA.* Live vaccine against measles, mumps, and rubella and the risk of hospital admissions for nontargeted infections. 2014 Feb 26;311(8):826-35.
- 421- Sørup S, Villumsen M, Ravn H, Benn CS, Sørensen TI, Aaby P, Jess T, Roth A. Smallpox vaccination and all-cause infectious disease hospitalization: a Danish register-based cohort study. *Int J Epidemiol.* 2011 Aug;40(4):955-63.
- 422- Sørup S, Stensballe LG, Krause TG, Aaby P, Benn CS, Ravn H. Oral Polio Vaccination and Hospital Admissions With Non-Polio Infections in Denmark: Nationwide Retrospective Cohort Study. *Open Forum Infect Dis.* 2015 Dec 17;3(1):ofv204.
- 423- Aaby P, Kollmann TR, Benn CS. Nonspecific effects of neonatal and infant vaccination: public-health, immunological and conceptual challenges. *Nat Immunol.* 2014 Oct;15(10):895-9.
- 424- Flanagan KL, van Crevel R, Curtis N, Shann F, Levy O. Heterologous ("nonspecific") and sex-differential effects of vaccines: epidemiology, clinical trials, and emerging immunologic mechanisms. *Clin Infect Dis.* 2013 Jul;57(2):283-9.

- 425- Meeting of the Strategic Advisory Group of Experts on immunization, April 2014 — conclusions and recommendations. *Wkly Epidemiol Rec.* 2014 May 23;89(21):221-36.
- 426- Goodridge HS, Ahmed SS, Curtis N, Kollmann TR, Levy O, Netea MG, et al. Harnessing the beneficial heterologous effects of vaccination. *Nat Rev Immunol.* 2016 Jun;16(6):392-400.
- 427- Lund N, Andersen A, Hansen AS, Jepsen FS, Barbosa A, Biering-Sørensen S, et al. The Effect of Oral Polio Vaccine at Birth on Infant Mortality: A Randomized Trial. *Clin Infect Dis.* 2015 Nov 15;61(10):1504-11.
- 428- Khurana S, Verma N, Yewdell JW, Hilbert AK, Castellino F, Lattanzi M, et al. MF59 adjuvant enhances diversity and affinity of antibody-mediated immune response to pandemic influenza vaccines. *Sci Transl Med.* 2011 Jun 1;3(85):85ra48.
- 429- Koenig MA, Khan MA, Wojtyniak B, Clemens JD, Chakraborty J, Fauveau V, et al. Impact of measles vaccination on childhood mortality in rural Bangladesh. *Bull World Health Organ.* 1990;68(4):441-7.
- 430- Aaby P, Jensen H, Rodrigues A, Garly ML, Benn CS, Lisse IM, Simondon F. Divergent female-male mortality ratios associated with different routine vaccinations among female-male twin pairs. *Int J Epidemiol.* 2004 Apr;33(2):367-73.
- 431- Netea MG, van Crevel R. Semin Immunol. BCG-induced protection: effects on innate immune memory. 2014 Dec;26(6):512-7.
- 432- Kleinnijenhuis J, van Crevel R, Netea MG. Trained immunity: consequences for the heterologous effects of BCG vaccination. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2015 Jan;109(1):29-35.
- 433- Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, Benn CS, Joosten LA, Jacobs C, et al. Long-lasting effects of BCG vaccination on both heterologous Th1/Th17 responses and innate trained immunity. *J Innate Immun.* 2014;6(2):152-8.
- 434- Libraty DH, Zhang L, Woda M, Acosta LP, Obcena A, Brion JD. Neonatal BCG vaccination is associated with enhanced T-helper 1 immune responses to heterologous infant vaccines. *Capeding RZTrials Vaccinol.* 2014;3:1-5.
- 435- Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, Joosten LA, Ifrim DC, Saeed S, et al. Bacille Calmette-Guérin induces NOD2-dependent nonspecific protection from reinfection via epigenetic reprogramming of monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Oct 23;109(43):17537-42.
- 436- Li Q, Shen HH. Neonatal bacillus Calmette-Guérin vaccination inhibits de novo allergic inflammatory response in mice via alteration of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T-regulatory cells. *Acta Pharmacol Sin.* 2009 Jan;30(1):125-33.
- 437- Curtis N. Potential role for BCG in treatment of autoimmune diseases. *BMJ.* 2016 Nov 21;355:i6091.

- 438- Rousseau MC, Parent ME, St-Pierre Y. Potential health effects from non-specific stimulation of the immune function in early age: the example of BCG vaccination. *Pediatr Allergy Immunol.* 2008 Aug;19(5):438-48.
- 439- Francino MP. Early development of the gut microbiota and immune health. *Pathogens.* 2014 Sep 24;3(3):769-90.
- 440- Fulde M, Hornef MW. Maturation of the enteric mucosal innate immune system during the postnatal period. *Immunol Rev.* 2014 Jul;260(1):21-34.
- 441- Jain N, Walker WA. Diet and host-microbial crosstalk in postnatal intestinal immune homeostasis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015 Jan;12(1):14-25.
- 442- Jain N, Walker WA. Diet and host-microbial crosstalk in postnatal intestinal immune homeostasis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015 Jan;12(1):14-25.
- 443- Gomez de Agüero M, Ganai-Vonarburg SC, Fuhrer T, Rupp S, Uchimura Y, Li H, Steinert A, Heikenwalder M, et al. The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. *Science.* 2016 Mar 18;351(6279):1296-302.
- 444- Rautava S, Collado MC, Salminen S, Isolauri. Probiotics modulate host-microbe interaction in the placenta and fetal gut: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *ENeonatology.* 2012;102(3):178-84.
- 445- Prescott SL, Wickens K, Westcott L, Jung W, Currie H, Black PN, Stanley TV, et al. Supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* or *Bifidobacterium lactis* probiotics in pregnancy increases cord blood interferon-gamma and breast milk transforming growth factor-beta and immunoglobulin A detection. *Clin Exp Allergy.* 2008 Oct;38(10):1606-14.
- 446- Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed *Bacteroidetes* colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut.* 2014 Apr;63(4):559-66.
- 447- De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Aug 17;107(33):14691-6.
- 448- Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe.* 2015 May 13;17(5):690-703.
- 449- Nicholas A, Bokulich,1 Jennifer Chung,1 Thomas Battaglia,1 Nora Henderson,1 Melanie Jay,1,2 Huilin Li. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Sci Transl Med.* 2016 Jun 15; 8(343): 343ra82.
- 450- Romano-Keeler J, Weitkamp JH. Maternal influences on fetal microbial colonization and immune development. *Pediatr Res.* 2015 Jan;77(1-2):189-95.

- 451- Hansen CH, Metzdorff SB, Hansen AK. Customizing laboratory mice by modifying gut microbiota and host immunity in an early "window of opportunity". *Gut Microbes*. 2013 May-Jun;4(3):241-5.
- 452- Bendtsen KM, Fisker L, Hansen AK, Hansen CH, Nielsen DS. The influence of the young microbiome on inflammatory diseases--Lessons from animal studies. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2015 Dec;105(4):278-95.
- 453- Cox LM, Yamanishi S, Sohn J, Alekseyenko AV, Leung JM, Cho I, et al. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell*. 2014 Aug 14;158(4):705-721.
- 454-Chu H, Mazmanian SK. Innate immune recognition of the microbiota promotes host-microbial symbiosis. *Nat Immunol*. 2013 Jul;14(7):668-75.
- 455-Khosravi A, Yáñez A, Price JG, Chow A, Merad M, Goodridge HS, Mazmanian SK. Gut microbiota promote hematopoiesis to control bacterial infection. *Cell Host Microbe*. 2014 Mar 12;15(3):374-81.
- 456-Dominguez-Bello MG, Blaser MJ. Asthma: Undoing millions of years of coevolution in early life? *Sci Transl Med*. 2015 Sep 30;7(307):307fs39.
- 457- Lavender T, Hofmeyr GJ, Neilson JP, Kingdon C, Gyte GM. Caesarean section for non-medical reasons at term. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Mar 14;(3):CD004660.
- 458- Sreevidya S, Sathiyasekaran BW. High caesarean rates in Madras (India): a population-based cross sectional study. *BJOG*. 2003 Feb;110(2):106-11.
- 459- Ledger WJ, Blaser MJ. Are we using too many antibiotics during pregnancy? *BJOG*. 2013 Nov;120(12):1450-2.
- 460- NSW Health . Towards Normal Birth in NSW. Sydney: NSW Health; 2010 , Gibbons L, Belizán JM, Lauer JA, Betrán AP, Merialdi M, Althabe F. The Global Numbers and Costs of Additionally Needed and Unnecessary Caesarean Sections Performed per Year: Overuse as a Barrier to Universal Coverage. Geneva: World Health Organisation; 2010
- 461- Bager P, Melbye M, Rostgaard K, Benn CS, Westergaard T. Mode of delivery and risk of allergic rhinitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Jan;111(1):51-6.
- 462- Hyde MJ, Mostyn A, Modi N, Kemp PR. The health implications of birth by Caesarean section. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2012 Feb;87(1):229-43.
- 463- Wills-Karp M, Santeliz J, Karp CL. The germless theory of allergic disease: revisiting the hygiene hypothesis. *Nat Rev Immunol*. 2001 Oct;1(1):69-75.
- 464- Josef Neu, and Jona Rushing. Cesarean versus Vaginal Delivery: Long term infant outcomes and the Hygiene Hypothesis. *Clin Perinatol*. 2011 Jun; 38(2): 321–331.

- 465- Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 2007 Jul;5(7):e177.
- 466- Biasucci G, Benenati B, Morelli L, Bessi E, Boehm G. Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *J Nutr.* 2008 Sep;138(9):1796S-1800S.
- 467- Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999 Jan;28(1):19-25.
- 468- Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr.* 1999 May;69(5):1035S-1045S.
- 469- Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics.* 2006 Aug;118(2):511-21.
- 470- Rutayisire E, Huang K, Liu Y, Tao F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol.* 2016 Jul 30;16(1):86.
- 471- Chu DM, Ma J, Prince AL, Antony KM, Seferovic MD, Aagaard KM. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. *Nat Med.* 2017 Mar;23(3):314-326.
- 472- Bokulich NA, Chung J, Battaglia T, Henderson N, Jay M, Li H, et al. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Sci Transl Med.* 2016 Jun 15;8(343):343ra82.
- 473- Salminen S, Gibson GR, McCartney AL, Isolauri E. Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children. *Gut.* 2004 Sep;53(9):1388-9.
- 474- NATURE. Ewen Callaway. (28/08/2019). C-Section babies are missing key microbes. [en ligne]  
[https://www.nature.com/articles/d41586-019-02807-x?utm\\_source=Nature+Briefing&utm\\_campaign=9cccfcc954-briefing-dy-20190919&utm\\_medium=email&utm\\_term=0\\_c9dfd39373-9cccfcc954-44243413](https://www.nature.com/articles/d41586-019-02807-x?utm_source=Nature+Briefing&utm_campaign=9cccfcc954-briefing-dy-20190919&utm_medium=email&utm_term=0_c9dfd39373-9cccfcc954-44243413)
- 475- Negele K, Heinrich J, Borte M, von Berg A, Schaaf B, Lehmann I, Wichmann HE, Bolte G; LISA Study Group. Mode of delivery and development of atopic disease during the first 2 years of life. *Pediatr Allergy Immunol.* 2004 Feb;15(1):48-54.
- 476- Debley JS, Smith JM, Redding GJ, Critchlow CW. Childhood asthma hospitalization risk after cesarean delivery in former term and premature infants. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2005 Feb;94(2):228-33.
- 477- Laubereau B, Filipiak-Pittroff B, von Berg A, Grübl A, Reinhardt D, Wichmann HE, Koletzko S; GINI Study Group. Caesarean section and gastrointestinal symptoms, atopic dermatitis, and sensitisation during the first year of life. *Arch Dis Child.* 2004 Nov;89(11):993-7.

- 478-Eggesbø M, Botten G, Stigum H, Nafstad P, Magnus P. Is delivery by cesarean section a risk factor for food allergy? *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Aug;112(2):420-6.
- 479- Thavagnanam S, Fleming J, Bromley A, Shields MD, Cardwell CR. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clin Exp Allergy*. 2008 Apr;38(4):629-33.
- 480- Bager P, Wohlfahrt J, Westergaard T. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses. *Clin Exp Allergy*. 2008 Apr;38(4):634-42.
- 481- Cardwell CR, Stene LC, Joner G, Cinek O, Svensson J, et al. Caesarean section is associated with an increased risk of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Diabetologia*. 2008 May;51(5):726-35.
- 482- Bonifacio E, Warncke K, Winkler C, Wallner M, Ziegler AG. Cesarean section and interferon-induced helicase gene polymorphisms combine to increase childhood type 1 diabetes risk. *Diabetes*. 2011 Dec;60(12):3300-6.
- 483- Guibas GV, Moschonis G, Xepapadaki P, Roumpedaki E, Androutsos O, Manios Y, Papadopoulou NG. Conception via in vitro fertilization and delivery by Caesarean section are associated with paediatric asthma incidence. *Clin Exp Allergy*. 2013 Sep;43(9):1058-66.
- 484- Hesselmar B, Sjöberg F, Saalman R, Aberg N, Adlerberth I, Wold AE. Pacifier cleaning practices and risk of allergy development. *Pediatrics*. 2013 Jun;131(6):e1829-37.
- 485-Penders J, Gerhold K, Stobberingh EE, Thijs C, Zimmermann K, Lau S, Hamelmann E. Establishment of the intestinal microbiota and its role for atopic dermatitis in early childhood. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Sep;132(3):601-607.e8.
- 486- Dewey KG, Nommsen-Rivers LA, Heinig MJ, Cohen RJ. Risk factors for suboptimal infant breastfeeding behavior, delayed onset of lactation, and excess neonatal weight loss. *Pediatrics*. 2003 Sep;112(3 Pt 1):607-19.
- 487- Evans KC, Evans RG, Royal R, Esterman AJ, James SL. Effect of caesarean section on breast milk transfer to the normal term newborn over the first week of life. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2003 Sep;88(5):F380-2.
- 488- Prescott SL, Macaubas C, Smallacombe T, Holt BJ, Sly PD, Holt PG. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet*. 1999 Jan 16;353(9148):196-200.
- 489- Neu J, Rushing J. Cesarean versus vaginal delivery: long-term infant outcomes and the hygiene hypothesis. *Clin Perinatol*. 2011 Jun;38(2):321-31.
- 490- Munblit D, Peroni DG, Boix-Amorós A, Hsu PS, Van't Land B, Gay MCL, et al. Human Milk and Allergic Diseases: An Unsolved Puzzle. *Nutrients*. 2017 Aug 17;9(8). pii: E894.

- 491- D'Alessandro A, Scaloni A, Zolla L. Human milk proteins: an interactomics and updated functional overview. *J Proteome Res.* 2010 Jul 2;9(7):3339-73.
- 492- Hennet T, Borsig L. Breastfed at Tiffany's. *Trends Biochem Sci.* 2016 Jun;41(6):508-518.
- 493- Rautava S, Walker WA. Academy of Breastfeeding Medicine founder's lecture 2008: breastfeeding--an extrauterine link between mother and child. *Breastfeed Med.* 2009 Mar;4(1):3-10.
- 494- Verhasselt V, Milcent V, Cazareth J, Kanda A, Fleury S, Dombrowicz D, Glaichenhaus N, Julia V. Breast milk-mediated transfer of an antigen induces tolerance and protection from allergic asthma. *Nat Med.* 2008 Feb;14(2):170-5.
- 495- Pozo-Rubio T, Capilla A, Mujico JR, de Palma G, Marcos A, Sanz Y, et al. Influence of breastfeeding versus formula feeding on lymphocyte subsets in infants at risk of coeliac disease: the PROFICEL study. *Eur J Nutr.* 2013 Mar;52(2):637-46.
- 496- Kainonen E, Rautava S, Isolauri E. Immunological programming by breast milk creates an anti-inflammatory cytokine milieu in breast-fed infants compared to formula-fed infants. *J Nutr.* 2013 Jun;109(11):1962-70.
- 497- Gale C, Logan KM, Santhakumaran S, Parkinson JR, Hyde MJ, Modi N. Effect of breastfeeding compared with formula feeding on infant body composition: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2012 Mar;95(3):656-69.
- 498- Innis SM. Human milk: maternal dietary lipids and infant development. *Proc Nutr Soc.* 2007 Aug;66(3):397-404.
- 499- Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology.* 2012 Sep;22(9):1147-62.
- 500- Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, Welling GW. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000 Jan;30(1):61-7.
- 501- Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. *Pediatrics.* 1983 Sep;72(3):317-21.
- 502- Azad MB, Konya T, Persaud RR, Guttman DS, Chari RS, Field CJ, et al. Impact of maternal intrapartum antibiotics, method of birth and breastfeeding on gut microbiota during the first year of life: a prospective cohort study. *BJOG.* 2016 May;123(6):983-93.
- 503- Forbes JD, Azad MB, Vehling L, Tun HM, Konya TB, Guttman DS, et al. Association of Exposure to Formula in the Hospital and Subsequent Infant Feeding Practices With Gut Microbiota and Risk of Overweight in the First Year of Life. *JAMA Pediatr.* 2018 Jul 2;172(7):e181161.

- 504- Forbes JD, Azad MB, et al. Canadian Healthy Infant Longitudinal Development (CHILD) Study Investigators. Association of Exposure to Formula in the Hospital and Subsequent Infant Feeding Practices With Gut Microbiota and Risk of Overweight in the First Year of Life. *JAMA Pediatr.* 2018 Jul 2;172(7):e181161.
- 505- Kaplan JL, Shi HN, Walker WA. The role of microbes in developmental immunologic programming. *Pediatr Res.* 2011 Jun;69(6):465-72.
- 506- Moossavi S, Miliku K, Sepehri S, Khafipour E, Azad MB. The Prebiotic and Probiotic Properties of Human Milk: Implications for Infant Immune Development and Pediatric Asthma. *Front Pediatr.* 2018 Jul 24;6:197.
- 507- Dethlefsen L, McFall-Ngai M, Relman DA. An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease. *Nature.* 2007 Oct 18;449(7164):811-8.
- 508- Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Björkstén B, Engstrand L, Jenmalm MC. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin Exp Allergy.* 2014 Jun;44(6):842-50.
- 509- Kozeta Miliku and Meghan B. Azad. Breastfeeding and the Developmental Origins of Asthma: Current Evidence, Possible Mechanisms, and Future Research Priorities Nutrients. 2018 Aug; 10(8): 995.
- 510- Dogaru CM, Nyffenegger D, Pescatore AM, Spycher BD, Kuehni CE. Breastfeeding and childhood asthma: systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2014 May 15;179(10):1153-67.
- 511- Sjögren YM, Tomicic S, Lundberg A, Böttcher MF, Björkstén B, Sverremark-Ekström E, Jenmalm MC. Influence of early gut microbiota on the maturation of childhood mucosal and systemic immune responses. *Clin Exp Allergy.* 2009 Dec;39(12):1842-51.
- 512- Snijders BE, Thijs C, Dagnelie PC, Stelma FF, Mommers M, Kummeling I, et al. Breast-feeding duration and infant atopic manifestations, by maternal allergic status, in the first 2 years of life (KOALA study). *J Pediatr.* 2007 Oct;151(4):347-51, 351.e1-2.
- 513- Kull I, Melen E, Alm J, Hallberg J, Svartengren M, van Hage M, et al. Breast-feeding in relation to asthma, lung function, and sensitization in young schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 May;125(5):1013-9.
- 514- Montoya J, Matta NB, Suchon P, Guzian MC, Lambert NC, Mattei JP, et al. Patients with ankylosing spondylitis have been breast fed less often than healthy controls: a case-control retrospective study. *Ann Rheum Dis.* 2016 May;75(5):879-82.
- 515- Ehlayel MS, Bener A. Duration of breast-feeding and the risk of childhood allergic diseases in a developing country. *Allergy Asthma Proc.* 2008 Jul-Aug;29(4):386-91.

- 516- Sepa A, Frodi A, Ludvigsson J. Mothers' experiences of serious life events increase the risk of diabetes-related autoimmunity in their children. *Diabetes Care*. 2005 Oct;28(10):2394-9.
- 517- Vlajinac H, Sipetić S, Marinković J, Bjekić M, Kocev N, Sajić S. The Belgrade childhood diabetes study - comparison of children with type 1 diabetes with their siblings. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2006 May;20(3):238-43.
- 518- Peng H, Hagopian W. Environmental factors in the development of Type 1 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord*. 2006 Sep;7(3):149-62.
- 519- Chen E, Miller GE, Walker HA, Arevalo JM, Sung CY, Cole SW. Genome-wide transcriptional profiling linked to social class in asthma. *Thorax*. 2009 Jan;64(1):38-43.
- 520- Ekblom A, Adami HO, Helmick CG, Jonzon A, Zack MM. Perinatal risk factors for inflammatory bowel disease: a case-control study. *Am J Epidemiol*. 1990 Dec;132(6):1111-9.
- 521- Gurven M, Kaplan H, Winking J, Finch C, Crimmins EM. Aging and inflammation in two epidemiological worlds. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008 Feb;63(2):196-9.
- 522- McDade TW, Tallman PS, Madimenos FC, Liebert MA, Cepon TJ, Sugiyama LS, Snodgrass JJ. Analysis of variability of high sensitivity C-reactive protein in lowland Ecuador reveals no evidence of chronic low-grade inflammation. *Am J Hum Biol*. 2012 Sep-Oct;24(5):675-81.
- 523- Graham A. W. Rook, Charles L. Raison, and C. A. Lowry. Childhood microbial experience, immunoregulation, inflammation and adult susceptibility to psychosocial stressors and depression in rich and poor countries. *Evol Med Public Health*. 2013; 2013(1): 14–17.
- 524- McDade TW, Rutherford J, Adair L, Kuzawa CW. Early origins of inflammation: microbial exposures in infancy predict lower levels of C-reactive protein in adulthood. *Proc Biol Sci*. 2010 Apr 7;277(1684):1129-37.
- 525- Hong HA, Khaneja R, Tam NM, Cazzato A, Tan S, Urdaci M, et al. *Bacillus subtilis* isolated from the human gastrointestinal tract. *Res Microbiol*. 2009 Mar;160(2):134-43.
- 526- Nicholson WL. Roles of *Bacillus* endospores in the environment. *Cell Mol Life Sci*. 2002 Mar;59(3):410-6.
- 527- Casula G, Cutting SM. *Bacillus* probiotics: spore germination in the gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol*. 2002 May;68(5):2344-52.
- 528- Tam NK, Uyen NQ, Hong HA, Duc le H, Hoa TT, Serra CR, et al. The intestinal life cycle of *Bacillus subtilis* and close relatives. *J Bacteriol*. 2006 Apr;188(7):2692-700.

- 529- Rhee KJ, Sethupathi P, Driks A, Lanning DK, Knight KL. Role of commensal bacteria in development of gut-associated lymphoid tissues and preimmune antibody repertoire. *J Immunol.* 2004 Jan 15;172(2):1118-24.
- 530- Hong HA, Khaneja R, Tam NM, Cazzato A, Tan S, Urdaci M, et al. *Bacillus subtilis* isolated from the human gastrointestinal tract. *Res Microbiol.* 2009 Mar;160(2):134-43.
- 531- Hong HA, To E, Fakhry S, Baccigalupi L, Ricca E, Cutting SM. Defining the natural habitat of *Bacillus* spore-formers. *Res Microbiol.* 2009 Jul-Aug;160(6):375-9.
- 532- Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, Schreuer M, Waser M, Maisch S, Carr D, et al; ALEX Study Team. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet.* 2001 Oct 6;358(9288):1129-33.
- 533- Aichbaum N, Zoratti EM, Strickler R, Wegienka G, Ownby DR, Havstad S, Johnson CC. Prenatal exposure to household pets influences fetal immunoglobulin E production. *Clin Exp Allergy.* 2008 Nov;38(11):1787-94.
- 534- Song SJ, Lauber C, Costello EK, Lozupone CA, Humphrey G, Berg-Lyons D, et al. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *Elife.* 2013 Apr 16;2:e00458.
- 535- Fujimura KE, Johnson CC, Ownby DR, Cox MJ, Brodie EL, Havstad SL, et al. Man's best friend? The effect of pet ownership on house dust microbial communities. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 Aug;126(2):410-2, 412.e1-3.
- 536- Dunn RR, Fierer N, Henley JB, Leff JW, Menninger HL. Home life: factors structuring the bacterial diversity found within and between homes. *PLoS One.* 2013 May 22;8(5):e64133.
- 537- Pakarinen J, Hyvärinen A, Salkinoja-Salonen M, Laitinen S, Nevalainen A, Mäkelä MJ, et al. Predominance of Gram-positive bacteria in house dust in the low-allergy risk Russian Karelia. *Environ Microbiol.* 2008 Dec;10(12):3317-25.
- 538- Pearl D. Houghteling, MD<sup>a,b</sup> and W. Allan Walker. From birth to 'immuno-health', allergies and enterocolitis. *J Clin Gastroenterol.* 2015 Nov-Dec; 49(0 1): S7–S12.
- 539- Braun-Fahrlander C, Gassner M, Grize L, Neu U, Sennhauser FH, Varonier HS, Vuille JC, Wüthrich B. Prevalence of hay fever and allergic sensitization in farmer's children and their peers living in the same rural community. SCARPOL team. Swiss Study on Childhood Allergy and Respiratory Symptoms with Respect to Air Pollution. *Clin Exp Allergy.* 1999 Jan;29(1):28-34.
- 540- Loss G, Apprigh S, Waser M, Kneifel W, Genuneit J, Büchele G, et al; GABRIELA study group. The protective effect of farm milk consumption on childhood asthma and atopy: the GABRIELA study. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Oct;128(4):766-773.e4.
- 541- Ege MJ, Mayer M, Normand AC, Genuneit J, Cookson WO, Braun-Fahrlander C, et al; GABRIELA Transregio 22 Study Group. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med.* 2011 Feb 24;364(8):701-9.

- 542- Alexander KL, Targan SR, Elson CO 3rd. Microbiota activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Immunol Rev.* 2014 Jul;260(1):206-20.
- 543- Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Front Immunol.* 2014 Sep 5;5:427.
- 544- Stensballe LG, Simonsen J, Jensen SM, Bønnelykke K, Bisgaard H. Use of antibiotics during pregnancy increases the risk of asthma in early childhood. *J Pediatr.* 2013 Apr;162(4):832-838.e3.
- 545- Russell SL, Gold MJ, Hartmann M, Willing BP, Thorson L, Wlodarska M, et al. Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma. *EMBO Rep.* 2012 May 1;13(5):440-7.
- 546- Metsälä J, Lundqvist A, Virta LJ, Kaila M, Gissler M, Virtanen SM. Mother's and offspring's use of antibiotics and infant allergy to cow's milk. *Epidemiology.* 2013 Mar;24(2):303-9.
- 547- Villarreal AA, Aberger FJ, Benrud R, Gundrum JD. Use of broad-spectrum antibiotics and the development of irritable bowel syndrome. *WMJ.* 2012 Feb;111(1):17-20.
- 548- Fouhy F, Guinane CM, Hussey S, Wall R, Ryan CA, Dempsey EM, et al. High-throughput sequencing reveals the incomplete, short-term recovery of infant gut microbiota following parenteral antibiotic treatment with ampicillin and gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Nov;56(11):5811-20.
- 549- Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Mar 15;108 Suppl 1:4554-61.
- 550- Azad MB, Bridgman SL, Becker AB, Kozyrskyj AL. Infant antibiotic exposure and the development of childhood overweight and central adiposity. *Int J Obes (Lond).* 2014 Oct;38(10):1290-8.
- 551- Kilkkinen A, Virtanen SM, Klaukka T, Kenward MG, Salkinoja-Salonen M, Gissler M, et al. Use of antimicrobials and risk of type 1 diabetes in a population-based mother-child cohort. *Diabetologia.* 2006 Jan;49(1):66-70.
- 552- Hviid A, Svanström H, Frisch M. Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. *Gut.* 2011 Jan;60(1):49-54.
- 553- Murk W, Risnes KR, Bracken MB. Prenatal or early-life exposure to antibiotics and risk of childhood asthma: a systematic review. *Pediatrics.* 2011 Jun;127(6):1125-38.
- 554- van Nimwegen FA, Penders J, Stobberingh EE, Postma DS, Koppelman GH, Kerkhof M, et al. Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Nov;128(5):948-55.e1-3.

555- Gonzalez-Perez G, Hicks AL, Tekieli TM, Radens CM, Williams BL, Lamou  -Smith ES. Maternal Antibiotic Treatment Impacts Development of the Neonatal Intestinal Microbiome and Antiviral Immunity. *J Immunol*. 2016 May 1;196(9):3768-79.

556- Aloisio I, Quagliariello A, De Fanti S, Luiselli D, De Filippo C, Albanese D, et al. Evaluation of the effects of intrapartum antibiotic prophylaxis on newborn intestinal microbiota using a sequencing approach targeted to multi hypervariable 16S rDNA regions. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016 Jun;100(12):5537-46.

557- Aloisio I, Mazzola G, Corvaglia LT, 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. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014 Jul;98(13):6051-60.

558- Corvaglia L, Tonti G, Martini S, Aceti A, Mazzola G, Aloisio I, Di Gioia D, Faldella G. Influence of Intrapartum Antibiotic Prophylaxis for Group B Streptococcus on Gut Microbiota in the First Month of Life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016 Feb;62(2):304-8.

559- Mazzola G, Murphy K, Ross RP, Di Gioia D, Biavati B, Corvaglia LT, Faldella G, Stanton C. Early Gut Microbiota Perturbations Following Intrapartum Antibiotic Prophylaxis to Prevent Group B Streptococcal Disease. *PLoS One*. 2016 Jun 22;11(6):e0157527.

560- Fahima Madouri. Asthme allergique induit par un allergène d'acarien, House Dust Mite (HDM) : r  les de la caspase-1 et de la protéine kinase C th  ta (PKC-  ). *Allergologie*. Universit   d'Orléans, 2014. ffnnt : 2014ORLE2055ff. fftel-01374855f

561- Shannon L Russell, Matthew J Gold, Martin Hartmann, Benjamin P Willing, Lisa Thorson, Marta Wlodarska, et al. Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma *EMBO Rep*. 2012 May; *Scientific Reports*.

562- Russell SL, Gold MJ, Willing BP, Thorson L, McNagny KM, Finlay BB. Perinatal antibiotic treatment affects murine microbiota, immune responses and allergic asthma. *Gut Microbes*. 2013 Mar-Apr;4(2):158-64.

563- Hill DA, Artis D. Intestinal bacteria and the regulation of immune cell homeostasis. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:623-67.

564- Oyama N, Sudo N, Sogawa H, Kubo C. Antibiotic use during infancy promotes a shift in the T(H)1/T(H)2 balance toward T(H)2-dominant immunity in mice. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Jan;107(1):153-9.

565- Bashir ME, Louie S, Shi HN, Nagler-Anderson C. Toll-like receptor 4 signaling by intestinal microbes influences susceptibility to food allergy. *J Immunol*. 2004 Jun 1;172(11):6978-87.

566- Alm B, Erdes L, M  llborg P, Pettersson R, Norvenius SG, Aberg N, Wennergren G. Neonatal antibiotic treatment is a risk factor for early wheezing. *Pediatrics*. 2008 Apr;121(4):697-702.

- 567- Alm B, Goksör E, Pettersson R, Möllborg P, Erdes L, Loid P, Aberg N, Wennergren G. Antibiotics in the first week of life is a risk factor for allergic rhinitis at school age. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014 Aug;25(5):468-72.
- 568- Marra F, Marra CA, Richardson K, Lynd LD, Fitzgerald MJ. Antibiotic consumption in children prior to diagnosis of asthma. *BMC Pulm Med*. 2011 May 31;11:32.
- 569- World Health Organization. (18/04/2018) WHO guidelines on hand hygiene in health care: first global patient safety challenge. Geneva: World Health Organization; 2009
- 570- Beggs C, Knibbs LD, Johnson GR, Morawska L. Environmental contamination and hospital-acquired infection: factors that are easily overlooked. *Indoor Air*. 2015 Oct;25(5):462-74.
- 571- World Health Organization. (09/03/2019) The global water supply and sanitation assessment. Geneva: World Health Organisation; 2000
- 572- Black RE, Dykes AC, Anderson KE, Wells JG, Sinclair SP, Gary GW Jr, et al. Handwashing to prevent diarrhea in day-care centers. *Am J Epidemiol*. 1981 Apr;113(4):445-51.
- 573- Bartlett AV, Jarvis BA, Ross V, Katz TM, Dalia MA, Englender SJ, Anderson LJ. Diarrheal illness among infants and toddlers in day care centers: effects of active surveillance and staff training without subsequent monitoring. *Am J Epidemiol*. 1988 Apr;127(4):808-17.
- 574- Roberts L, Smith W, Jorm L, Patel M, Douglas RM, McGilchrist C. Effect of infection control measures on the frequency of upper respiratory infection in child care: a randomized, controlled trial. *Pediatrics*. 2000 Apr;105(4 Pt 1):738-42.
- 575- Aiello AE, Larson EL. What is the evidence for a causal link between hygiene and infections? *Lancet Infect Dis*. 2002 Feb;2(2):103-10.
- 576- Curtis V, Cairncross S. Effect of washing hands with soap on diarrhoea risk in the community: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2003 May;3(5):275-81.
- 577- Aiello AE, Coulborn RM, Perez V, Larson EL. Effect of hand hygiene on infectious disease risk in the community setting: a meta-analysis. *Am J Public Health*. 2008 Aug;98(8):1372-81.
- 578-Rabie T, Curtis V. Handwashing and risk of respiratory infections: a quantitative systematic review. *Trop Med Int Health*. 2006 Mar;11(3):258-67.
- 579- Snelling AM, Saville T, Stevens D, Beggs CB. Comparative evaluation of the hygienic efficacy of an ultra-rapid hand dryer vs conventional warm air hand dryers. *J Appl Microbiol*. 2011 Jan;110(1):19-26.

- 580- Best EL, Redway K. Comparison of different hand-drying methods: the potential for airborne microbe dispersal and contamination. *J Hosp Infect.* 2015 Mar;89(3):215-7.
- 581- Kimmitt PT, Redway KF. Evaluation of the potential for virus dispersal during hand drying: a comparison of three methods. *J Appl Microbiol.* 2016 Feb;120(2):478-86.
- 582- Staley JT, Konopka A. Measurement of in situ activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. *Annu Rev Microbiol.* 1985;39:321-46.
- 583- Rappé MS, Giovannoni SJ. The uncultured microbial majority. *Annu Rev Microbiol.* 2003;57:369-94.
- 584- Kong HH, Andersson B, Clavel T, Common JE, Jackson SA, Olson ND, et al. Performing Skin Microbiome Research: A Method to the Madness. *J Invest Dermatol.* 2017 Mar;137(3):561-568.
- 585- Kong HH, Segre JA. The Molecular Revolution in Cutaneous Biology: Investigating the Skin Microbiome. *J Invest Dermatol.* 2017 May;137(5):e119-e122.
- 586- Zapka C, Leff J, Henley J, Tittl J, De Nardo E, Butler M, et al. Comparison of Standard Culture-Based Method to Culture-Independent Method for Evaluation of Hygiene Effects on the Hand Microbiome. *MBio.* 2017 Mar 28;8(2). pii: e00093-17.
- 587- Somerville-Millar DA, Noble WC. Resident and transient bacteria of the skin. *J Cutan Pathol.* 1974;1(6):260-4.
- 588- Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet.* 2012 Mar 13;13(4):260-70. doi: 10.1038/nrg3182.
- 589- Price PB. The bacteriology of normal skin; a new quantitative test applied to a study of the bacterial flora and the disinfectant action of mechanical cleansing. *J Infect Dis.* 1938;1938:301-18.
- 590- Pittet D, Dharam S, Touveneau S, Sauvan V, Perneger TV. Bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care. *Arch Intern Med.* 1999 Apr 26;159(8):821-6.
- 591- Cogen AL, Nizet V, Gallo RL. Br. Skin microbiota: a source of disease or defence? *J Dermatol.* 2008 Mar;158(3):442-55.
- 592- Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2011 Apr;9(4):244-53.
- 593- Uçkay I, Pittet D, Vaudaux P, Sax H, Lew D, Waldvogel F. Foreign body infections due to *Staphylococcus epidermidis*. *Ann Med.* 2009;41(2):109-19.
- 594- Naik S, Bouladoux N, Wilhelm C, Molloy MJ, Salcedo R, Kastentmuller W, et al. Compartmentalized control of skin immunity by resident commensals. *Science.* 2012 Aug 31;337(6098):1115-9.

- 595- Weber J, Illi S, Nowak D, Schierl R, Holst O, von Mutius E, Ege MJ. Asthma and the hygiene hypothesis. Does cleanliness matter? *Am J Respir Crit Care Med*. 2015 Mar 1;191(5):522-9.
- 596- van Strien RT, Engel R, Holst O, Bufer A, Eder W, Waser M, et al; ALEX Study Team. Microbial exposure of rural school children, as assessed by levels of N-acetyl-muramic acid in mattress dust, and its association with respiratory health. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 May;113(5):860-7.
- 597- Sprunt K, Redman W, Leidy G. Antibacterial effectiveness of routine hand washing. *Pediatrics*. 1973 Aug;52(2):264-71.
- 598- Pessoa-Silva CL, Dharan S, Hugonnet S, Touveneau S, Posfay-Barbe K, Pfister R, Pittet D. Dynamics of bacterial hand contamination during routine neonatal care. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004 Mar;25(3):192-7.
- 599- Mackintosh CA, Hoffman PN. An extended model for transfer of micro-organisms via the hands: differences between organisms and the effect of alcohol disinfection. *J Hyg (Lond)*. 1984 Jun;92(3):345-55.
- 600- Roo Vandegrift, Ashley C. Bateman, Kyla N. Siemens, May Nguyen, et al. Cleanliness in context: reconciling hygiene with a modern microbial perspective *Microbiome*. 2017; 5: 76.  
Published online 2017 Jul 14.
- 601- Higaki S, Morohashi M, Yamagishi T, Hasegawa Y. Comparative study of staphylococci from the skin of atopic dermatitis patients and from healthy subjects. *Int J Dermatol*. 1999 Apr;38(4):265-9.
- 602- Sanford JA, Gallo RL. Functions of the skin microbiota in health and disease. *Semin Immunol*. 2013 Nov 30;25(5):370-7.
- 603- Williams MR, Gallo RL. The role of the skin microbiome in atopic dermatitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015 Nov;15(11):65.
- 604- Kong HH, Oh J, Deming C, Conlan S, Grice EA, Beatson MA, et al. Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. *Genome Res*. 2012 May;22(5):850-9.
- 605- Bloomfield SF, Rook GA, Scott EA, Shanahan F, Stanwell-Smith R, Turner P. Time to abandon the hygiene hypothesis: new perspectives on allergic disease, the human microbiome, infectious disease prevention and the role of targeted hygiene. *Perspect Public Health*. 2016 Jul;136(4):213-24.
- 606- Megan Scudellari. Immunology and Inflammation, Environmental Sciences  
News Feature: Cleaning up the hygiene hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Feb 14; 114(7): 1433–1436.

- 607- Bloomfield SF, Exner M, Fara GM, Nath KJ, Scott EA, Van der Voorden C. The global burden of hygiene-related diseases in relation to the home and community. International Scientific Forum on Home Hygiene 2009. [en ligne] <http://www.ifh-homehygiene.org/review/global-burden-hygiene-related-diseases-relation-home-and-community>
- 608- Little P, Stuart B, Hobbs FD, Moore M, Barnett J, Popoola D, et al. An internet-delivered handwashing intervention to modify influenza-like illness and respiratory infection transmission (PRIMIT): a primary care randomised trial. *Lancet*. 2015 Oct 24;386(10004):1631-9.
- 609- Winther B, McCue K, Ashe K, Rubino J, Hendley JO. Rhinovirus contamination of surfaces in homes of adults with natural colds: transfer of virus to fingertips during normal daily activities. *J Med Virol*. 2011 May;83(5):906-9.
- 610- Presentation at the 2012 General Meeting of the American Society for Microbiology (25/03/2019) The most contaminated surfaces in hotel rooms. San Francisco, CA, 16–19 June 2012 [en ligne] [http://www.eurekalert.org/pub\\_releases/2012-06/asfm-tmc061312.php](http://www.eurekalert.org/pub_releases/2012-06/asfm-tmc061312.php)
- 611- Bloomfield SF, Exner M, Fara GM, Nath KJ, Scott EA, Van der Voorden C. The global burden of hygiene-related diseases in relation to the home and community. International Scientific Forum on Home Hygiene 2009. [en ligne] <http://www.ifh-homehygiene.org/review/global-burden-hygiene-related-diseases-relation-home-and-community>
- 612- Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. 2008 Feb 21;451(7181):990-3.
- 613- World Health Organization (WHO). (16/08/2019) global influenza preparedness plan: The role of WHO and recommendations for national measures before and during pandemics. Geneva: WHO, 2005. [en ligne] [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/68998/1/WHO\\_CDS\\_CSR\\_GIP\\_2005.5.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/68998/1/WHO_CDS_CSR_GIP_2005.5.pdf)
- 614- Behling RG, Eifert J, Erickson MC, Gurtler JB, Kornacki JL, Line E, et al. Selected pathogens of concern to industrial food processors: Infectious, toxigenic, toxico-infectious, selected emerging pathogenic bacteria. In Kornacki JL, editor. (ed.) Principles of Microbiological Troubleshooting in the Industrial Food Processing Environment. New York: Springer, 2010, pp. 5–61.
- 615- Hall AJ. Noroviruses: the perfect human pathogens? *J Infect Dis*. 2012 Jun;205(11):1622-4.
- 616- European centre for disease prevention and control. (22/04/2019) Recommendations for future collaboration between the U.S. and EU. Transatlantic Taskforce on Antimicrobial Resistance, 2011. [en ligne] [http://ecdc.europa.eu/en/activities/diseaseprogrammes/TATFAR/Documents/210911\\_TATFAR\\_Report.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/activities/diseaseprogrammes/TATFAR/Documents/210911_TATFAR_Report.pdf)

- 617- Home Hygiene and Health. Bloomfield SF. Spread of antibiotic resistant strains in the home and community. International Scientific Forum on Home Hygiene 2013. [en ligne] <http://www.ifh-homehygiene.org/review/spread-antibiotic-resistant-strains-home-and-community>
- 618- Dominguez-Bello MG, De Jesus-Laboy KM, Shen N, Cox LM, Amir A, Gonzalez A, et al. Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nat Med*. 2016 Mar;22(3):250-3.
- 619- Vitaliti G, Pavone P, Guglielmo F, Spataro G, Falsaperla R. The immunomodulatory effect of probiotics beyond atopy: an update. *J Asthma*. 2014 Apr;51(3):320-32.
- 620- Luis Vitetta, Gemma Vitetta, Sean Hall. Immunological Tolerance and Function: Associations Between Intestinal Bacteria, Probiotics, Prebiotics, and Phages. *Front Immunol*. 2018; 9: 2240.
- 621- Makrgeorgou A, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall FJ, Murrell DF, Tang ML, Roberts A, Boyle RJ. Probiotics for treating eczema. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Nov 21;11:CD006135.
- 622- Bezirtzoglou E, Stavropoulou E. Immunology and probiotic impact of the newborn and young children intestinal microflora. *Anaerobe*. 2011 Dec;17(6):369-74.
- 623- Bodera P, Chcialowski A. Immunomodulatory effect of probiotic bacteria. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2009 Jan;3(1):58-64.
- 624- Pot B, Foligné B, Daniel C, Grangette C. Understanding immunomodulatory effects of probiotics. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*. 2013;77:75-90.
- 625- Schabussova I, Hufnagl K, Wild C, Nutten S, Zuercher AW, Mercenier A, Wiedermann U. Distinctive anti-allergy properties of two probiotic bacterial strains in a mouse model of allergic poly-sensitization. *Vaccine*. 2011 Feb 24;29(10):1981-90.
- 626- Valladares R, Sankar D, Li N, Williams E, Lai KK, Abdelgeliel AS, et al. *Lactobacillus johnsonii* N6.2 mitigates the development of type 1 diabetes in BB-DP rats. *PLoS One*. 2010 May 6;5(5):e10507.
- 627- Rausch S, Held J, Fischer A, Heimesaat MM, Kühl AA, Bereswill S, Hartmann S. Small intestinal nematode infection of mice is associated with increased enterobacterial loads alongside the intestinal tract. *PLoS One*. 2013 Sep 10;8(9):e74026.
- 628- Schultz M, Veltkamp C, Dieleman LA, Grenther WB, Wyrick PB, Tonkonogy SL, Sartor RB. *Lactobacillus plantarum* 299V in the treatment and prevention of spontaneous colitis in interleukin-10-deficient mice. *Inflamm Bowel Dis*. 2002 Mar;8(2):71-80.
- 629- Nanda Kumar NS, Balamurugan R, Jayakanthan K, Pulimood A, Pugazhendhi S, Ramakrishna BS. Probiotic administration alters the gut flora and attenuates colitis in mice administered dextran sodium sulfate. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008 Dec;23(12):1834-9.

- 630- Calcinaro F, Dionisi S, Marinaro M, Candeloro P, Bonato V, Marzotti S, et al. Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Diabetologia*. 2005 Aug;48(8):1565-75. Epub 2005 Jun 29.
- 631- Duan FF, Liu JH, March JC. Engineered commensal bacteria reprogram intestinal cells into glucose-responsive insulin-secreting cells for the treatment of diabetes. *Diabetes*. 2015 May;64(5):1794-803.
- 632- Calcinaro F, Dionisi S, Marinaro M, Candeloro P, Bonato V, Marzotti S, et al. Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Diabetologia*. 2005 Aug;48(8):1565-75. Epub 2005 Jun 29.
- 633- Tang ML, Ponsonby AL, Orsini F, Tey D, Robinson M, Su EL, Licciardi P, Burks W, Donath S. Administration of a probiotic with peanut oral immunotherapy: A randomized trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Mar;135(3):737-44.e8.
- 634- Abrahamsson TR, Jakobsson T, Björkstén B, Oldaeus G, Jenmalm MC. No effect of probiotics on respiratory allergies: a seven-year follow-up of a randomized controlled trial in infancy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013 Sep;24(6):556-61.
- 635- Boyle RJ, Bath-Hextall FJ, Leonardi-Bee J, Murrell DF, Tang ML. Probiotics for the treatment of eczema: a systematic review. *Clin Exp Allergy*. 2009 Aug;39(8):1117-27.
- 636- Feighery LM, Smith P, O'Mahony L, Fallon PG, Brayden DJ. Effects of *Lactobacillus salivarius* 433118 on intestinal inflammation, immunity status and in vitro colon function in two mouse models of inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci*. 2008 Sep;53(9):2495-506.
- 637- Cummings JH, Macfarlane GT, Englyst HN. Prebiotic digestion and fermentation. *Am J Clin Nutr*. 2001 Feb;73(2 Suppl):415S-420S.
- 638- Wong JM, de Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol*. 2006 Mar;40(3):235-43.
- 639- Park J, Kim M, Kang SG, Jannasch AH, Cooper B, Patterson J, Kim CH. Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR-S6K pathway. *Mucosal Immunol*. 2015 Jan;8(1):80-93.
- 640- Arslanoglu S, Moro GE, Schmitt J, Tandoi L, Rizzardi S, Boehm G. Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. *J Nutr*. 2008 Jun;138(6):1091-5.
- 641- Vos AP, van Esch BC, Stahl B, M'Rabet L, Folkerts G, Nijkamp FP, Garssen. Dietary supplementation with specific oligosaccharide mixtures decreases parameters of allergic asthma in mice. *J. Int Immunopharmacol*. 2007 Dec 5;7(12):1582-7.

- 642- Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2001 Apr 7;357(9262):1076-9.
- 643- Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2003 May 31;361(9372):1869-71.
- 644- Abrahamsson TR, Jakobsson T, Böttcher MF, Fredrikson M, Jenmalm MC, Björkstén B, Oldaeus G. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 May;119(5):1174-80. Epub 2007 Mar 8.
- 645- de Kivit S, Saeland E, Kraneveld AD, van de Kant HJ, Schouten B, van Esch BC, et al. Galectin-9 induced by dietary synbiotics is involved in suppression of allergic symptoms in mice and humans. *Allergy*. 2012 Mar;67(3):343-52.
- 646- van der Aa LB, Heymans HS, van Aalderen WM, Sillevis Smitt JH, Knol J, Ben Amor K, et al. Effect of a new synbiotic mixture on atopic dermatitis in infants: a randomized-controlled trial. *Clin Exp Allergy*. 2010 May;40(5):795-804.
- 647- van der Aa LB, van Aalderen WM, Heymans HS, Henk Sillevis Smitt J, Nauta AJ, et al; Synbad Study Group. Synbiotics prevent asthma-like symptoms in infants with atopic dermatitis. *Allergy*. 2011 Feb;66(2):170-7.
- 648- Furrie E, Macfarlane S, Kennedy A, Cummings JH, Walsh SV, O'neil DA, Macfarlane GT. Synbiotic therapy (*Bifidobacterium longum*/Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomised controlled pilot trial. *Gut*. 2005 Feb;54(2):242-9.
- 649- Apiwattanakul N, Thomas PG, Iverson AR, McCullers JA. Chronic helminth infections impair pneumococcal vaccine responses. *Vaccine*. 2014 Sep 22;32(42):5405-10. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.07.107.
- 650- Bobat S, Darby M, Mrdjen D, Cook C, Logan E, Auret J, et al. Natural and vaccine-mediated immunity to *Salmonella Typhimurium* is impaired by the helminth *Nippostrongylus brasiliensis*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Dec 4;8(12):e3341.
- 651- Fleming JO, Weinstock JV. Clinical trials of helminth therapy in autoimmune diseases: rationale and findings. *Parasite Immunol*. 2015 Jun;37(6):277-92. doi: 10.1111/pim.12175.
- 652- Fleming J, Hernandez G, Hartman L, Maksimovic J, Nace S, Lawler B, et al. Safety and efficacy of helminth treatment in relapsing-remitting multiple sclerosis: Results of the HINT 2 clinical trial. *Mult Scler*. 2019 Jan;25(1):81-91.
- 653- Sandborn WJ, Elliott DE, Weinstock J, Summers RW, Landry-Wheeler A, Silver N, Harnett MD, Hanauer SB. Randomised clinical trial: the safety and tolerability of *Trichuris suis* ova in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013 Aug;38(3):255-63.

- 654- Croese J, O'neil J, Masson J, Cooke S, Melrose W, Pritchard D, Speare R. A proof of concept study establishing *Necator americanus* in Crohn's patients and reservoir donors. *Gut*. 2006 Jan;55(1):136-7.
- 655- Summers RW, Elliott DE, Qadir K, Urban JF Jr, Thompson R, Weinstock JV. *Trichuris suis* seems to be safe and possibly effective in the treatment of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2003 Sep;98(9):2034-41.
- 656- Summers RW, Elliott DE, Urban JF Jr, Thompson RA, Weinstock JV. *Trichuris suis* therapy for active ulcerative colitis: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 2005 Apr;128(4):825-32.
- 657- Hewitson JP, Grainger JR, Maizels RM. Helminth immunoregulation: the role of parasite secreted proteins in modulating host immunity. *Mol Biochem Parasitol*. 2009 Sep;167(1):1-11.
- 658- McSorley HJ, O'Gorman MT, Blair N, Sutherland TE, Filbey KJ, Maizels RM. Suppression of type 2 immunity and allergic airway inflammation by secreted products of the helminth *Heligmosomoides polygyrus*. *Eur J Immunol*. 2012 Oct;42(10):2667-82.
- 659- McSorley HJ, Blair NF, Smith KA, McKenzie AN, Maizels RM. Blockade of IL-33 release and suppression of type 2 innate lymphoid cell responses by helminth secreted products in airway allergy. *Mucosal Immunol*. 2014 Sep;7(5):1068-78.
- 660- Ruysers NE, De Winter BY, De Man JG, Loukas A, Pearson MS, et al. Therapeutic potential of helminth soluble proteins in TNBS-induced colitis in mice. *Inflamm Bowel Dis*. 2009 Apr;15(4):491-500.
- 661- Schnoeller C, Rausch S, Pillai S, Avagyan A, Wittig BM, Loddenkemper C, et al. A helminth immunomodulator reduces allergic and inflammatory responses by induction of IL-10-producing macrophages. *J Immunol*. 2008 Mar 15;180(6):4265-72.
- 662- Ferreira I, Smyth D, Gaze S, Aziz A, Giacomini P, Ruysers N, et al. Hookworm excretory/secretory products induce interleukin-4 (IL-4)<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T cell responses and suppress pathology in a mouse model of colitis. *Infect Immun*. 2013 Jun;81(6):2104-11.
- 663- Zaccane P, Fehérvári Z, Jones FM, Sidobre S, Kronenberg M, Dunne DW, Cooke A. *Schistosoma mansoni* antigens modulate the activity of the innate immune response and prevent onset of type 1 diabetes. *Eur J Immunol*. 2003 May;33(5):1439-49.
- 664- Reynolds LA, Smith KA, Filbey KJ, Harcus Y, Hewitson JP, Redpath SA, et al. Commensal-pathogen interactions in the intestinal tract: lactobacilli promote infection with, and are promoted by, helminth parasites. *Gut Microbes*. 2014 Jul 1;5(4):522-32.
- 665- Walk ST, Blum AM, Ewing SA, Weinstock JV, Young VB. Alteration of the murine gut microbiota during infection with the parasitic helminth *Heligmosomoides polygyrus*. *Inflamm Bowel Dis*. 2010 Nov;16(11):1841-9.

666- Lyons A, O'Mahony D, O'Brien F, MacSharry J, Sheil B, Ceddia M, et al. Bacterial strain-specific induction of Foxp3+ T regulatory cells is protective in murine allergy models. *Clin Exp Allergy*. 2010 May;40(5):811-9.

667- Zeevi D, Korem T, Zmora N, Israeli D, Rothschild D, Weinberger A, et al. Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses. *Cell*. 2015 Nov 19;163(5):1079-1094.

## SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) 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.

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(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

TITRE : EXPOSITION ANTIGENIQUE DANS LA PETITE ENFANCE : INTERET A L'OFFICINE

RESUME: Les maladies immunitaires telles que les allergies ou les pathologies auto-immunes sont causées par une conjonction de facteurs génétiques et environnementaux. Elles sont un enjeu de santé publique de par l'augmentation de leur prévalence au cours des dernières décennies. Il s'avère que l'exposition aux antigènes de l'environnement extérieur après la naissance et durant la petite enfance pourrait être une des causes de pathologies immunitaires diverses plus tard dans la vie. Cette thèse a donc pour objectif d'identifier les causes possibles de développement de ces pathologies par l'étude de l'exposition aux antigènes de l'environnement qui contribuent à façonner le système immunitaire d'un individu.

TITLE: ANTIGENIC EXPOSURE IN EARLY CHILDHOOD : PHARMACEUTICAL INTEREST

ABSTRACT: Immune diseases such as allergies or autoimmune diseases are caused by a combination of genetic and environmental factors. They are a public health issue due to the increase of their prevalence in recent decades. Exposure to antigens from the outside environment after birth and during infancy could be one of the causes of various immune pathologies later in life. This thesis attempts to identify the possible causes of development of these pathologies by studying the exposure to environmental antigens that contribute to shaping the immune system of a human.

DISCIPLINE: Pharmacie, Immunologie

MOTS-CLES : exposition antigénique, naissance, petite enfance, immunologie

KEYWORDS : antigenic exposure, birth, childhood, immunology

UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES  
146 rue Léo SAIGNAT, 33076 BORDEAUX CEDEX