

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

Année 2020

Thèse n°24

THÈSE POUR L'OBTENTION DU  
**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement  
Par Amélie ROUSSEL-DUPRE  
Née le 10 Juillet 1992 à Saint-Maurice

Le 20 Décembre 2019

**ROLE DU MICROBIOTE INTESTINAL SUR LE RISQUE  
PALUSTRE ET MISE EN PERSPECTIVE DE THERAPIES  
ANTIPALUDIQUES INNOVANTES**

Sous la direction de Catherine CHEZE

Membres du Jury :

Alain DECENDIT

Président

Catherine CHEZE

Directrice

Stéphane LEDOUX

Pharmacien d'officine

## REMERCIEMENTS

*J'adresse ma gratitude la plus sincère à ma directrice de thèse, Mme Catherine Chèze, qui a su donner de son temps malgré son départ à la retraite et sans qui ce travail n'aurait pu aboutir.*

*Je tiens à remercier Alain Decendit d'avoir accepté de présider ce jury et de m'avoir ouverte au monde de la mycologie. Les sorties champignons font désormais partie de mes activités incontournables.*

*Un grand merci à Stéphane Ledoux d'avoir accepté de compléter ce jury malgré de nouvelles opportunités loin du Sud-Ouest.*

*À ma sœur adorée, Lucile, pour ses conseils et ses encouragements. Merci d'être toujours présente et prévenante quoiqu'il arrive.*

*À ma famille que j'aime et qui me manque tant. Mes parents pour leur amour inconditionnel et leur soutien sans faille en toute circonstance, ainsi que ma marraine, mon parrain et mes grands-parents. Une pensée pour mamie Léone et papi Laurent qui, j'en suis sûre, me guident de là-haut.*

*À Adélie, pour notre complicité fraternelle et nos fous rires sans fin.*

*À mes amis de Guadeloupe, Charlotte, Jade, Maxime et Joy, pour leur amitié inestimable qui surpasse le temps et les frontières.*

*À mes familles d'adoption, les Paradis et les Etesse, pour leur accueil toujours chaleureux et leur bienveillance.*

*À mes amis d'université, partenaires de rires et de galères ! Elodie, pour ta grande loyauté et ta gentillesse infinie. Mélissa, Camille et Lore, pour toutes nos soirées raclette passées et à venir ... vous êtes si loin !*

*À toute la fine équipe de la pharmacie du Musée, Mirane, Felana et Romain, pour leur joie de vivre sans limite, et aux pharmaciens Christophe et Laurence, pour leur confiance accordée lors de mes premiers remplacements que je n'oublierai jamais.*

*À l'association E-pharmaDom.*

*À mes professeurs, M. Bonbon et M. Kimboo, et à mon professeur de violon M. Sidambarom.*

*Et enfin, bien évidemment, à mon compagnon Camille, pour ses relectures et son soutien quotidien. Merci d'être à mes côtés et de faire de moi une personne meilleure. Une nouvelle page s'ouvre à nous !*

*Sans oublier Jeka et Kimy pour la ronronthérapie, et Marty pour les siestes dans le hamac...*

# TABLE DES MATIERES

Index des figures .....	6
Index des tableaux .....	7
Liste des abréviations .....	8
Glossaire.....	9
Introduction .....	10
1. Généralités et actualités du paludisme .....	12
1.1. Épidémiologie .....	12
1.1.1. Agents pathogènes.....	12
1.1.1.1. Plasmodium falciparum .....	13
1.1.1.2. Plasmodium vivax.....	14
1.1.1.3. Plasmodium ovale .....	14
1.1.1.4. Plasmodium malariae .....	14
1.1.1.5. Plasmodium knowlesi .....	14
1.1.2. Vecteur .....	15
1.1.2.1. Appareil digestif du moustique .....	16
1.1.2.2. Cycle biologique .....	17
1.1.3. Cycle parasitaire .....	18
1.1.3.1. Chez l'Homme .....	19
1.1.3.2. Chez l'anophèle .....	19
1.1.4. Répartition géographique .....	20
1.1.5. Particularités épidémiologiques .....	21
1.1.5.1. Immunité antipaludique .....	21
1.1.5.1.1. Protection naturelle.....	21
1.1.5.1.2. Immunité adaptative .....	21
1.1.5.2. Populations à risque .....	22
1.2. Diagnostic.....	23
1.2.1. Diagnostic clinique.....	23
1.2.2. Diagnostic biologique .....	24
1.3. Stratégies de lutte .....	25
1.3.1. Prévention.....	25
1.3.1.1. Lutte antivectorielle .....	25

1.3.1.1.1.	Prévention individuelle.....	25
1.3.1.1.2.	Prévention collective .....	26
1.3.1.2.	Chimioprophylaxie .....	26
1.3.2.	Traitements curatifs.....	29
1.3.1.	Phénomènes de résistance .....	31
1.3.1.1.	Résistance des anophèles aux insecticides.....	31
1.3.1.2.	Résistance des plasmodiums aux médicaments antipaludiques.....	31
1.4.	Recherche en stratégies de lutte innovantes .....	33
1.4.1.	Vaccins .....	33
1.4.1.1.	RTS,S/AS01 .....	33
1.4.1.2.	GAP3KO.....	34
1.4.2.	Étude du microbiote intestinal de l’anophèle .....	34
1.4.2.1.	Goulot d’étranglement du cycle plasmodial .....	34
1.4.2.2.	Mécanismes bactériens affectant la capacité vectorielle.....	35
1.4.2.3.	Limites et défis.....	36
2.	Les grands principes du microbiote intestinal .....	38
2.1.	Composition et diversité inter-individuelle.....	38
2.2.	Organisation dans l’espace.....	40
2.3.	Acquisition de la flore intestinale chez l’enfant.....	42
2.3.1.	Période néonatale .....	43
2.3.1.1.	Colonisation in utero.....	43
2.3.1.2.	Naissance et mode d’accouchement .....	43
2.3.1.3.	Terme de grossesse .....	45
2.3.2.	Alimentation infantile .....	46
2.3.2.1.	Allaitement.....	46
2.3.2.2.	Préparations lactées.....	47
2.3.2.3.	Sevrage.....	48
2.3.3.	Antibiothérapies .....	48
2.3.4.	Hypothèse hygiéniste .....	49
2.4.	Évolution de la flore intestinale adulte.....	50
2.4.1.	Influence de l’âge .....	50
2.4.2.	Facteurs environnementaux.....	51
2.4.2.1.	Géographie, conditions de vie et régime alimentaire.....	51
2.4.2.2.	Antibiothérapies .....	53

2.5.	De la physiologie à la pathologie .....	54
2.5.1.	Rôle du microbiote intestinal .....	55
2.5.1.1.	Fonctions immunitaires.....	55
2.5.1.1.1.	Effet barrière.....	55
2.5.1.1.2.	Induction et éducation du système immunitaire .....	56
2.5.1.2.	Fonctions métaboliques et nutritionnelles .....	56
2.5.1.2.1.	Métabolisme des glucides.....	57
2.5.1.2.2.	Métabolisme des protéines .....	58
2.5.1.2.3.	Rôle de détoxification .....	60
2.5.1.2.4.	Synthèse de vitamines .....	60
2.5.2.	Conséquence de la dysbiose intestinale en pathologie.....	60
2.6.	Traitements basés sur la modulation du microbiote intestinal .....	62
2.6.1.	Transplantation fécale .....	62
2.6.2.	Probiotiques, prébiotiques et symbiotiques.....	62
3.	Interactions des microbiotes intestinaux de mammifères avec Plasmodium spp. ....	66
3.1.	Microbiote intestinal et risque d'infection à Plasmodium spp. ....	66
3.1.1.	Immunité anti- $\alpha$ -Gal.....	66
3.1.1.1.	Mécanismes évolutifs de l'immunité anti- $\alpha$ -Gal.....	67
3.1.1.2.	Expression d' $\alpha$ -Gal par Plasmodium spp.....	68
3.1.1.3.	Bactéries intestinales et production d'anticorps anti- $\alpha$ -Gal .....	68
3.1.1.3.1.	Études chez les mammifères.....	68
3.1.1.3.2.	Anticorps anti- $\alpha$ -Gal naturels chez l'Homme.....	69
3.1.1.4.	IgM anti- $\alpha$ -Gal cytotoxiques envers les sporozoïtes.....	69
3.1.2.	Caractérisation d'entérotypes protecteurs .....	71
3.2.	Microbiote intestinal et risque de paludisme grave.....	71
3.3.	Dysbiose intestinale associée à l'infection à Plasmodium spp. ....	72
3.4.	Perspectives thérapeutiques dans la prophylaxie antipaludique .....	73
3.4.1.	Immunisation anti- $\alpha$ -Gal .....	73
3.4.1.1.	Vaccins injectables glycoconjugués .....	74
3.4.1.2.	Vaccins oraux à base de probiotiques .....	74
3.4.2.	Modulation du microbiote intestinal .....	75
	Conclusion.....	77
	Références bibliographiques .....	78

## INDEX DES FIGURES

Figure 1. Frottis de sang : <i>P. falciparum</i> , trophozoïtes, parasitémie à environ 12 % (MGG ; x 1000).....	13
Figure 2. Frottis de sang : <i>P. falciparum</i> , gamétocyte (MGG ; x 1000).....	13
Figure 3. Goutte épaisse : <i>P. falciparum</i> , trophozoïtes ; deux globules blancs (Giemsa) .....	13
Figure 4. Photographie d'un anophèle femelle se gorgeant de sang humain .....	15
Figure 5. Anatomie interne d'un moustique femelle.....	16
Figure 6. Cycle évolutif de <i>Plasmodium</i> .....	18
Figure 7. Répartition géographique du paludisme à <i>P. falciparum</i> .....	20
Figure 8. Répartition géographique du paludisme à <i>P. malariae</i> .....	20
Figure 9. Répartition géographique du paludisme à <i>P. vivax</i> .....	20
Figure 10. Répartition géographique du paludisme à <i>P. ovale</i> .....	20
Figure 11. TDR à <i>P. falciparum</i> ; à gauche : positif ; à droite : négatif .....	24
Figure 12. Impact négatif du microbiote intestinal de l'anophèle sur le plasmodium .....	35
Figure 13. Arbre phylogénétique des différents phyla bactériens composant le microbiote intestinal .....	39
Figure 14. Composition et densité bactériennes du tractus gastro-intestinal inférieur humain sous l'influence de différents facteurs.....	41
Figure 15. Développement de la flore intestinale chez l'enfant.....	42
Figure 16. Évolution de la composition du microbiote intestinal en fonction de l'âge et du pH des fèces .....	50
Figure 17. Mécanismes immunitaires induits sous l'effet de la colonisation microbienne formant la barrière immune intestinale .....	56
Figure 18. Principales voies métaboliques de la fermentation des polysaccharides par le microbiote intestinal.....	58
Figure 19. Métabolisme des protéines dans le côlon humain - relation entre protéolyse et protéosynthèse bactérienne.....	59
Figure 20. Mécanismes d'action des probiotiques .....	63
Figure 21. Mécanismes évolutifs de l'immunité anti- $\alpha$ -Gal .....	67
Figure 22. Colonisation intestinale d' <i>E. coli</i> O86:B7 et induction d'IgM anti- $\alpha$ -Gal cytotoxiques envers les sporozoïtes de <i>Plasmodium</i> spp. dans le derme .....	70

## INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1. Différences cliniques entre les quatre espèces de plasmodiums .....	23
Tableau 2. Médicaments antipaludiques utilisés en chimioprophylaxie selon le BEH 2019 ..	27
Tableau 3. Médicaments antipaludiques utilisables en traitement curatif .....	29
Tableau 4. Posologie de l'artéméther-luméfantrine dans le traitement curatif de l'accès palustre simple à <i>P. falciparum</i> chloroquinorésistant.....	30
Tableau 5. Exemples de pathologies associées à une dysbiose intestinale .....	61
Tableau 6. Bactéries intestinales associées à une réduction du risque palustre .....	73
Tableau 7. Perspectives de thérapies innovantes dans la prophylaxie antipaludique .....	76

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

AC : anticorps	IV : intraveineuse
AGCC : acides gras à chaîne courte	LPS : lipopolysaccharide
AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens	MICI : maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé	MII : moustiquaire imprégnée d'insecticide
AVK : antivitamines K	MILDA : moustiquaire imprégnée d'insecticides de longue durée d'action
BEH : bulletin épidémiologique hebdomadaire	NFS : numération de la formule sanguine
BCR : récepteurs des cellules B	NLR : Nod-like receptors
CI : contre-indication	NO : monoxyde d'azote
Cp : comprimé	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
CPAP : chimioprophylaxie antipaludique	PE : précaution d'emploi
CSP : protéine circumsporozoïte	PID : pulvérisation intra-domiciliaire
DAA : diarrhées associées aux antibiotiques	PRR : récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires
DT1 : diabète de type 1	RCH : rectocolite hémorragique
DT2 : diabète de type 2	sIgA : immunoglobulines A sécrétées
EI : effets indésirables	spp. : plusieurs espèces
ERO : espèces réactives de l'oxygène	subsp. : sous-espèce
FOS : fructo-oligosaccharides	TDR : test de diagnostic rapide
G6PD : glucose-6-phosphate déshydrogénase	TGF- $\beta$ : transforming growth factor beta
GT : galactosyltransférases	Th : lymphocytes T auxiliaires
GOS : galacto-oligosaccharides	TLR : Toll-like receptors
HMO : human milk oligosaccharides	TPI : traitement préventif intermittent
Ig : immunoglobuline	Treg : lymphocytes T régulateurs
IM : intramusculaire	TSA : trouble du spectre autistique
INR : International Normalized Ratio	UFC : unité formant colonie
IPP : inhibiteurs de la pompe à protons	XOS : xylo-oligosaccharides



# GLOSSAIRE

Axénique : se dit d'un animal élevé dans des conditions exemptes de germes (dépourvu de microbiote).

Capacité vectorielle : niveau d'efficacité d'un vecteur dans la transmission d'un agent pathogène.

Immunité stérilisante : statut immunitaire unique qui empêche une infection efficace d'un agent pathogène sur un hôte.

Microbiome : ensemble des génomes microbiens colonisant l'organisme.

Normobiose (ou eubiose) : équilibre au sein des communautés microbiennes par opposition à une dysbiose.

Orthologue : gène commun à différentes espèces, provenant d'un même gène ancestral.

Parasitémie (ou charge parasitaire) : quantité d'un parasite présent dans le sang.

Pathobionte : membre opportuniste normalement sous-dominant de la flore commensale.

# INTRODUCTION

Le paludisme est une parasitose intertropicale potentiellement mortelle transmise par des moustiques vecteurs. À l'échelle mondiale, le paludisme représente un problème de santé publique majeur. En 2017, 219 millions de cas ont été estimés dans 87 pays, responsables de 435 000 décès. L'Afrique subsaharienne supporte une part disproportionnée de la charge mondiale du paludisme, 92 % des cas et 93 % des décès étant survenus dans cette région en 2017. Ces chiffres traduisent la complexité et la nécessité du combat mené contre le paludisme, en particulier contre *Plasmodium falciparum* qui demeure l'espèce responsable de la plupart des cas mortels dans le monde (1).

Dans la recherche de stratégies alternatives dans la lutte contre le paludisme, un impact négatif du microbiote intestinal sur le plasmodium a été mis en évidence chez le moustique vecteur du paludisme (2). Chez l'Homme, l'amélioration des connaissances dans l'implication du microbiote intestinal en physiologie ainsi qu'en physiopathologie a permis l'émergence de traitements basés sur la modulation du microbiote intestinal (3). De plus, le microbiote intestinal représente un facteur susceptible d'interférer avec des parasites, notamment via la modulation de réponses immunitaires et inflammatoires (4).

Ainsi, une meilleure compréhension du rôle du microbiote intestinal humain sur le risque palustre pourrait mener à l'élaboration de thérapies antipaludiques innovantes. Ce travail sera développé en trois temps : le contexte actuel du paludisme, les fondamentaux du microbiote intestinal humain et enfin les études portant sur les interactions des microbiotes intestinaux de mammifères avec le plasmodium.

---

PARTIE 1

-

GÉNÉRALITÉS ET ACTUALITÉS  
DU PALUDISME

# 1. GÉNÉRALITÉS ET ACTUALITÉS DU PALUDISME

Le paludisme est une maladie infectieuse provoquée par des parasites du genre *Plasmodium* et transmis à l'Homme par des moustiques du genre *Anopheles*.

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), près de la moitié de la population mondiale serait exposée, majoritairement en Afrique. Les enfants de moins de 5 ans représentent l'essentiel des victimes dont le nombre frôle le demi-million chaque année. Malgré une nette amélioration grâce aux dispositifs de prévention, la situation du paludisme dans le monde tend à se dégrader de nouveau. Le contexte est d'autant plus préoccupant que depuis plusieurs années, les parasites et les moustiques développent des résistances, respectivement aux molécules antipaludiques et aux insecticides.

Ainsi, les objectifs de la lutte contre le paludisme reposent en partie sur le développement de thérapies innovantes telles que les vaccins. Cependant, les avancées restent limitées (1)(5).

## 1.1. Épidémiologie

### 1.1.1. Agents pathogènes

Alphonse Laveran (1845-1922), médecin militaire et parasitologue français pionnier de la médecine tropicale, est connu pour avoir découvert en 1880 le parasite responsable du paludisme. Ses travaux lui ont valu de recevoir le prix Nobel de Médecine et Physiologie en 1907 (6).

Les agents pathogènes responsables du paludisme sont des hématozoaires appartenant exclusivement au genre *Plasmodium*. Il en existe plus de 140 espèces dont cinq sont retrouvées en pathologie humaine :

- *P. falciparum*
- *P. vivax*
- *P. ovale*
- *P. malariae*
- *P. knowlesi*

Ces cinq espèces diffèrent par leur pathogénicité, leur répartition géographique et leur capacité à développer des résistances aux molécules antipaludiques (7). Toutes, sauf *P. knowlesi*, sont à réservoir strictement humain (8).

#### 1.1.1.1. *Plasmodium falciparum*

D'emblée, il faut distinguer *P. falciparum* des quatre autres espèces de plasmodiums. *P. falciparum* est l'espèce la plus largement répandue à travers le monde, dans les régions équatoriales et subtropicales, notamment en Afrique où elle prédomine. En France, il représente plus de 80 % des cas de paludisme d'importation (3) (Figures 1 à 3).

Sa transmission s'arrête lorsque la température devient inférieure à 18 °C. De fait, quelle que soit la latitude, le paludisme n'est plus transmis en altitude (au-dessus de 1 500 m en Afrique et 2 500 m en Amérique et en Asie).

*P. falciparum* est l'espèce responsable de la majorité des formes cliniques graves voire mortelles, notamment du neuropaludisme. Après une incubation de sept à 12 jours, l'évolution se fait d'un seul tenant et provoque une fièvre tierce (du fait d'un cycle érythrocytaire de 48 h) maligne. Dans plus de 90 % des cas, les accès palustres à *P. falciparum* surviennent dans les 2 mois qui suivent le retour du pays d'endémie.

C'est également l'espèce qui développe le plus de résistance aux différents médicaments antipaludiques (7).

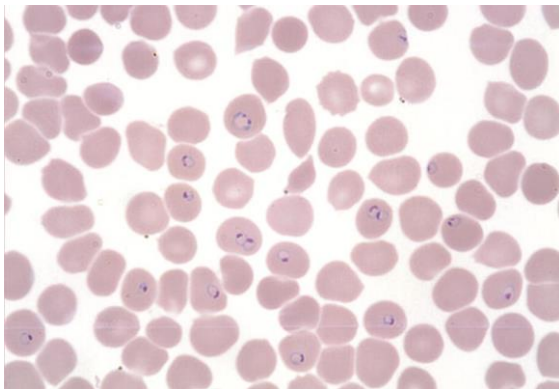


Figure 1. Frottis de sang : *P. falciparum*, trophozoïtes, parasitémie à environ 12 % (MGG ; x 1000) (7)



Figure 2. Frottis de sang : *P. falciparum*, gamétocyte (MGG ; x 1000) (7)

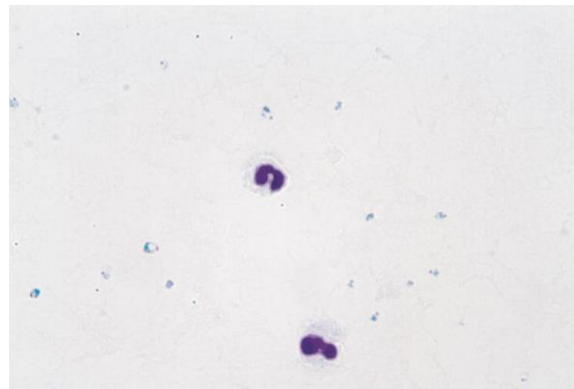


Figure 3. Goutte épaisse : *P. falciparum*, trophozoïtes ; deux globules blancs (Giemsa) (7)

#### 1.1.1.2. *Plasmodium vivax*

*P. vivax*, très largement répandu en Amérique du Sud et en Asie, est quasi absent en Afrique de l'Ouest et centrale où les populations bénéficient d'une immunité naturelle, majoritairement attribuée à leur groupe sanguin Duffy négatif : le récepteur membranaire Duffy, nécessaire à la pénétration de *P. vivax* dans les globules rouges, est inexistant (7). Cependant, depuis une dizaine d'année, *P. vivax* s'avère capable d'infecter des populations considérées jusqu'à présent comme naturellement protégées. Cette découverte remet en cause certaines stratégies de lutte antipaludique et alerte sur la possibilité d'une progression du parasite dans des régions du monde où il était jusqu'alors absent (9).

Sa transmission s'interrompt en dessous de 15 °C et sa période d'incubation minimale est de 11 à 15 jours. Il peut être responsable de rechutes (accès de reviviscence) pendant 3 à 4 ans durant lesquelles s'observe une fièvre tierce généralement bénigne, exceptée en zone d'endémie où il peut y avoir un impact important sur l'état de santé des populations, notamment par l'intermédiaire des anémies chez la femme enceinte et l'enfant (7).

#### 1.1.1.3. *Plasmodium ovale*

*P. ovale* sévit majoritairement en Afrique intertropicale ainsi que dans certaines régions du Pacifique.

Son incubation dure minimum 15 jours mais peut être beaucoup plus longue. Comme *P. vivax* dont il est très proche, *P. ovale* provoque des accès de fièvre tierce bénigne et peut être responsable de rechutes tardives pendant 5 ans (7).

#### 1.1.1.4. *Plasmodium malariae*

*P. malariae* sévit de manière beaucoup plus sporadique dans les régions tropicales des continents africain, américain et asiatique.

Son incubation est longue puisque comprise entre 15 et 21 jours. Il provoque des accès de fièvre quarte (rythmée avec une périodicité de 72 h) bénigne et peut être à l'origine de recrudescences très tardives (jusqu'à 20 ans) dont les mécanismes physiopathologiques ne sont pas totalement élucidés (7).

#### 1.1.1.5. *Plasmodium knowlesi*

*P. knowlesi* est un parasite habituel des singes macaques dans les zones forestières d'Asie du Sud-Est. Depuis 2004, il est responsable de plusieurs cas signalés chez l'Homme, tantôt autochtones (espèce la plus commune en Malaisie) ou d'importation (voyageurs).

Il se différencie des autres espèces par une fièvre quotidienne (cycle érythrocytaire de 24 h). Les infections sont généralement simples, mais au moins 1 patient sur 10 fait un accès grave et 1 à 2 % ont une issue fatale (7).

### 1.1.2. Vecteur

Depuis les travaux de Ross (1897) en Inde (10) et de Grassi (1899) en Italie (11), il est établi que le parasite du paludisme n'est pas véhiculé par le « mauvais air » mais transmis d'Homme à Homme par l'intermédiaire d'un vecteur biologique, un moustique du genre *Anopheles*. Étymologiquement, « *Anopheles* » dérive du grec « a » privatif et « opeles » utile et signifie donc insecte dénué d'utilité (12).

Chez les anophèles, seule la femelle est hématophage et c'est par sa piqûre, au cours du repas de sang nécessaire à sa ponte, qu'elle peut ingérer puis transmettre le parasite du paludisme (5) (Figure 4).



Figure 4. Photographie d'un anophèle femelle se gorgeant de sang humain

Il n'existerait pas moins de 484 espèces de moustiques du genre *Anopheles* recensées dans le monde (13). Parmi elles, seule une soixantaine assure, avec une capacité vectorielle variable, la transmission du paludisme humain, soit un peu plus d'une espèce sur 10. Leur distribution et leur efficacité varient selon les régions géographiques : en Afrique subsaharienne, on considère qu'une douzaine d'espèces constitue d'excellents vecteurs, certains appartenant aux meilleurs vecteurs mondiaux comme *An. gambiae*, *An. arabiensis*, etc. (12).

En septembre 2019, l'OMS a lancé une alerte vectorielle concernant l'invasion et la propagation d'*An. stephensi*, un vecteur extrêmement compétent de *P. falciparum* et *P. vivax*, et considéré comme un vecteur efficace du paludisme en milieu urbain. Jusqu'en 2011, la répartition signalée d'*An. stephensi* était limitée à certains pays d'Asie du Sud-Est et à une grande partie de la Péninsule Arabique. Depuis lors, dans la Corne de l'Afrique, le vecteur semble se propager de son premier lieu de détection (Djibouti) vers d'autres pays voisins. L'OMS considère la propagation d'*An. stephensi* comme une menace potentielle majeure pour la lutte contre le paludisme et son élimination en Afrique et en Asie du Sud (14).

### 1.1.2.1. Appareil digestif du moustique

- Anatomie interne

L'anatomie interne des anophèles est typique de celle des insectes (Figure 5), notamment avec l'appareil digestif qui comprend :

- La cavité buccale, puis le pharynx et la pompe pharyngienne permettant l'absorption du sang ;
- Les glandes salivaires sécrétant la salive éjectée dans le canal salivaire puis excrétée par la pompe salivaire lors de la piqûre ;
- L'œsophage ou intestin antérieur ;
- L'estomac ou intestin moyen volumineux, siège de la digestion du sang et capable de se distendre considérablement lors du repas sanguin ;
- L'intestin postérieur qui se termine à l'anus (12).

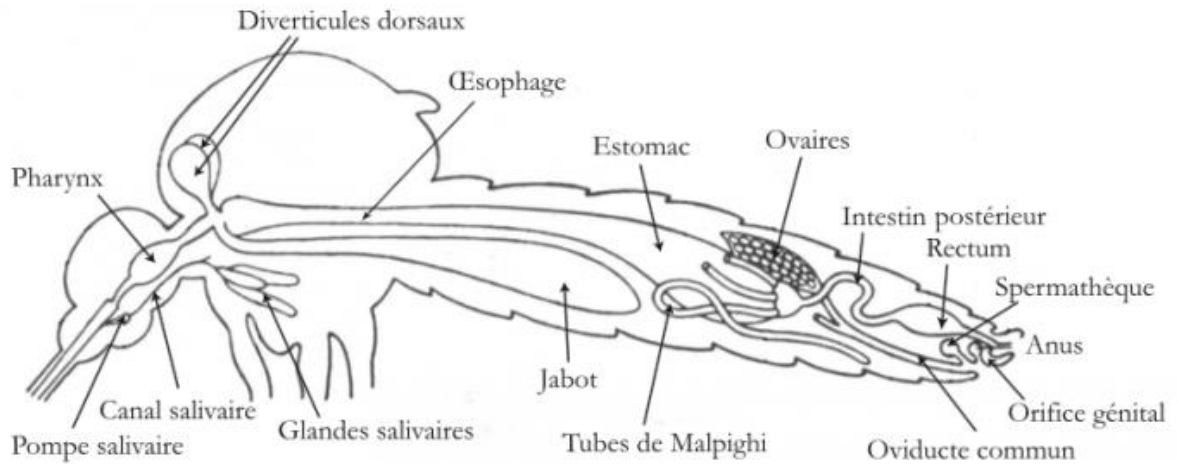


Figure 5. Anatomie interne d'un moustique femelle (12)

- Fonctions salivaires

La salive est impliquée dans les deux phénomènes liés à la piqûre du moustique :

- Le repas sanguin : les protéines salivaires excrétées agissent comme des inhibiteurs de l'agrégation des plaquettes, des vasodilatateurs et des inhibiteurs de la coagulation sanguine ;
- La transmission de pathogènes : la recherche de sporozoïtes de *Plasmodium* s'effectue en observant sous un microscope optique les glandes salivaires disséquées (12).



### 1.1.2.2. Cycle biologique

Le cycle biologique des anophèles comprend deux phases :

- Phase aquatique : stades immatures (œuf, larve et nymphe) ;
- Phase aérienne : stade adulte avec des mâles et des femelles (période de reproduction et de dispersion) (12).

- Stade larvaire

Les larves d'anophèles se développent principalement dans les collections d'eau non polluée (7). Les caractéristiques des gîtes larvaires peuvent être très variées (12). La durée de vie des larves est variable selon les espèces et les conditions de température. Certaines espèces ont des contraintes écologiques strictes alors que d'autres ont une grande amplitude écologique, à l'instar des larves d'*An. gambiae* pouvant évoluer aussi bien en eau douce qu'en eau saumâtre. Le même biotope peut abriter plusieurs espèces différentes et la même espèce peut coloniser différents types de biotopes. De même, *An. gambiae* peut aussi bien vivre dans des petites flaques temporaires (de type empreintes de pas ou de sabots) que dans des grandes flaques permanentes (de type casiers à riz). On parle alors d'espèce ubiquiste dont les critères de sélection des gîtes larvaires ne sont pas très précis et qui s'adapte en fonction de leur disponibilité. De ce fait, certaines espèces ont pu s'adapter à des milieux particuliers comme le milieu urbain (12).

Ainsi, la nature des sols, le régime des pluies, l'humidité, la végétation, l'agriculture (riziculture), la température (entre 20 °C et 30 °C) et donc l'altitude, rendent les collections d'eau plus ou moins propices au développement d'espèces vectrices (7).

- Stade adulte

L'anophèle adulte reste à moins de 300 m de son lieu de naissance et a une espérance de vie de 3 à 12 semaines (15). Les espèces les plus dangereuses sont :

- Anthropophiles : préférence pour prélever leur repas sanguin sur un humain ;
- Endophiles : préférence pour se reposer à l'intérieur des maisons (7) ;
- Dotées d'une longue espérance de vie : la transmission est plus intense aux endroits où les espèces ont une durée de vie élevée permettant au plasmodium d'achever son cycle de développement à l'intérieur du moustique (1).

La longue durée de vie et la forte anthropophilie des espèces africaines, en particulier d'*An. gambiae*, principal vecteur africain du paludisme, expliquent que plus de 90 % des décès surviennent en Afrique sub-saharienne (1).

L'anophèle ne fait pas de bruit et sa piqûre est indolore (8). Il ne pique classiquement qu'à partir du coucher du soleil, avec un pic d'activité entre 23 h et 6 h. Cela justifie que l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides soit le moyen de prévention individuelle le plus efficace (7).

### 1.1.3. Cycle parasitaire

Le cycle évolutif du plasmodium se déroule successivement chez l'Homme (phase asexuée chez l'hôte intermédiaire) et chez l'anophèle femelle (phase sexuée chez l'hôte définitif) (Figure 6) (7) et comprend quatre phases :

- Développement parasitaire chez l'Homme depuis la migration des sporozoïtes vers le foie jusqu'aux gamétocytes en passant par le cycle érythrocytaire schizogonique ;
- Transmission « Homme - moustique » avec ingestion par le moustique des gamétocytes ;
- Développement sporogonique chez le moustique depuis les gamétocytes dans l'estomac jusqu'aux sporozoïtes dans les glandes salivaires ;
- Transmission « moustique - Homme » avec l'injection par le moustique à l'Homme des sporozoïtes (15).

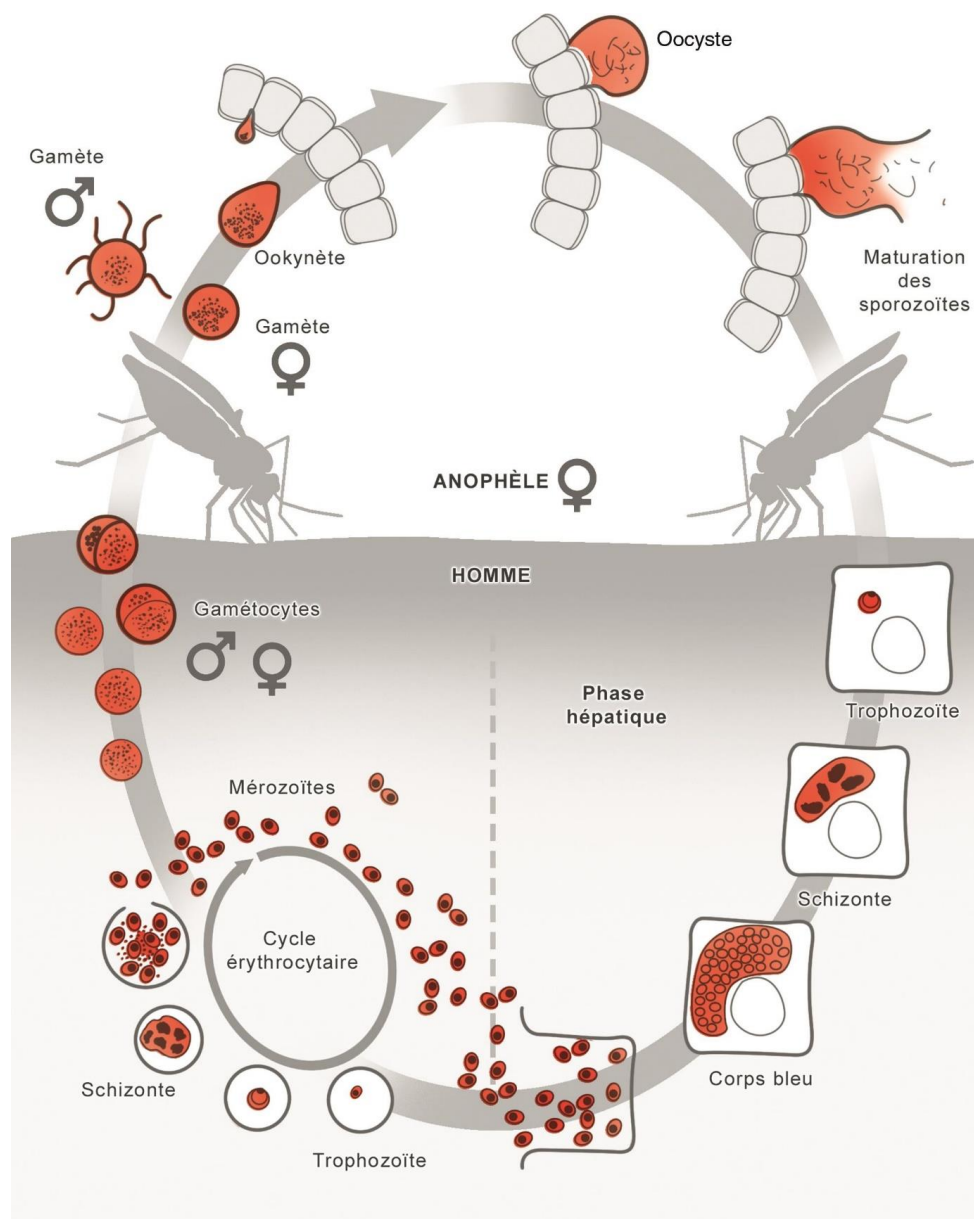


Figure 6. Cycle évolutif de Plasmodium (7)

### 1.1.3.1. Chez l'Homme

Chez l'Homme, le cycle est divisé en deux phases de multiplication asexuée (7) :

- Schizogonie hépatique : correspond à la phase d'incubation cliniquement asymptomatique ;
- Schizogonie érythrocytaire : correspond à la phase clinique de la maladie.

- Schizogonie hépatique

Près d'une centaine de sporozoïtes est inoculée par la piqûre de l'anophèle femelle lors de son repas sanguin. Ces derniers séjournent moins d'une trentaine de minutes dans la peau, la lymphe et le sang avant de gagner le foie où ils deviennent des trophozoïtes en parasitant les hépatocytes. Lors de la schizogonie, le noyau du plasmodium amplifie son ADN et se divise de façon binaire sans que son cytoplasme ne se divise. Les trophozoïtes évoluent ainsi en schizontes pré-érythrocytaires multinucléés qui, après 7 à 15 jours de maturation (corps bleu), éclatent et libèrent dans le sang entre 10 000 et 30 000 mérozoïtes uninucléés dits de première génération (7).

Toutefois, certains trophozoïtes restent quiescents et sont responsables d'une schizogonie hépatique retardée entraînant la libération de mérozoïtes plusieurs mois voire années après la piqûre du moustique. Ces formes intra-hépatocytaires dormantes prennent le nom d'hypnozoïtes et expliquent les accès de reviviscence observés dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*. Cependant, aucun hypnozoïte n'a été mis en évidence pour *P. malariae* malgré l'existence de rechutes tardives, ni pour *P. knowlesi*. L'infection à *P. falciparum* en est également dépourvue, n'étant pas responsable de rechute (7)(15).

- Schizogonie érythrocytaire

Le mérozoïte pénètre rapidement l'érythrocyte, évolue en trophozoïte puis en schizonte mature en 24 h, 48 h ou 72 h (en fonction de l'espèce) conduisant à la destruction du globule rouge hôte et libérant 4 à 32 nouveaux mérozoïtes. Ces derniers parasitent de nouveaux érythrocytes et entament un nouveau cycle de réplication (7).

Certains trophozoïtes subissent une différenciation sexuée d'une dizaine de jours sans division nucléaire dans le compartiment médullaire : ils se transforment en gamétocytes mâles ou femelles qui resteront en circulation durant quelques semaines dans le sang (7).

### 1.1.3.2. Chez l'anophèle

Lors d'un repas sanguin sur un hôte infecté, les gamétocytes ingérés par le moustique évoluent en gamètes mâles et femelles qui fusionnent en un œuf libre et mobile nommé ookinète. Ce dernier se fixe à l'épithélium de l'intestin moyen, traverse la paroi intestinale et se différencie en oocyste à l'intérieur duquel les cellules parasitaires se multiplient. À maturation, des centaines de sporozoïtes sont libérés et migrent jusqu'aux glandes salivaires où ils représentent les formes infectantes, prêtes à être inoculées avec la salive du moustique au cours d'un prochain repas sanguin sur un hôte vertébré (7).

#### 1.1.4. Répartition géographique

En raison des nombreux facteurs influençant l'épidémiologie (caractéristiques biologiques des différentes espèces de plasmodium, distribution et capacité vectorielle des anophèles, etc.), la répartition géographique du paludisme est extrêmement hétérogène et variable d'une zone géographique à une autre. En effet, elle fluctue d'un continent à l'autre, d'un pays à l'autre, mais aussi d'une région à une autre, d'un village à un autre voire même parfois au sein d'un même village (7).

Il est toutefois possible de dresser les grandes lignes de la répartition géographique du paludisme en fonction de l'espèce de plasmodium à travers le monde (Figures 7 à 10) (7). Globalement, la transmission du paludisme est élevée dans toute la zone intertropicale entre le 30° de latitude Nord et le 30° de latitude Sud (15).



Figure 7. Répartition géographique du paludisme à *P. falciparum* (7)



Figure 9. Répartition géographique du paludisme à *P. vivax* (7)



Figure 8. Répartition géographique du paludisme à *P. malariae* (7)



Figure 10. Répartition géographique du paludisme à *P. ovale* (7)

### 1.1.5. Particularités épidémiologiques

#### 1.1.5.1. Immunité antipaludique

##### 1.1.5.1.1. Protection naturelle

En zone d'endémie, le paludisme a exercé une forte pression de sélection sur l'évolution du génome humain (16)(17). Bien qu'encore imparfaitement connus, les facteurs génétiques conférant une résistance au moins partielle envers le paludisme peuvent être classés en deux groupes (7) :

- Facteurs érythrocytaires :
  - Trait drépanocytaire ;
  - Trait thalassémique ;
  - Groupe sanguin Duffy négatif ;
  - Groupe sanguin O ;
  - Déficit en G6PD (favisme), etc. (7)(15)
- Facteurs non érythrocytaires :
  - Groupe HLA ;
  - Polymorphisme de la réponse immune ;
  - Facteurs ethniques, etc. (7)(15).

##### 1.1.5.1.2. Immunité adaptative

Malgré de trop nombreux décès dus au paludisme chaque année, la mortalité ne représente pas plus de 1 % des cas présumés d'accès palustres survenant sur une même période. Ce faible pourcentage s'explique par l'acquisition progressive d'une immunité adaptative partielle - appelée état de prémunition - en situation d'exposition continue à l'infection palustre. Selon l'état de prémunition, la réponse clinique est extrêmement variable, allant de l'infection asymptomatique à la survenue d'un accès grave pouvant entraîner la mort du sujet. L'immunité adaptative du paludisme met en jeu des mécanismes complexes et encore mal connus aujourd'hui. Cependant, elle joue un rôle essentiel dans l'issue de l'infection et présente des propriétés qui lui sont propres :

- Fonction de l'espèce ;
- Acquisition lente et progressive : ne se développe qu'après une longue période d'exposition ininterrompue, en 5 à 10 ans, au prix d'une mortalité infantile élevée ;
- Non stérilisante : jamais totale, n'empêche pas une contamination. C'est un état d'immunité relative qui ne permet pas de se débarrasser totalement du plasmodium (équilibre hôte-parasite). En revanche, elle empêche progressivement la survenue de formes cliniques graves. Cela explique que, en zone de transmission intense, les jeunes enfants payent le plus lourd tribut à partir de l'âge de 4 à 6 mois, lorsque la protection maternelle transmise s'amenuise, et jusqu'à 4 à 6 ans. Progressivement, le risque d'accès grave diminue alors que le sujet tolère une parasitémie asymptomatique. En zone de transmission intense, il est exceptionnel qu'un sujet adulte fasse un accès grave.
- Labile : jamais définitive, disparaît en 12 à 24 mois chez le sujet immun qui quitte la zone d'endémie (7)(15).

### 1.1.5.2. Populations à risque

D'après l'OMS, certains groupes de population, notamment les jeunes enfants de moins de 5 ans, courent un risque beaucoup plus élevé de contracter le paludisme et de développer des complications. Les programmes nationaux de lutte antipaludique doivent prendre en compte leurs circonstances particulières et mettre en place des mesures adaptées (18).

- Nourrissons

À partir de l'âge de 3 mois, lorsque l'immunité transmise par la mère commence à décliner, les nourrissons nés de mères vivant en zone d'endémie sont plus vulnérables au paludisme (18).

- Enfants de moins de 5 ans

Dans les zones où la transmission est intense, les enfants de moins de 5 ans (y compris les nourrissons) sont le groupe le plus à risque, n'ayant pas encore développé une immunité les protégeant contre les formes les plus sévères de la maladie (7)(18).

- Femmes enceintes

Au cours de la grossesse, le paludisme augmente le risque d'anémie maternelle et fœtale, d'avortement spontané, de mortinatalité, de faible poids de naissance et de mortalité néonatale (18).

- Patients infectés par le VIH/sida

La co-infection VIH/sida et paludisme a un impact majeur sur la santé publique. Le paludisme peut aggraver un sida clinique et le VIH augmente le risque d'infection et de sévérité palustres ainsi que de décès (18).

- Populations mobiles

En zone d'endémie, certains groupes de populations mobiles sont considérés comme étant plus sensibles, tels que les :

- Voyageurs internationaux en provenance de régions exemptes de paludisme et qui ne sont pas immunisés ;
- Migrants qui retournent dans leur pays d'origine et dont l'immunité a diminué ou disparu ;
- Réfugiés n'ayant pas d'immunité partielle et ne disposant que d'un accès limité à la prévention, aux tests de diagnostic et aux services thérapeutiques (7)(9).

## 1.2. Diagnostic

Le diagnostic du paludisme représente une urgence : tout accès palustre survenant chez un sujet non prémuni (paludisme d'importation) peut évoluer en quelques heures vers un accès palustre grave potentiellement mortel. En pratique, il faut retenir que « toute fièvre au retour d'une zone d'endémie est un paludisme jusqu'à preuve du contraire » (7).

### 1.2.1. Diagnostic clinique

Il existe différents tableaux cliniques selon l'espèce de plasmodium, la parasitémie, l'âge, l'état de prémunition, etc. :

- Accès palustre simple ;
- Accès palustre grave (exemple du neuropaludisme ou accès pernicleux) ;
- Paludisme viscéral évolutif ;
- Fièvre bilieuse hémoglobinurique ;
- Syndrome neurologique post-paludisme, etc. (15).

Classiquement, on distingue plusieurs phases (Tableau 1) :

- Incubation (asymptomatique) ;
- Primo invasion ;
- Accès palustre rythmé (simple ou grave) ;
- Rechutes précoces ou tardives (7).

Tableau 1. Différences cliniques entre les quatre espèces de plasmodiums

Espèce	Incubation	Reviviscence	Type de fièvre	Intervalle entre les fièvres
<i>P. falciparum</i>	7 à 12 jours	2 mois +++	Tierce maligne	48 h (J1-J3-J5...)
<i>P. ovale</i>	≥ 15 jours	5 ans	Tierce bénigne	
<i>P. vivax</i>	≥ 11 à 15 jours	3 à 4 ans		
<i>P. malariae</i>	15 à 21 jours	> 10 ans	Quarte bénigne	72 h (J1-J4-J7...)

- Paludisme non compliqué

Les signes cliniques du paludisme non compliqué sont :

- Fièvre intermittente : elle évolue par accès (l'éclatement des schizontes est en général synchrone) accompagnés de frissons, sueurs et sensation de froid pendant quelques heures et entrecoupés de phases quasi-asymptomatiques. La périodicité n'est cependant que rarement observée (apparente seulement si le diagnostic a tardé) ;
- Céphalées, myalgies ;
- Troubles digestifs : nausées, vomissements, diarrhées ;
- Splénomégalie inconstante (8).

- Paludisme grave

Le paludisme grave est une complication rare mais toujours évitable. Tout accès palustre à *P. falciparum* peut évoluer vers une forme grave et entraîner le décès du patient. Un retard de diagnostic et/ou un traitement inadapté sont toujours en cause (8).

Les critères de gravité ont été définis par l'OMS et sont les mêmes pour l'adulte et l'enfant. Un seul de ces critères implique l'hospitalisation (15).

### 1.2.2. Diagnostic biologique

Le diagnostic précoce du paludisme est essentiel pour la mise en œuvre d'un traitement d'urgence. L'OMS recommande que tous les cas présumés de paludisme soient confirmés par microscopie - frottis sanguin (Figures 1 et 2) associé à la goutte épaisse (Figure 3) - ou par TDR (test de diagnostic rapide) (Figure 11) lorsque l'examen microscopique n'est pas possible (zone d'endémie), avant d'administrer un traitement. Le résultat doit être rendu par le biologiste dans un délai de moins de deux heures après le prélèvement (7)(15).



Figure 11. TDR à *P. falciparum* ; à gauche : positif ; à droite : négatif (19)



### 1.3. Stratégies de lutte

Il est difficile d'éradiquer le paludisme dans certaines régions où la transmission est très intense. Cependant, tous les pays ayant réussi à élever leur niveau de vie ont fait reculer la maladie. La lutte contre le paludisme passe donc aussi par une lutte contre la pauvreté à l'échelle mondiale (7).

#### 1.3.1. Prévention

Aucun moyen préventif n'assure à lui seul une protection absolue. L'efficacité repose sur l'observance simultanée d'une protection contre les piqûres de moustiques associée à la chimioprophylaxie médicamenteuse (7).

##### 1.3.1.1. Lutte antivectorielle

###### 1.3.1.1.1. Prévention individuelle

Une protection individuelle efficace contre les piqûres d'anophèles est la première ligne de défense vis-à-vis du paludisme et doit être mise en œuvre dès le coucher du soleil (7)(15).

- À l'intérieur des habitations :
  - Installer des moustiquaires aux portes et aux fenêtres ;
  - Dormir sous une moustiquaire imprégnée d'insecticide (MII) (protection mécanique la plus efficace, à hauteur de 50 %) ;
  - Associer climatisation et insecticide, à défaut de moustiquaire de lit (7)(15).
- À l'extérieur des habitations :
  - Utiliser des spirales fumigènes ;
  - Porter des vêtements longs le soir, si possible imprégnés d'insecticide ;
  - Application de répulsifs corporels sur les parties non couvertes par les vêtements (7)(15).

De nombreux répulsifs corporels (également appelés insecticides ou repellents) sont disponibles sur le marché. En pratique, les deux substances recommandables sont le DEET et le KBR3023 (icaridine), mais il existe également l'IR3535 et le PMDRBO. Attention cependant quant au choix du produit répulsif chez l'enfant et la femme enceinte qui est fonction de la substance active, de la concentration (%) et du nombre d'applications maximal possible par jour (15).

#### 1.3.1.1.2. Prévention collective

La poursuite de la lutte antivectorielle à l'échelle des pays repose sur plusieurs axes :

- Contrôle des gîtes à moustiques : aménagement de l'environnement destiné à diminuer le nombre de gîtes anophéliens ;
- Pulvérisation intra-domiciliaire d'insecticide à effet rémanent (PID) : mesure qui consiste à pulvériser d'insecticides les murs intérieurs des maisons ;
- Technique de l'insecte stérile : éradication ou diminution d'une population d'insectes, les mâles irradiés par un rayonnement gamma deviennent sexuellement stériles à cause de mutations dominantes dans leurs gamètes ;
- Utilisation généralisée de moustiquaires imprégnées : stratégie de lutte recommandée par l'OMS au niveau communautaire, prioritairement chez les plus exposés (enfants et femmes enceintes). Cependant, il est nécessaire de réimprégner régulièrement les moustiquaires afin de maintenir leur efficacité et de pallier le phénomène de résistance des vecteurs. De plus en plus de moustiquaires imprégnées d'insecticides de longue durée d'action (MILDA) se développent, soit environ 5 ans d'efficacité (7)(15).

#### 1.3.1.2. Chimio prophylaxie

La prescription éventuelle d'une chimio prophylaxie antipaludique (CPAP) prend conjointement en compte le risque d'exposition au paludisme (essentiellement *P. falciparum*) et le risque d'effets indésirables imputables aux antipaludiques. Elle intéresse principalement les voyageurs/expatriés et non les résidents, sauf cas particuliers (traitement préventif intermittent (TPI) des femmes enceintes et des enfants dans les zones de haute transmission) (7)(15).

Bien qu'elle ne soit pas d'une efficacité totale, la CPAP doit être envisagée de manière systématique pour tout sujet se rendant en zone impaludée. Il n'existe pas de schéma prophylactique idéal, celui-ci doit être adapté à chaque voyageur en prenant en compte :

- La zone visitée (intensité de transmission et niveau de résistance aux antipaludiques) ;
- La saison (si transmission saisonnière) ;
- Le sujet concerné (âge, grossesse, antécédents médicaux, etc.) ;
- Les conditions de séjour, le type d'activités, etc.

Des recommandations officielles sont publiées et réactualisées chaque année dans le bulletin épidémiologique hebdomadaire (BEH) et doivent servir de référence pour la prescription d'une chimio prophylaxie individuelle (7)(15) (Tableau 2).

Tableau 2. Médicaments antipaludiques utilisés en chimioprophylaxie selon le BEH 2019 (20)

Molécule	Présentation	Posologie	Durée, indication, PE, CI, EI
<b>Atovaquone-proguanil</b> Malarone®	CpP à 62,5 mg/25 mg  CpA à 250 mg/100 mg	<u>Enfant</u> : 5-7 kg : ½ cpP/j (hors AMM, PM nécessaire) 8<11 kg : ¾ cpP/j (hors AMM, PM nécessaire) 11<21 kg : 1 cpP/j 21<31 kg : 2 cpP/j 31≤40 kg : 3 cpP/j >40 kg : 1 cpA/j  <u>Adulte</u> : 1 cpA/j	<ul style="list-style-type: none"> <li>– À prendre au cours d'un repas ou avec une boisson lactée, à heure fixe</li> <li>– Début du traitement : 24 à 48 h avant le jour d'entrée dans la zone à risque ou le jour d'entrée selon les indications du fabricant</li> <li>– À prendre pendant le séjour et 1 semaine après avoir quitté la zone de risque</li> <li>– La restriction de son utilisation au-delà de 3 mois a été levée</li> <li>– Peut-être envisagé, si nécessaire, chez la femme enceinte</li> <li>– EI : augmentation de l'INR pour les patients sous AVK</li> </ul>
<b>Chloroquine</b> Nivaquine®	Sirop à 25 mg=5 ml  Cp sécable à 100 mg	<u>Enfant</u> : 1,7 mg/kg/j <10 kg : 25 mg 1j/2 ≥10-16 kg : 25 mg/j >16-33 kg : 50 mg/j >33-45 kg : 75 mg/j >45 kg : 1 cp/j  <u>Adulte</u> : 1 cp/j	<ul style="list-style-type: none"> <li>– À prendre le jour du départ, pendant le séjour et pendant 4 semaines après avoir quitté la zone à risque</li> <li>– Ne doit pas être utilisée chez la femme enceinte ou qui allaite sauf en l'absence d'alternative plus sûre</li> <li>– Contraception nécessaire chez les hommes et femmes en âge de procréer pendant le traitement et jusqu'à 8 mois après l'arrêt du traitement</li> <li>– Attention aux intoxications accidentelles</li> </ul>
<b>Chloroquine-proguanil</b> Savarine®	Cp à 100 mg/200 mg	<u>Enfant</u> : à partir de 15 ans et >50 kg : 1 cp/j  <u>Adulte</u> : 1 cp/j	<ul style="list-style-type: none"> <li>– À prendre en fin de repas, au moins 24 h avant le départ, pendant le séjour et 4 semaines après avoir quitté la zone à risque</li> <li>– Réservé aux adultes et adolescents de 15 ans et plus et pesant au moins 50 kg</li> <li>– Pour la femme enceinte ou qui allaite : se référer aux modalités préconisées pour la chloroquine</li> <li>– EI : augmentation de l'INR pour les patients sous AVK</li> </ul>

<p><b>Doxycycline</b> Doxypalu®, Granudoxy® Gé</p>	<p>Cp à 50 mg Cp à 100 mg Cp sécable à 100 mg</p>	<p><u>Enfant</u> : ≥8 ans et &lt;40 kg : 50 mg/j ≥8 ans et ≥40 kg : 100 mg/j  <u>Adulte</u> : 100 mg/j</p>	<p>– À prendre pendant le repas du soir au moins 1 h avant le coucher, la veille du départ, pendant le séjour et 4 semaines après avoir quitté la zone de risque de transmission du paludisme – CI : femme enceinte, enfant âgé de moins de 8 ans – EI : • photosensibilisation • potentialisation de l'effet des AVK par modification de la flore saprophyte</p>
<p><b>Méfloquine</b> Lariam®</p>	<p>Cp sécable à 250 mg</p>	<p><u>Enfant</u> : 5 mg/kg/semaine 5-14 kg : 5 mg/kg/sem (≈1/8 cp/sem, hors AMM) 15-19 kg : ¼ cp/sem &gt;19-30 kg : ½ cp/sem &gt;30-45 kg : ¾ cp/sem &gt;45 kg : 1 cp/sem  <u>Adulte</u> : 1 cp/sem</p>	<p>– À commencer 3 jours avant le départ (10 jours pour les sujets n'ayant jamais pris de méfloquine afin de vérifier l'absence d'effets secondaires lors de la deuxième prise, soit 3 jours avant l'entrée dans la zone à risque) jusqu'à 3 semaines après avoir quitté la zone de risque de transmission du paludisme – CI : convulsions, troubles neuropsychiques – Déconseillé en cas de pratique de la plongée – Peut-être administré à la femme enceinte</p>
<p><b>Proguanil</b> Paludrine®</p>	<p>Cp sécable à 100 mg</p>	<p><u>Enfant de 1 à 12 ans</u> : 3 mg/kg/j 9-17 kg : ½ cp/j &gt;17-33 kg : 1cp/j &gt;33,5-45 kg : 1cp ½/j  <u>Adulte et enfant de plus 12 ans</u> : 200 mg/j</p>	<p>– Uniquement en association avec la chloroquine – À prendre pendant le séjour et 4 semaines après avoir quitté la zone à risque de transmission du paludisme – Pour la femme enceinte : appliquer les nouvelles modalités d'emploi dès leur publication, en raison de l'association avec la chloroquine – EI : augmentation de l'INR pour les patients sous AVK</p>

AVK : antivitamines K ; CI : contre-indication ; CpA : comprimé adulte ; CpP : comprimé pédiatrique ; EI : effets indésirables ; INR : International Normalized Ratio ; PE : précautions d'emploi.

### 1.3.2. Traitements curatifs

Certains médicaments antipaludiques utilisés en prévention peuvent également être utilisés en traitement curatif (Tableaux 3 et 4) (15).

Tableau 3. Médicaments antipaludiques utilisables en traitement curatif (15)

Molécule	Accès à <i>P. Vivax</i> , <i>P. Ovale</i> , <i>P. Malariae</i>	Accès simple <i>P. falciparum</i> Chloroquino-sensible	Accès simple <i>P. falciparum</i> Chloroquino-résistant	Accès grave <i>P. falciparum</i> Quinino-sensible	Accès grave <i>P. falciparum</i> Quinino-résistant
<b>Quinine</b> Quinimax®			24 mg/kg/j x 7j	17 mg/kg (dose de charge) puis 24 mg/kg/j IV x 7j	17 mg/kg (dose de charge) puis 24 mg/kg/j IV x 7j + cyclines
<b>Chloroquine</b> Nivaquine®	25 mg/kg en 3j	Idem ou 500 mg/j x 5j			
<b>Amodiaquine</b> Flavoquine®		30 mg/kg en 3j			
<b>Sulfadoxine-pyriméthamine</b> Fansidar®			500 mg/25 mg <u>Enfant</u> : 1 cp /10 kg en une prise <u>Adulte</u> : 3 cp en une prise		
<b>Méfloquine</b> Lariam®			25 mg/kg/j en 2 ou 3 prises x 1j		
<b>Halofantrine</b> Halfan®			24 mg/kg/j en 3 prises à J1 2 <sup>ème</sup> cure à J7		
<b>Doxycycline</b> Doxypalu® Vibraveineuse®					>12 ans : 200 mg/j >8 ans et <12 ans : 100 mg/j + quinine IV x 7j
<b>Artémether-luméfantrine</b> Riamet® Coartem®			Cf. Tableau 4		

<b>Atovaquone-proguanil</b> Malarone®			20/8 mg/kg/j x 3j		
<b>Artéméther IM</b> Paluther®				3,2 mg/kg/j x 1j + 1,6 mg/kg/j x 4j	3,2 mg/kg/j x 1j + 1,6 mg/kg/j x 4j
<b>Artésunate-amodiaquine</b> AS/AQ®, Coarsucam®			AS:4 mg/kg/j AQ:10 mg/kg/j x 3j		
<b>Artésunate-méfloquine</b> AS/MQ®			AS:4 mg/kg/j MQ:25 mg/kg x 3j		
<b>Artésunate IV</b> Malacef®				2,4 mg/kg à 0, 12, 24 h puis toutes les 24 h x 3j	2,4 mg/kg à 0, 12, 24 h puis toutes les 24 h x 3j
<b>Dihydro Artémisinine-pipéraquline</b> Eurartesim®			320 mg/40 mg ½ à 4 cp selon le poids en 1 prise/j x 3j		

*IM : intramusculaire ; IV : intraveineuse.*

*Tableau 4. Posologie de l'artéméther-luméfantrine dans le traitement curatif de l'accès palustre simple à P. falciparum chloroquinorésistant (15)*

Poids	Cp 20 mg/120 mg			Cp 80 mg/480 mg		
	J1	J2	J3	J1	J2	J3
5 à < 15 kg	1 cp x 2	1 cp x 2	-	-	-	-
15 à < 25 kg	2 cp x 2	2 cp x 2	1 cp x 2	-	-	-
25 à < 35 kg	3 cp x 2	3 cp x 2	-	-	-	-
≥ 35 kg	4 cp x 2	4 cp x 2	-	1 cp x 2	1 cp x 2	1 cp x 2

### 1.3.3. Phénomènes de résistance

Ces 15 dernières années, la lutte contre le paludisme a été marquée par des progrès sans précédent dus en grande partie à l'intensification des interventions de lutte antivectorielle. Mais la survenue de résistances des anophèles aux insecticides d'une part et des plasmodiums aux antipaludiques d'autre part menace ces progrès fragiles (21).

#### 1.3.3.1. Résistance des anophèles aux insecticides

Les deux formes de lutte antivectorielle les plus efficaces reposent sur l'emploi d'insecticides : il s'agit des pulvérisations d'insecticides à effet rémanent à l'intérieur des habitations et des MII. Ce succès est largement tributaire des pyréthrinoïdes, seule catégorie d'insecticides utilisée pour l'imprégnation des moustiquaires (15).

Or, il existe une expansion rapide des résistances aux insecticides chez les principaux vecteurs du paludisme, en particulier d'*A. gambiae* aux pyréthrinoïdes en Afrique subsaharienne (15) : toutes les principales espèces vectrices sont résistantes aux quatre classes d'insecticides recommandées. Depuis 2010, 60 pays ont signalé une résistance à au moins une classe d'insecticides, dont 49 pays indiquant une résistance à au moins deux classes (21). La part des pays d'endémie palustre ayant effectué un suivi et rapporté une résistance aux pyréthrinoïdes a augmenté, passant de 71 % en 2010 à 81 % en 2016 (15).

Cependant, cette résistance a été rarement associée à une baisse de l'efficacité des MII. Concernant la pulvérisation d'insecticides à effet rémanent à l'intérieur des habitations, il est recommandé d'alterner les différentes classes d'insecticides afin de limiter l'apparition de résistances (15).

Malgré tout, si rien ne change, la résistance aux insecticides pourrait entraîner une hausse sensible de l'incidence du paludisme et de la mortalité palustre. La communauté mondiale engagée dans la lutte contre le paludisme doit prendre des mesures urgentes pour éviter une augmentation de la résistance des anophèles aux insecticides et pour que les méthodes de lutte antivectorielle existantes demeurent efficaces (21).

#### 1.3.3.2. Résistance des plasmodiums aux médicaments antipaludiques

Selon l'OMS, la protection de l'efficacité des médicaments antipaludiques est une priorité absolue pour les pays d'endémie palustre ainsi que la communauté mondiale engagée dans la lutte antipaludique. Un suivi continu de leur efficacité est nécessaire pour orienter les politiques thérapeutiques et garantir une détection précoce de la résistance aux antipaludiques (22). La chimiorésistance des plasmodiums concerne principalement *P. falciparum* (15).

- Résistance à la chloroquine

La chloroquinorésistance se définit par la persistance dans les hématies de parasites asexués 7 jours après le début d'un traitement à la chloroquine bien conduit. L'évaluation de la résistance en fonction de la parasitémie permet d'établir trois seuils de résistance :

- RI : disparition des parasites au 7<sup>ème</sup> jour, suivie d'une réapparition ;
- RII : diminution de la parasitémie ;
- RIII : aucune diminution de la parasitémie (15).

Les premiers cas de résistance à la chloroquine sont apparus dès 1957 en Asie et en Amérique du sud et dès 1980 en Afrique. La fréquence des résistances de stade RI, RII, RIII a respectivement permis de classer les pays infectés en 3 groupes de chloroquinorésistance (15) :

- Pays du groupe 0 : zones sans paludisme ;
- Pays du groupe 1 : zones sans chloroquinorésistance (chimio prophylaxie par chloroquine) ;
- Pays du groupe 2 : zones de chloroquinorésistance (chimio prophylaxie par chloroquine-proguanil ou atovaquone-proguanil) ;
- Pays du groupe 3 : zones de prévalence élevée de chloroquinorésistance et de multirésistance (chimio prophylaxie par méfloquine, atovaquone-proguanil ou doxycycline) (23).

Depuis 2015 en France, à l'instar de l'OMS, le HCSP (Haut Conseil de Santé Publique) a supprimé la répartition en 3 groupes. Les chimio prophylaxies recommandées aux voyageurs sont adaptées chaque année selon différents critères, dont la résistance aux antipaludiques, et directement inscrites en toute lettre pour chaque pays dans le BEH (23).

- Résistance aux autres antipaludiques

Hormis la chloroquine, plusieurs molécules ont fait l'objet de cas documentés de résistance telles que :

- La quinine (d'abord rares dans les années 1960 au Brésil et en Asie du sud-est, puis fréquents depuis les années 1980 en Asie, en Amérique du sud et en Afrique) ;
- L'amodiaquine (résistances croisées à la chloroquine, mais l'amodiaquine semble plus efficace même dans les zones où la chloroquinorésistance est élevée) ;
- La méfloquine et l'association artésunate-méfloquine (essentiellement sur le continent asiatique) ;
- La pyriméthamine et l'association sulfadoxine-pyriméthamine (ancien antimalarique ayant fait l'objet d'une résistance rapide et importante) ;
- L'artémisinine et ses dérivés (dihydroartémisinine, artéméther, artésunate) (15).

L'artémisinine est une substance active isolée de la plante *Artemisia annua* (armoïse annuelle) connue depuis environ 2000 ans de la médecine traditionnelle chinoise (7) et introduite dans notre pharmacopée depuis le début des années 1990. La résistance de *P. falciparum* à l'artémisinine apparue depuis 2008 dans le bassin du Mékong en Asie du sud-est (15) est un problème de santé publique urgent qui compromet la viabilité des opérations actuellement menées à l'échelle mondiale pour réduire la charge du paludisme (22).



Pour stopper la propagation de la résistance à l'artémisinine, le Comité de pilotage de la lutte antipaludique de l'OMS a recommandé en 2014 d'adopter comme objectif l'élimination du paludisme dans le bassin du Mékong d'ici à 2030 (15). De plus, l'OMS déconseille fortement l'utilisation continue des monothérapies à base d'artémisinine par voie orale, puisque considérée comme un facteur majeur contribuant au développement de la résistance à l'artémisinine et ses dérivés. De fait, l'OMS rappelle que les CTA (Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine) constituent l'essentiel des traitements antipaludiques recommandés actuellement pour traiter un accès simple à *P. falciparum* et que leur efficacité doit être préservée, étant donné qu'aucune mise sur le marché d'une nouvelle classe de médicaments antipaludiques n'est attendue dans les prochaines années (24).

#### 1.4. Recherche en stratégies de lutte innovantes

##### 1.4.1. Vaccins

###### 1.4.1.1. RTS,S/AS01

Après 30 ans de recherches, le candidat vaccin RTS,S/AS01 (Mosquirix®) contre *P. falciparum* est le premier et, à ce jour, seul vaccin antipaludique au monde à avoir atteint une phase III d'essai clinique. L'antigène est une protéine de surface du sporozoïte appelée circumsporozoïte (CSP). Ainsi, RTS,S/AS01 a démontré une réduction significative du paludisme évaluée à environ 4 cas sur 10, dont 3 cas de paludisme grave potentiellement mortel (7)(15)(25).

Néanmoins, force est de constater que la protection n'atteint pas 50 % et, surtout, qu'elle n'est pas stable dans le temps (7) puisque efficace sur une période de 4 ans (1). De plus, deux problèmes se posent :

- Dans la tranche d'âge 5-17 mois, des effets indésirables graves tels que des convulsions fébriles ont été identifiés ainsi qu'une augmentation significative du nombre de cas de méningites et de paludisme cérébral dans le groupe RTS,S/AS01 par rapport au groupe témoin ;
- Le vaccin comportant 4 doses, il est difficile de l'intégrer aux programmes nationaux de vaccination (15).

En 2015, l'EMA (Agence Européenne du Médicament) a donné un avis favorable pour l'utilisation du vaccin RTS,S/AS01 en Afrique, en zones d'endémie (15). Il faudra attendre Avril 2019 pour que le premier programme pilote du vaccin soit lancé et mis à la disposition des enfants de moins de 2 ans d'abord au Malawi, puis au Ghana et au Kenya. Ce programme pilote est conçu pour recueillir des données probantes et de l'expérience afin d'éclairer les recommandations de l'OMS en matière de politique sur une utilisation plus large du vaccin. Il a pour vocation de diminuer le nombre de décès infantiles, de favoriser le recours au vaccin et d'évaluer la sécurité du vaccin dans le contexte d'une vaccination systématique à grande échelle (25).

Toutefois, n'étant que partiellement efficace, ce vaccin viendra renforcer les mesures de prévention, de diagnostic et de traitement recommandées par l'OMS, auxquelles il ne se substituera pas (15).

#### 1.4.1.2. *GAP3KO*

Le candidat vaccin Pf GAP3KO est un vaccin vivant atténué, élaboré à partir de sporozoïtes de *P. falciparum* génétiquement modifiés : 3 gènes essentiels à l'infection érythrocytaire ont été supprimés (p52-/p36-/sap1-). Lors des essais cliniques de phase I, après administration d'une dose unique, les 10 volontaires sains ont produit des anticorps anti-sporozoïtes sans développer l'infection au stade sanguin. Chez un modèle murin humanisé transplanté d'hépatocytes et de globules rouges humains, une immunisation à deux doses avec des sporozoïtes Py GAP3KO a conféré une protection complète contre *Plasmodium yoelii*. Ces résultats justifient la poursuite des essais cliniques et annoncent un développement potentiel de Pf GAP3KO en une souche vaccinale (26).

#### 1.4.2. *Étude du microbiote intestinal de l'anophèle*

Les moustiques transmettent un large éventail de maladies virales et parasitaires humaines, au sein desquelles le paludisme demeure l'une des plus dévastatrices d'aujourd'hui.

Dans un contexte ayant pour but de caractériser plus en profondeur les interactions moustiques-parasites, l'étude de la flore intestinale anophélienne comme barrière naturelle à la transmission du paludisme suscite un intérêt croissant depuis les deux dernières décennies. En effet, une meilleure compréhension des rôles du microbiote intestinal de l'anophèle dans la défense contre les agents pathogènes pourrait mener à l'élaboration opportune de nouvelles méthodes de lutte antipaludique basées sur la manipulation de ce microbiote (2)(27)(28).

##### 1.4.2.1. *Goulot d'étranglement du cycle plasmodial*

Le parasite du paludisme doit passer par une série de transitions complexes au sein du vecteur moustique avant de pouvoir être transmis à l'hôte humain. Le principal obstacle au développement du plasmodium se produit lors de l'invasion de l'épithélium de l'intestin moyen du moustique, avant la différenciation en oocystes sur la lame basale (29). Plus précisément, le stade de l'oocyste dans la lumière intestinale est un goulot d'étranglement critique du cycle parasitaire qui détermine si le moustique éliminera le plasmodium ou au contraire transmettra le paludisme (30).

Les facteurs qui contribuent à l'élimination des parasites à ce stade sont les enzymes digestives, les défenses immunitaires et la flore microbienne intestinale du vecteur (31)(32)(33).

#### 1.4.2.2. Mécanismes bactériens affectant la capacité vectorielle

Le repas sanguin du moustique sur un hôte déclenche une prolifération transitoire de sa masse microbienne intestinale (34)(35) qui, par différents mécanismes bactériens essentiellement négatifs, inhibe l'infection à *Plasmodium* spp. et par conséquent module la capacité vectorielle de l'anophèle (Figure 12) (2) :

- Impact direct par la production d'antimicrobiens non caractérisés (36)(37) et d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou encore via l'inhibition du système de défense oxydatif du parasite (38)(39) ;
- Impact indirect via la stimulation du système immunitaire (35)(40) ;
- Induction de la matrice péritrophique, barrière composée de chitine qui sépare physiquement l'épithélium intestinal de son contenu luminal et protège le moustique de la dissémination de pathogènes dans sa cavité corporelle (28). L'ookinète sécrète cependant une chitinase nécessaire pour traverser la matrice péritrophique (41)(42), indiquant que si elle n'est pas impénétrable, sa présence exerce au moins une certaine pression de sélection sur les parasites du paludisme. De ce point de vue, il pourrait s'agir d'un mécanisme de résistance à l'invasion parasitaire induit par le microbiote contre le plasmodium.

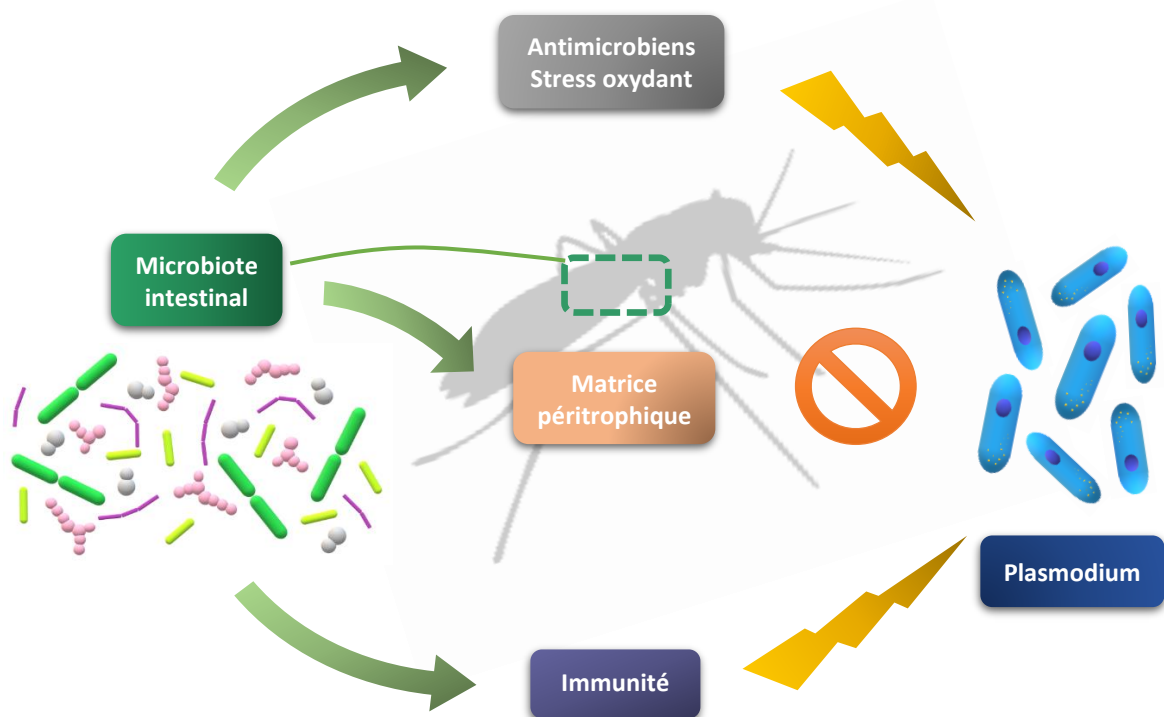


Figure 12. Impact négatif du microbiote intestinal de l'anophèle sur le plasmodium (2)

#### 1.4.2.3. *Limites et défis*

Agir sur la capacité vectorielle des moustiques en jouant sur les propriétés du microbiote de l'intestin moyen semble être une source prometteuse de nouvelles stratégies de lutte antipaludique (27)(43)(44)(45).

Cependant, bien que nos connaissances sur le microbiote du moustique soient en constante expansion, plusieurs aspects n'ont pas encore été complètement élucidés et représentent les défis actuels dans ce domaine. En particulier, la composante non bactérienne du microbiote du moustique n'a pas été étudiée de manière aussi approfondie que la composante bactérienne, bien que les virus et les eucaryotes puissent être aussi utiles que les procaryotes pour limiter l'infection à *Plasmodium*. De plus, il est difficile de savoir si le microbiote de la voie de reproduction ou des glandes salivaires a un impact sur la transmission du parasite. Enfin, la plupart des études fonctionnelles menées sur le microbiote ont été réalisées sur des moustiques élevés en laboratoire, réputés posséder une communauté microbienne différente de celle des moustiques sauvages (2).

Un autre défi important est la résolution des problèmes réglementaires, éthiques et sociaux liés à la libération d'organismes génétiquement modifiés (45).

---

## PARTIE 2

-

# LES GRANDS PRINCIPES DU MICROBIOTE INTESTINAL

## 2. LES GRANDS PRINCIPES DU MICROBIOTE INTESTINAL

Le terme microbiote ou flore désigne un ensemble de micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus, parasites) vivant dans un environnement spécifique. On distingue différents microbiotes associés au corps humain selon les surfaces colonisées, tels que le microbiote cutané, respiratoire, ORL, urinaire, vaginal et le microbiote intestinal qui représente la niche écologique principale (46).

Le microbiote intestinal est un écosystème endogène complexe composé d'une vaste communauté microbienne non pathogène (dite commensale) majoritairement bactérienne (47) formant une relation mutuellement bénéfique avec l'hôte appelée symbiose. Il est nécessaire à d'importantes fonctions physiologiques, notamment immunitaires et métaboliques, si bien qu'il peut être considéré comme un organe à part entière. Sous l'influence de différents facteurs intrinsèques et extrinsèques, cette homéostasie peut être menacée et conduire à une dysbiose intestinale fréquemment associée à des états pathologiques (48)(49).

De nos jours, le statut du microbiote intestinal en tant que cible thérapeutique revêt de plus en plus d'importance, notamment avec les probiotiques et la transplantation fécale (3).

### 2.1. *Composition et diversité inter-individuelle*

Le tractus gastro-intestinal humain représente l'une des plus grandes interfaces (250 à 400 m<sup>2</sup>) entre l'organisme et l'environnement extérieur (alimentation, germes pathogènes...) (50). On estime que le nombre de micro-organismes résidant dans l'intestin dépasse 10<sup>14</sup> soit environ 10 fois plus de cellules bactériennes que de cellules humaines et représente une masse moyenne de 2 kg (48)(51). Cependant, une estimation récemment révisée suggère que le ratio cellules humaines/bactéries est plus proche de 1/1 avec 3,9 x 10<sup>13</sup> bactéries (52). Le génome bactérien est évalué à environ 10<sup>8</sup> gènes soit 100 à 150 fois la quantité du génome humain (48)(51). Ainsi, l'hôte et les micro-organismes qui cohabitent sont souvent qualifiés de « super organisme » (51)(53).

Comme dans tout écosystème bactérien, plus de 90 % des espèces du microbiote intestinal ne sont pas cultivables en laboratoire. De nouvelles technologies basées sur l'analyse moléculaire de l'ARN ribosomal 16S (ARNr16S) ou de son gène codant (ADNr16S) ont mis en évidence l'importance de la part non cultivable de la flore et ont permis d'appréhender la grande diversité de l'écosystème intestinal (3). Le programme MétaHIT lancé en 2008 a eu pour objectif d'identifier l'ensemble des génomes microbiens intestinaux appelé métagénome. Il a été la première étude à démontrer l'extrême richesse de la flore intestinale, en identifiant des centaines d'espèces bactériennes inconnues jusque-là grâce au séquençage haut-débit de l'ADN. L'analyse d'échantillons de selles recueillis auprès de 124 personnes a identifié un total de 3,3 millions de gènes différents, appartenant à plus de 1 000 espèces différentes, dont une large majorité est d'origine bactérienne. Sur le plan individuel, elle a aussi montré que chaque individu portait en moyenne 540 000 gènes microbiens, soit environ 160 espèces

majoritairement anaérobies réparties en 7 phyla (embranchements) bactériens différents. À l'instar de l'empreinte digitale, la composition du microbiote intestinal est unique pour chaque individu, bien que plus de 95 % des bactéries le composant puissent être réparties en 4 phyla majeurs : *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* et *Proteobacteria*. Les *Firmicutes* et les *Bacteroidetes* constituent les deux phyla dominants avec une représentativité respective de 60–75 % et 30–40 % (Figure 13). Parmi ces 160 espèces de bactéries que comporte en moyenne un individu sain, une moitié est communément retrouvée d'un individu à l'autre. Il existerait d'ailleurs un socle commun à tous les individus de 15 à 20 espèces en charge des fonctions essentielles du microbiote intestinal (54)(55). Cette variabilité inter-individuelle explique la difficulté d'établissement d'un consensus sur la composition d'un microbiote intestinal « sain » ou « normal » (56).

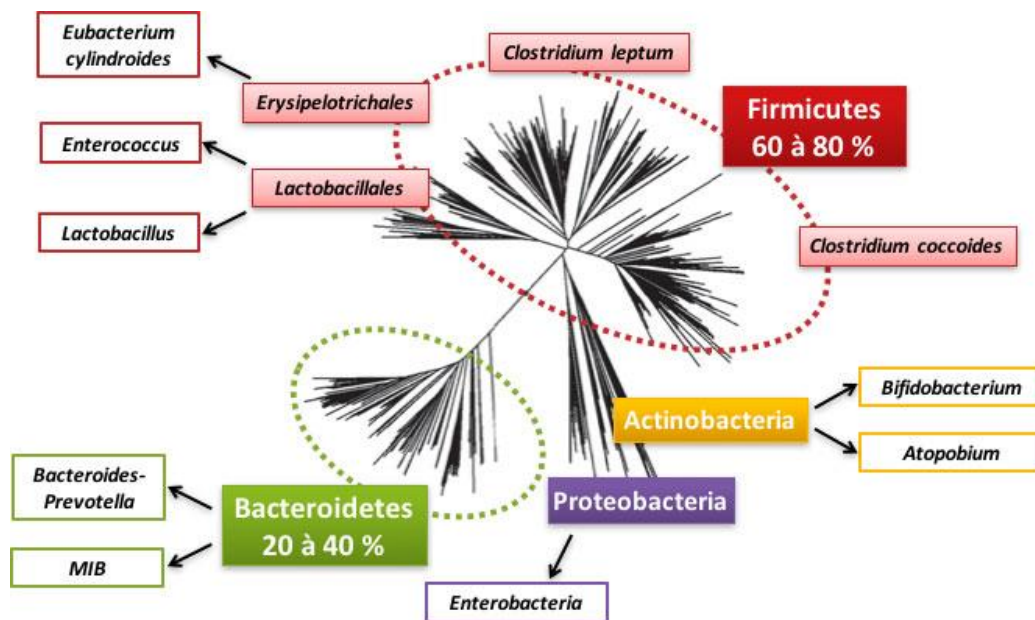


Figure 13. Arbre phylogénétique des différents phyla bactériens composant le microbiote intestinal (57)

Une collaboration internationale au sein du consortium MétaHIT a permis l'analyse de 396 échantillons de selles supplémentaires et de répartir les 3,9 millions de gènes du catalogue dans 7 381 groupes de co-abondance de gènes. Environ 10 % de ces groupes correspondaient à des espèces bactériennes appelées espèces métagénomiques (MGS) dont 85 % constituaient des espèces bactériennes inconnues. Les 90 % restants correspondaient à des groupes de bactériophages, de plasmides ou encore de séquences CRISPR (gènes protégeant les bactéries d'attaques virales) (58). Ainsi, le virome (collection d'ARN et d'ADN viraux) constitue sans doute avec la flore fongique (levures et champignons) d'autres sujets d'étude du microbiote intestinal à explorer (46).

Le microbiote intestinal n'est pas aussi diversifié que les communautés microbiennes de certains autres sites corporels et révèle un haut degré de redondance fonctionnelle (59)(60)(61). Un catalogue exhaustif de la capacité fonctionnelle du microbiome intestinal humain a été récemment établi. 9 879 896 gènes ont été identifiés via une combinaison de 249 échantillons nouvellement séquencés et de 1 018 antérieurement publiés. L'étude a identifié la présence de signatures microbiennes spécifiques à chaque pays, suggérant que la composition du microbiote intestinal est façonnée par des facteurs environnementaux tels que le régime alimentaire et dans une moindre mesure par la génétique de l'hôte (62). Cependant, il convient de noter que des microbiotes de composition différente peuvent partager un certain degré de redondance fonctionnelle, produisant des profils de protéines ou de métabolites similaires (63). Cette information est cruciale dans le développement de stratégies thérapeutiques ayant pour objectif de restaurer la flore intestinale.

Au-delà de l'identification des espèces bactériennes présentes dans l'écosystème intestinal en condition de normobiose, ces analyses métagénomiques permettent également de caractériser les modifications de composition et de fonction du microbiote intestinal (3).

## 2.2. Organisation dans l'espace

Le microbiote intestinal est une structure organisée dans l'espace qui présente des propriétés spécifiques dans une région donnée (64). Le long du tube digestif, la densité et la composition bactériennes sont affectées par des gradients physiques, chimiques, immunologiques et nutritionnels (Figure 14).

Le microbiote intestinal s'amasse progressivement de l'intestin grêle jusqu'au côlon. En effet, l'acidité gastrique et la haute teneur en oxygène rendent la paroi de l'estomac quasi stérile. Dans l'intestin grêle, la présence d'antimicrobiens combinée à un temps de transit court freinent la croissance bactérienne. Seuls quelques anaérobies facultatifs à croissance rapide et capables d'adhérer à un épithélium/mucus peuvent subsister, tels que des *Lactobacillaceae* et *Enterobacteriaceae*. Au final, sous l'effet du péristaltisme, la flore intestinale se concentre dans sa grande majorité au niveau du côlon. Les conditions coliques soutiennent une collection riche et diverse de bactéries anaérobies capables d'utiliser les glucides complexes non digérés dans l'intestin grêle, telles que des *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, *Rikenellaceae*, *Lachnospiraceae* et *Ruminococcaceae* (65).

Les populations bactériennes luminales libres et celles liées à la muqueuse intestinale doivent être distinguées car elles présentent des compositions et des fonctions différentes (66). La muqueuse du côlon possède un mucus luminal libre (externe) et un mucus épithélial attaché (interne), colonisés par des populations bactériennes distinctes (65)(67). Le biofilm muqueux tapissant l'épithélium possède des fonctions immunitaires de protection contre les agents pathogènes et de régulation du système immunitaire ainsi que des fonctions métaboliques de transformation des aliments et d'échange de nutriments (3). Cependant, dans un souci d'intégrité, un phénomène de barrière intestinale limite la progression des bactéries commensales vers les cellules de l'hôte grâce à différents facteurs : les couches de mucus, les peptides antimicrobiens dont ceux produits par les cellules de Paneth à la base des cryptes (68), les immunoglobulines A sécrétées (sIgA) (69) et un gradient d'oxygène élevé qui sélectionne



les espèces capables de survivre près de la surface épithéliale (70). Globalement, l'abondance des *Bacteroidetes* est plus élevée dans la lumière que dans la muqueuse (71)(72), alors que les *Firmicutes* sont enrichis dans le mucus par rapport à la lumière (72).

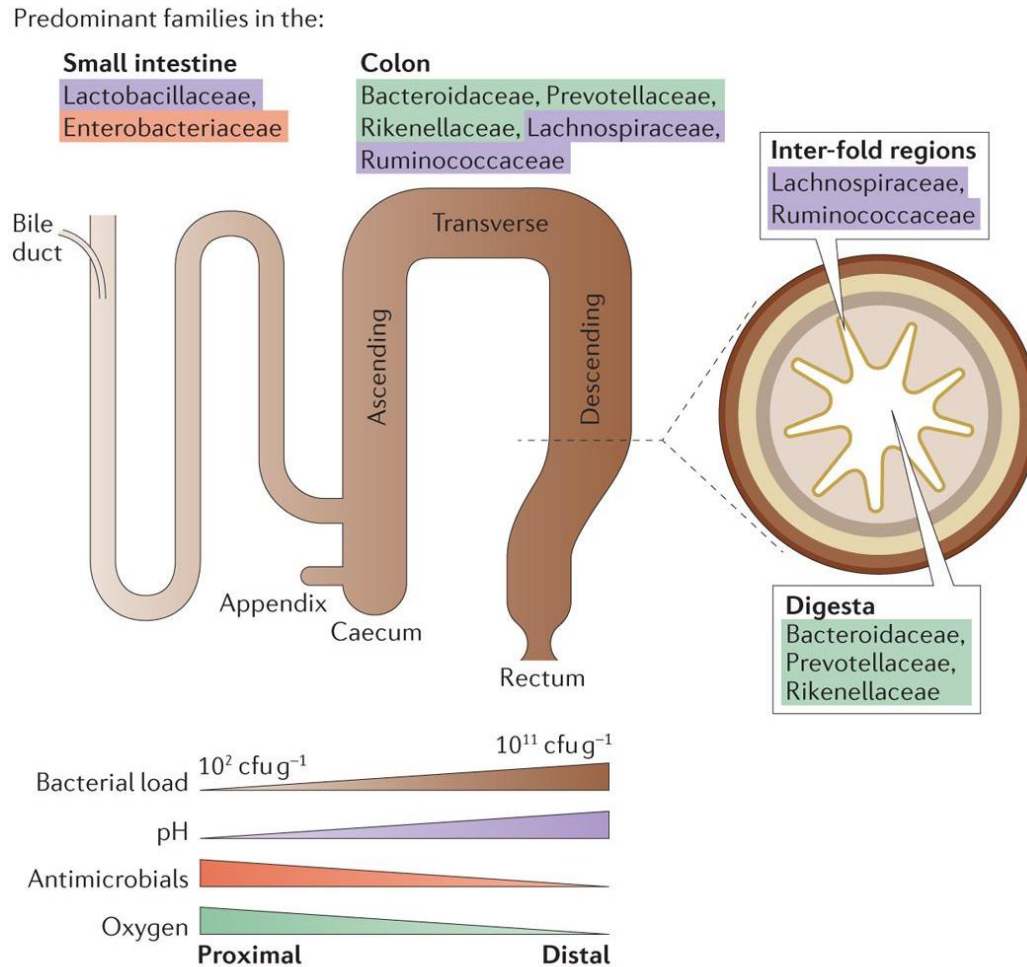


Figure 14. Composition et densité bactériennes du tractus gastro-intestinal inférieur humain sous l'influence de différents facteurs (65)

Ces observations mettent en évidence la nécessité d'une attention particulière au choix de la méthode d'échantillonnage lors d'analyses de la composition du microbiote intestinal. En effet, la flore fécale correspond à la flore luminale et est le plus souvent étudiée en raison de la facilité de collecte des échantillons fécaux. Si l'importance des différences de composition et de rôle du microbiote luminale par rapport au microbiote muqueux est reconnue, elle demeure à ce jour mal évaluée (3).

### 2.3. Acquisition de la flore intestinale chez l'enfant

Dès les premières heures suivant la venue au monde, le microbiote intestinal des nouveau-nés se façonne. Au cours de la première année de vie, la diversité microbienne augmente progressivement jusqu'à atteindre un état mature (composition, capacités fonctionnelles et stabilité) vers l'âge de 3 ans. La succession des espèces bactériennes implique de nombreuses espèces transitoires qui disparaîtront une fois que les conditions intestinales auront changé, mais aussi des espèces qui persisteront pendant la vie adulte. Parallèlement, la flore intestinale est relativement dépendante de plusieurs facteurs qui impactent son développement, notamment le patrimoine génétique, les paramètres de grossesse et de naissance, l'influence de la mère, l'environnement familial, l'alimentation, les traitements, l'hygiène, etc. (73)(74).

Le microbiote intestinal des nouveau-nés est très différent de celui des adultes, peu diversifié et représenté par deux principaux phyla : *Actinobacteria* et *Proteobacteria* (75). Il est aussi beaucoup plus instable dans le temps et présente une variabilité inter-individuelle plus importante (76). L'établissement d'un microbiote intestinal stable s'accompagne généralement de deux grandes transitions dans la petite enfance. La première a lieu peu après la naissance, pendant l'allaitement au lait maternel, et entraîne une croissance prépondérante d'espèces du genre *Bifidobacterium*. La deuxième transition survient pendant la période de sevrage avec l'introduction d'aliments solides parallèle à la poursuite de l'allaitement (77)(78)(79)(80)(81) et aboutit, dès l'âge de 1 an jusqu'à 3 ans, à la création d'un microbiote complexe de type adulte dominé par les phyla *Firmicutes* et *Bacteroidetes* (82) (Figure 15).

Au final, l'acquisition du microbiote intestinal chez l'enfant est un processus essentiel qui se produit au cours d'une « fenêtre critique » durant laquelle toute perturbation peut être à l'origine de diverses pathologies, notamment immunitaires. Bien que le développement normal du microbiote soit assez bien établi, les paramètres qui l'influencent sont plus difficiles à comprendre (83)(84).

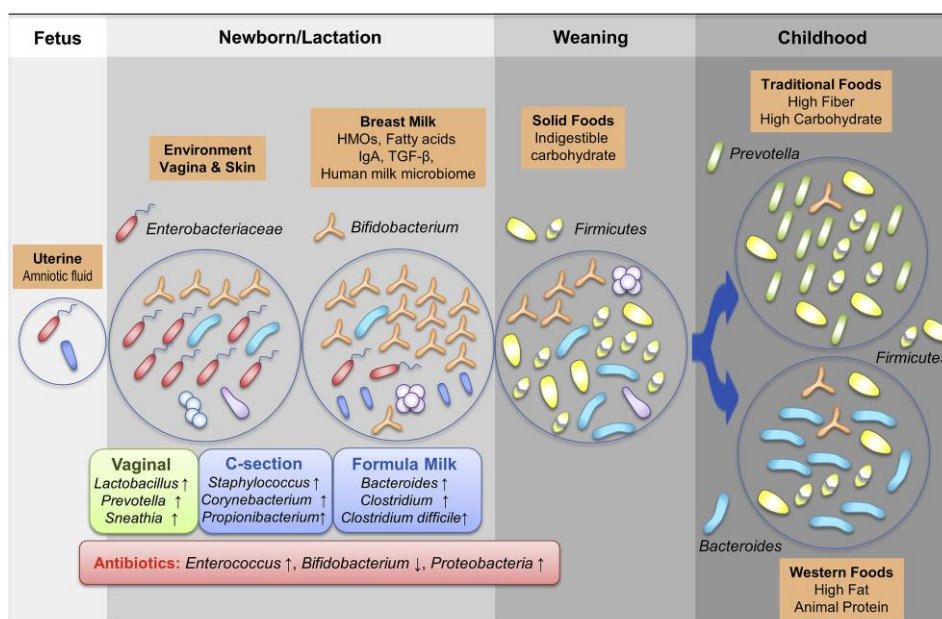


Figure 15. Développement de la flore intestinale chez l'enfant (85)

### 2.3.1. Période néonatale

#### 2.3.1.1. Colonisation in utero

Bien qu'il soit communément admis que l'environnement intra-utérin et le tractus gastro-intestinal du fœtus soient stériles jusqu'à l'accouchement, certaines études montrent la présence de bactéries qui pourraient influencer le microbiote du nouveau-né in utero (86)(87). Des études récentes ont révélé la présence de micro-organismes dans le liquide amniotique (88)(89)(90), les membranes fœtales, le cordon ombilical (91), le placenta (92) et le méconium (premières selles du nourrisson) (93)(94)(95).

Le microbiote du méconium pourrait être classé en deux groupes : le premier moins diversifié et dominé par des *Enterobacteriaceae*, et l'autre plus diversifié et dominé par des *Firmicutes*, en particulier les bactéries lactiques. Ces deux profils diffèrent des flores vaginale, fécale et cutanée d'une femme enceinte, mais se rapprochent de celle du liquide amniotique, suggérant que les bactéries présentes dans l'utérus pourraient entraîner une colonisation prénatale de l'intestin du fœtus par le biais du liquide amniotique avalé (95)(96). La présence d'espèces bactériennes dans le méconium (telles que *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium* et *Staphylococcus epidermidis*) pourrait résulter de la translocation des bactéries intestinales de la mère par le sang (93). Il convient de noter que le type de microbiote présent dans le méconium est associé à des facteurs maternels tels que des antécédents d'allergie et pourrait avoir des conséquences sur la santé des enfants (95).

On ignore encore si l'existence de ces bactéries dans l'environnement intra-utérin est systématique ou exceptionnelle, si ces bactéries sont viables et capables d'initier la colonisation du tractus gastro-intestinal in utero et quelles influences elles peuvent avoir sur les phases ultérieures du développement du microbiote intestinal du nourrisson. Ces découvertes font actuellement l'objet de débats animés et des études supplémentaires seront nécessaires pour comprendre correctement ce phénomène (97).

#### 2.3.1.2. Naissance et mode d'accouchement

L'acquisition de la flore intestinale débute à la naissance lorsque le nouveau-né se retrouve brutalement plongé dans un monde microbien riche. Il est rapidement colonisé par une flore simple issue des flores de sa mère et de son environnement. La colonisation par les bactéries d'origine vaginale (98) et fécale (99) de la mère a été clairement établie. Cependant, la flore fécale maternelle semble être le déterminant essentiel des premières bactéries s'implantant chez l'enfant, les nouveau-nés étant davantage colonisés par les entérobactéries et bifidobactéries d'origine fécale que par les lactobacilles d'origine vaginale. Un « tri sélectif » est effectué, toutes les bactéries auxquelles l'enfant est exposé ne s'implantant pas, ou du moins pas dans les mêmes mesures (99). Les facteurs bactériens permettant l'implantation d'une souche donnée sont peu connus. Une étude sur le suivi de l'implantation d'*Escherichia coli* a montré que les souches résidentes, contrairement aux souches transitoires, avaient certaines caractéristiques pouvant favoriser leur colonisation, telles que des gènes codant pour

des fimbriae ou des hémolysines (100). Des études chez l'animal ont montré que les premières bactéries colonisant le tube digestif étaient capables d'induire des glycosylations spécifiques du glycocalyx et de moduler l'expression des gènes des entérocytes, montrant l'avantage écologique de ces premières colonisatrices (101).

Malgré les différences observées entre les études, liées aussi bien aux techniques bactériologiques mises en œuvre qu'aux variations individuelles ou géographiques, un schéma général d'implantation se dégage. Le schéma classique de développement du microbiote intestinal chez les nouveau-nés implique une colonisation précoce par des anaérobies facultatifs, il est temporairement dominé par des *Enterobacteriaceae* (principalement *E. Coli*), *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus*. En quelques jours, lorsque ces derniers ont épuisé l'apport initial en oxygène, l'intestinal devient propice au développement d'anaérobies stricts telles que *Bacteroides*, *Clostridium*, *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* (102) qui deviendra le genre dominant malgré des études contradictoires (103)(104). Le nouveau-né est ensuite continuellement exposé à de nouvelles sources de bactéries provenant de l'environnement, de la nourriture et des bactéries cutanées des adultes via les tétées, les caresses ou les baisers (105).

Le mode d'accouchement semble affecter la composition du microbiote intestinal. Alors que le microbiote fécal d'enfants nés par voie vaginale correspond dans 72 % des cas au microbiote fécal de leur mère, ce pourcentage est réduit à seulement 41 % chez les enfants nés par césarienne (77). Les microbiotes intestinaux d'enfants nés par voie basse ressemblent au microbiote vaginal de leur mère dominé par *Lactobacillus*, *Prevotella* ou *Sneathia*, tandis que les microbiotes d'enfants nés par césarienne ressemblent davantage au microbiote cutané de leur mère dominé par *Staphylococcus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium* (106). Ces études suggèrent que l'amorçage de la colonisation intestinale dépend des premières communautés microbiennes abondantes rencontrées par le nouveau-né.

De plus, il a été démontré que le mode d'accouchement avait une forte influence sur la célérité de colonisation. Les enfants nés par césarienne rencontrent majoritairement dans un premier temps les bactéries de leur environnement (peau de la mère, air, personnel soignant, entourage, etc.). L'implantation de leur flore est donc différente de celle des enfants nés par voie basse : les premières bactéries implantées sont toujours les anaérobies facultatifs (entérobactéries, entérocoques, staphylocoques), mais la flore anaérobie stricte s'implante beaucoup plus tardivement (107). De fait, en comparaison avec les enfants nés par voie naturelle, les enfants nés par césarienne possèdent un microbiote intestinal moins diversifié. Cela s'observe principalement à travers le retard de colonisation des bifidobactéries généralement jusqu'à l'âge de 1 mois (108)(109)(110) et des *Bacteroides* entre 1 et 6 mois (107)(111)(112). *Clostridium difficile* était quant à lui abondant à 1 mois (86).

À long terme, une augmentation significative de *Clostridia* a été décrite chez des enfants âgés de 7 ans nés par voie basse par rapport aux enfants nés par césarienne. Cependant, aucune autre différence n'a été rapportée concernant les densités de bifidobactéries, de lactobacilles ou de *Bacteroides* (113). La caractéristique unique de cette dernière étude illustre la nécessité de disposer de plus de données sur l'influence à long terme du premier microbiote colonisant l'intestin du nouveau-né. Pourtant, la naissance par césarienne a été associée à un risque accru

de troubles immunitaires tels que la rhinite allergique, l'asthme et la maladie cœliaque (114)(115).

Toutefois, chez les nouveau-nés prématurés, le mode d'accouchement semble avoir moins d'influence sur la colonisation intestinale : l'analyse d'échantillons de selles de prématurés n'a révélé aucune corrélation entre le mode d'accouchement et les niveaux de colonisation de divers micro-organismes, y compris *Bifidobacterium*. Ceci suppose que l'influence du mode d'accouchement sur le développement de la flore intestinale n'existerait que pour les enfants nés à terme (116).

### 2.3.1.3. Terme de grossesse

La durée de gestation est un paramètre important qui marque profondément l'établissement ultérieur du microbiote intestinal du nourrisson. La comparaison du microbiote fécal d'enfants nés à terme et de prématurés a révélé des différences significatives. Chez les enfants nés à terme, la diversité du microbiote fécal était plus élevée et des genres plus communs tels que *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* et *Streptococcus* étaient présents (116). Des entérobactéries et d'autres bactéries potentiellement pathogènes telles que *Clostridium difficile* ou *Klebsiella pneumoniae* ont été retrouvées en plus grand nombre chez les prématurés (117).

Les faits notables de l'implantation de la flore digestive chez ces nouveau-nés sont d'une part un retard de colonisation important par rapport aux enfants nés à terme et d'autre part une colonisation par un nombre plus réduit d'espèces bactériennes (118)(119). Si la flore aérobie (entérobactéries, entérocoques, staphylocoques) colonise assez rapidement le prématuré, l'implantation de la flore anaérobie (*Bifidobacterium* et *Bacteroides*) est retardée. Dans une étude portant sur des prématurés d'âge gestationnel moyen de 29,5 semaines d'aménorrhée, les bifidobactéries apparaissent à un âge moyen de  $10,6 \pm 2,7$  jours et ne deviennent dominantes qu'à  $19,8 \pm 8,9$  jours de vie (120). Ce retard d'implantation peut s'expliquer par le fait que ces enfants soient plus fréquemment nés par césarienne, rapidement séparés de leur mère, placés dans un environnement de soins intensifs très aseptisé et fréquemment soumis à une antibiothérapie à large spectre.

L'analyse moléculaire de la flore fécale de prématurés a confirmé les données de la culture avec l'implantation d'une flore simplifiée. La similarité inter-individuelle des profils de microbiote était significativement plus élevée chez les prématurés que chez les enfants nés à terme, correspondant à l'acquisition d'un microbiote spécifique lié à l'hôpital. Ceci illustre la prééminence de l'environnement sur l'établissement de leur flore intestinale, fait qui ne se retrouve pas chez les enfants nés à terme. Dans cette étude, la prévalence de bactéries anaérobies facultatives telles que *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. et *Klebsiella pneumoniae* était plus élevée chez les prématurés (121).

### 2.3.2. Alimentation infantile

Une étude suivant l'évolution du microbiote intestinal d'enfants depuis leur naissance jusqu'à 2,5 ans a révélé une forte influence du régime alimentaire sur les variations des communautés microbiennes (122). Ainsi, l'allaitement au lait maternel et/ou l'alimentation au lait maternisé et plus tard l'introduction des aliments solides affectent l'abondance de certains groupes de bactéries intestinales durant la période post-natale (85)(97).

#### 2.3.2.1. Allaitement

Le lait maternel est la meilleure forme d'alimentation pendant la petite enfance. Si la composition du lait maternel humain varie dans le temps, celui-ci reste majoritairement constitué d'eau ainsi que de nombreux composants assurant différentes fonctions essentielles pour la croissance du nourrisson, tels que :

- Des éléments nutritionnels :
  - Macronutriments (glucides, lipides, protéines) ;
  - Micronutriments (minéraux, oligoéléments, vitamines) (123)(124).
- Des éléments non nutritionnels :
  - Facteurs immunitaires (leucocytes, anticorps, cytokines, etc.) ;
  - Protides métaboliques (hormones, enzymes, nucléotides, etc.) (123)(124).

Le lait maternel humain est une source importante d'oligosaccharides appelés HMO (human milk oligosaccharides) possédant un effet prébiotique notoire sur le microbiote intestinal en développement des nourrissons nourris au sein (125). Ces oligosaccharides, tels que les galacto-oligosaccharides (GOS), ne sont que partiellement digérés dans l'intestin grêle et s'accumulent au niveau du côlon où ils sont fermentés principalement par des bactéries du genre *Bifidobacterium*, afin de produire des acides gras à chaîne courte (AGCC) (126)(127). Les HMO régulent l'expression de plusieurs voies chez *Bifidobacterium longum subsp. longum*, notamment celles de gènes codant pour la dégradation des glucides et l'adhérence cellulaire (128). De plus, *Bifidobacterium longum subsp. infantis* possède plusieurs groupes de gènes dédiés au métabolisme des HMO (129). Par exemple, *Bifidobacterium* spp. exprime une enzyme appelée lacto-N-biosidase qui facilite l'assimilation de GOS (130). Enfin, une étude réalisée chez des nourrissons âgés de 1 mois a révélé qu'à mesure que le nombre de *Bifidobacterium* augmentait, la quantité de HMO dans les fèces diminuait. Par conséquent, les HMO sont des prébiotiques qui stimulent de manière sélective le développement d'un microbiote riche en *Bifidobacterium* (131). Particulièrement, *Bifidobacterium infantis*, dont la croissance est ainsi favorisée par les HMO, serait directement corrélée à la quantité de sIgA et aurait des effets anti-inflammatoires (132)(133).

Le lait maternel contient également de nombreux médiateurs immunitaires, notamment des immunoglobulines (Ig) telles que les IgA et les IgG, des peptides antimicrobiens tels que le lysozyme et la lactoferrine, des cytokines immunitaires régulatrices telles que le TGF- $\beta$  (transforming growth factor beta) et l'interleukine 10 (IL-10) et des lymphocytes exprimant des marqueurs intestinaux (134)(135)(136). Ces substances favorisent le développement du

système immunitaire de l'enfant allaité et modulent parallèlement la composition du jeune microbiote en sélectionnant les bactéries qui colonisent le tractus gastro-intestinal (137)(138).

Des études récentes montrent que le lait maternel n'est pas stérile. Bien au contraire, il ne contiendrait pas moins de 600 espèces bactériennes différentes et  $10^3$  à  $10^4$  UFC/ml de cellules bactériennes (139). Les genres de bactéries isolées d'échantillons de lait maternel sont principalement *Streptococcus* et *Staphylococcus*, qui correspondent aux colonisateurs précoces de l'intestin (140)(141)(142). *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* sont également fréquemment détectés, suggérant un rôle important du lait maternel en tant que système d'administration de probiotiques (143). En outre, des études utilisant des approches moléculaires indiquent que des bactéries Gram (-) sont également présentes, notamment *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp. et certaines typiques de la cavité buccale telles que *Veillonella* spp., *Leptotrichia* spp. et *Prevotella* spp. (144). Cela suggère que certaines bactéries peuvent être transférées de la mère à l'enfant via le lait maternel. Le génotypage d'isolats bactériens (*Lactobacillus*, *Staphylococcus* et *Bifidobacterium*) à partir du lait maternel de mères et d'échantillons fécaux de leur nourrisson a révélé la présence de souches identiques, suggérant un rôle important du lait maternel en tant que source bactérienne directe de colonisation intestinale précoce chez les nourrissons (145).

La flore intestinale qui s'implante chez l'enfant nourri au sein est supposée être la plus bénéfique. Elle est certes moins diversifiée (146)(147), mais plus stable et deux fois plus riche en cellules bactériennes que celle de l'enfant nourri au lait artificiel (148). La différence la plus notable au sein du microbiote intestinal des nourrissons allaités est une colonisation clairement dominée par les bifidobactéries et dans une moindre mesure par les lactobacilles, alors que l'implantation des entérobactéries, des staphylocoques et surtout des *Clostridium* et *Bacteroides* est retardée et/ou se fait à un niveau moins élevé par rapport aux enfants nourris au lait maternisé (103)(149)(150). Dès qu'une alimentation mixte est en route, la flore intestinale semble tendre vers un entérotype d'enfant nourri au lait artificiel (151).

#### 2.3.2.2. Préparations lactées

Comme vu précédemment, le microbiote intestinal des nourrissons élevés au lait maternisé est enrichi en *Bacteroides* et *Clostridium*, alors que celui des nourrissons allaités est plus majoritairement colonisé par *Bifidobacterium* (152)(153). Toutefois, certaines études ont montré que les enfants nourris au lait artificiel peuvent être colonisés par le genre *Bifidobacterium* aussi rapidement et en quantité aussi importante que les enfants allaités (151). Mais les espèces représentées semblent être différentes, avec notamment l'absence de *Bifidobacterium bifidum* ayant pour conséquence une modification de l'effet barrière pouvant expliquer l'implantation d'une flore plus variée (154).

De nombreux travaux ont recherché les spécificités du lait maternel responsables de cette colonisation dominante du genre *Bifidobacterium* : une plus faible concentration en protéines, des protéines particulières telles que le lysozyme et la lactoferrine ou encore les IgA ont été évoqués comme facteurs bifidogènes. Cependant, les modifications des formules infantiles prenant en compte ces différents facteurs n'ont pas favorisé l'implantation d'une flore

similaire à celle du nourrisson allaité (155). Ce n'est que tardivement que les études se sont intéressées aux fameux HMO, qui représentent quantitativement le 3<sup>ème</sup> élément entrant dans la composition du lait maternel humain après le lactose et les lipides (156). Ainsi, les préparations lactées ont été récemment améliorées grâce à l'inclusion de certains oligosaccharides, permettant à un nourrisson d'établir un microbiote riche en *Bifidobacterium* (157). Cependant, les microbiotes des nourrissons élevés au lait maternisé présentent encore des caractéristiques distinctes, telles que la surreprésentation de *Clostridium difficile* (112). Une étude récente a montré qu'une supplémentation en lait humain de donneur pasteurisé permettait partiellement de créer une communauté microbienne semblable à celle des nourrissons allaités et de favoriser une augmentation rapide de la diversité bactérienne (158).

### 2.3.2.3. Sevrage

L'introduction progressive d'aliments de table et de préparations pour nourrissons plus élaborées lors de la période de sevrage restructure considérablement la communauté microbienne intestinale. L'ancienne flore, autrefois dominée par *Bifidobacterium*, laisse rapidement place à une majorité de *Firmicutes* et de *Bacteroidetes* (76)(159) enrichis en gènes codant pour des fonctions plus complexes telles que l'assimilation d'une large variété de glucides non digestibles, la dégradation des xénobiotiques ainsi que la biosynthèse de vitamines (77)(82)(122)(160)(161). Des changements au sein des espèces de lactobacilles ont également été rapportés peu après le sevrage (122).

Ce n'est que vers l'âge de 3 ans que l'enfant présente une flore intestinale comparable à celle d'un adulte (82).

### 2.3.3. Antibiothérapies

Une part non négligeable des traitements médicamenteux affecte de façon plus ou moins transitoire la flore intestinale du patient (162), en particulier l'exposition précoce aux antibiotiques.

En effet, l'antibiothérapie administrée dans les premiers jours de vie diminue la diversité microbienne globale de l'intestin, entraîne une abondance élevée d'entérobactéries et d'entérocoques versus une proportion plus faible de bifidobactéries (163)(164) et sélectionne des bactéries résistantes aux antibiotiques (165)(166). Certaines de ces différences pouvaient encore être détectées 1 mois après l'arrêt du traitement. Une antibiothérapie supérieure à 3 jours est un facteur de risque de colonisation par des entérobactéries résistantes (167). Ce risque est d'autant plus élevé que l'antibiothérapie est à large spectre.

D'autres études n'ont pas montré de relation aussi évidente, cependant, au cours d'épidémies à bactéries multirésistantes, la mise en place d'une politique de restriction des antibiotiques a permis de stopper ces épidémies (168). La colonisation par des bactéries résistantes a également été corrélée à la durée de l'hospitalisation, au faible âge gestationnel et au faible poids de naissance (154). Un déséquilibre de la flore intestinale pourrait être responsable d'une altération de l'effet barrière favorisant la colonisation de micro-organismes résistants. Les traitements antibiotiques administrés chez les nouveau-nés de très faible poids



de naissance peuvent affecter le développement normal du microbiote intestinal, notamment à travers une réduction significative de la densité (119) et de la diversité microbiennes (96)(122). Cette diminution de la diversité doit être surveillée de près car elle a été liée à l'apparition de septicémie néonatale (96).

Un facteur supplémentaire de la modulation du microbiote intestinal est l'influence indirecte de la mère. Une antibiothérapie prescrite à la mère en période prénatale, au cours de l'accouchement ou de l'allaitement, est à l'origine de dérèglements sur le microbiote intestinal du nouveau-né similaires à ceux précédemment évoqués, bien que plus faibles (149)(169)(170)(171).

Ces résultats indiquent que l'exposition précoce aux antibiotiques affecte considérablement le développement normal des microbiotes intestinaux néonataux. Selon certaines enquêtes épidémiologiques, cela aurait pour conséquence d'augmenter le risque de développer des maladies immunitaires telles que l'asthme, l'eczéma et le diabète de type 1 (DT1) (172), suggérant que les variations profondes de la nature du microbiote intestinal dès la naissance peuvent être liées à des états pathologiques survenant plus tardivement.

#### 2.3.4. Hypothèse hygiéniste

La prévalence croissante de pathologies immunitaires dans les pays développés a coïncidé avec l'industrialisation au cours des cinquante dernières années. Ce phénomène est souvent expliqué par « l'hypothèse hygiéniste » selon laquelle une réduction de l'exposition aux infections dans l'enfance, consécutive à un mode de vie aseptisé, conduirait à un déséquilibre de la balance Th1/Th2 et donc à un système immunitaire réactif. Considérant le lien indéfectible unissant immunité et microbiote, de nombreux articles ont suggéré d'associer cette théorie aux altérations du microbiote intestinal spécifiques aux pays développés (85).

Nakayama et al. ont abordé les différences de microbiote intestinal entre des nourrissons japonais qui ont développé ou non des pathologies allergiques (asthme, dermatite atopique, allergies alimentaires et autres symptômes allergiques) par la suite. Les résultats montrent que les nourrissons allergiques étaient plus souvent colonisés par des bactéries du genre *Bacteroides* et moins souvent par des bactéries des genres *Acinetobacter* et *Clostridium* par rapport aux nourrissons sains (173).

Vatanen et al. ont suivi le développement du microbiote intestinal de 222 nourrissons d'Europe du Nord où les maladies auto-immunes précoces, notamment le DT1, sont courantes en Finlande mais moins répandues en Russie. De même, ils ont constaté que les espèces de *Bacteroides* dominant chez les enfants finlandais mais qu'elles sont peu abondantes chez les russes. Ainsi, les enfants finlandais sont plus exposés au lipopolysaccharide (LPS) de *Bacteroides* plutôt qu'au LPS d'*Escherichia coli*, dont les structures sont distinctes. Le LPS de *Bacteroides* inhibe la signalisation immunitaire innée normalement induite par les bactéries commensales Gram (-) telles que *E. coli*. Une colonisation intestinale précoce par de tels micro-organismes « immuno-silencieux » peut donc exclure certains aspects de l'éducation immunitaire chez les enfants allergiques de pays développés (174).

## 2.4. Évolution de la flore intestinale adulte

A l'issue de la colonisation microbienne du tube digestif à la naissance, l'hôte héberge une collection qualitative et quantitative unique d'espèces bactériennes qui, bien que relativement stable (175), évoluera au cours du temps, notamment sous l'influence du vieillissement et du mode de vie.

### 2.4.1. Influence de l'âge

D'une façon générale, en observant l'évolution des communautés bactériennes intestinales en fonction de l'âge, il est notable que la densité et la complexité de la flore augmentent avec le temps, parallèlement à une augmentation du pH des fèces (Figure 16).

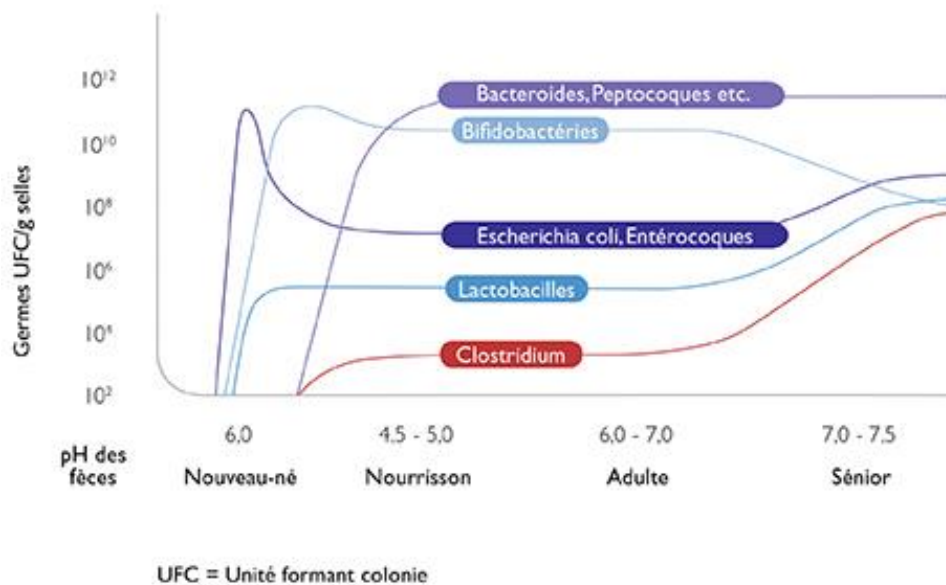


Figure 16. Évolution de la composition du microbiote intestinal en fonction de l'âge et du pH des fèces (176)

Alors que la composition bactérienne est maintenue constante chez le jeune adulte, deux périodes se distinguent en termes de réarrangement, la première débutant à la naissance puis la seconde à partir de 65-70 ans.

En effet, l'établissement du microbiote intestinal chez le nouveau-né (allaitement) puis le nourrisson (sevrage) rend compte d'une croissance bactérienne rapide dans le temps, dessinant une flore instable et immature jusqu'à sa forme adulte vers l'âge de 3 ans.

À partir de 65 ans, la communauté bactérienne intestinale entame une ultime transition pour atteindre son maximum de densité et de diversité. À l'instar des nourrissons (mais dans une moindre mesure), la flore digestive des séniors perd en stabilité et présente une variabilité inter-individuelle plus importante par rapport aux adultes plus jeunes. Elle est cependant plus diversifiée et se caractérise par une diminution significative des bifidobactéries au profit des

entérobactéries, des *Firmicutes* et des *Bacteroides* (177)(178). Au final, chez le sénior, la flore de « putréfaction » prend l'avantage sur la flore de « fermentation ». Ces changements de populations bactériennes modifient le profil métabolique du microbiote (diminution de l'activité amylolytique et augmentation de l'activité protéolytique) responsable d'une réduction de la quantité d'AGCC et donc d'une diminution l'acidité de l'intestin (178)(179). Étant données les preuves de plus en plus nombreuses du rôle des AGCC en tant que médiateurs métaboliques et immunitaires clés, il a été suggéré que la diminution de ces acides gras pourrait favoriser le processus de vieillissement inflammatoire dans l'intestin des personnes âgées (180).

#### 2.4.2. Facteurs environnementaux

Bien que les facteurs intrinsèques tels que l'âge et la génétique de l'hôte affectent la structure du microbiote intestinal (181)(182), l'effet de certains facteurs environnementaux est connu pour être prépondérant sur la modulation de la composition et de l'activité du microbiote à plus ou moins long terme, voire sur la survenue d'un véritable déséquilibre au sein des populations microbiennes appelé dysbiose intestinale. Sont ainsi incriminés certaines thérapies médicamenteuses (183), le tabagisme (184), la dépression (185), le stress (186), l'hygiène et l'urbanisation (187), les infections gastro-intestinales (188), un déficit immunitaire, les voyages et plus récemment les missions spatiales (189), etc.

##### 2.4.2.1. Géographie, conditions de vie et régime alimentaire

Des études de cohorte menées sur de jeunes individus en bonne santé dans des zones géographiques plus ou moins éloignées indiquent l'impact prépondérant des aliments de base sur le profil de composition du microbiote intestinal.

De Filippo et al. ont révélé que le microbiote intestinal d'enfants africains d'un village du Burkina Faso, dont le régime traditionnel est principalement constitué de polysaccharides végétaux, présentait une composition exclusive de producteurs d'AGCC tels que *Prevotella* spp. ainsi qu'une diminution des *Firmicutes* par rapport à des enfants européens dont le régime alimentaire est riche en protéines et graisses animales (190). De même, Lin et al. ont montré que des enfants bangladais vivant dans un bidonville présentaient une grande diversité bactérienne dominée par *Prevotella*, tandis que des enfants américains résidant dans une banlieue aisée présentaient une faible diversité bactérienne dominée par *Bacteroides* et *Firmicutes* (191). Ces résultats donnent à constater que les microbiotes dominés par *Bacteroides* et *Firmicutes* sont majoritaires dans les pays développés, tandis que ceux dominés par *Prevotella* sont majoritaires dans les pays en développement.

Nakayama et al. ont caractérisé les communautés bactériennes provenant d'échantillons de selles prélevés sur 303 enfants âgés de 7 à 11 ans originaires de cinq pays d'Asie à savoir le Japon, la Chine, Taiwan, l'Indonésie et la Thaïlande. Les microbiotes décrits ont pu être regroupés en deux profils d'entérotypes, l'un étant dominé par *Prevotella* (type P) et l'autre par *Bifidobacterium/Bacteroides* (type BB). L'entérotipe BB était majoritaire en Chine, au Japon et à Taiwan, tandis que l'entérotipe P était majoritaire en Indonésie et en Thaïlande (192). L'établissement de ces deux communautés bactériennes distinctes peut être largement influencé

par les aliments consommés quotidiennement (193). Un régime intégrant des niveaux élevés de protéines et graisses animales recrute le genre *Bacteroides* (194), ce qui rappelle les habitudes alimentaires communément retrouvées en Asie orientale. Un régime riche en amidon résistant recrute *Prevotella*, reflétant l'alimentation prépondérante en Asie centrale et du Sud-Est (192). En effet, l'entérotipe caractérisé chez les végétariens est le type P (193).

Il est à noter que les entérotypes P et BB observables au sein d'un même pays sont associés au niveau de développement d'une région donnée. Nakayama et al. ont découvert que les microbiotes de types P et BB étaient représentés chez les enfants vivant respectivement en milieu rural ou urbain sur l'île de Leyte aux Philippines, et que le changement pour le type BB était associé à la modernisation de l'alimentation, avec notamment un enrichissement en graisses. Les deux sites échantillonnés, Baybay et Ormoc, ne sont séparés que de 50 km et les enfants étudiés sont principalement philippins, ce qui suggère que le régime alimentaire a une plus grande influence sur les communautés microbiennes intestinales que d'autres facteurs environnementaux ou ethno-géographiques comme la génétique. En effet, les répertoires fonctionnels des microbiotes reflétaient les habitudes alimentaires de chacun des deux sites : l'entérotipe BB était enrichi en bactéries contenant des gènes codant pour les acides biliaires facilitant l'absorption des lipides, alors que l'entérotipe P était davantage pourvu en enzymes nécessaires à la digestion d'oligosaccharides d'origine végétale (195).

Dans la population âgée, l'étude ELDERMET intégrant 178 irlandais âgés en moyenne de 78 ans a révélé une relation significative entre les conditions de vie et les variations du microbiote intestinal. Les seniors autonomes vivant à domicile ou rassemblés en communauté conservent une composition semblable à celle du jeune adulte en bonne santé avec une prédominance de *Firmicutes*, alors que les seniors vivant en maison de repos ou hospitalisés au long cours présentent des altérations plus marquées avec un appauvrissement de la diversité bactérienne ainsi qu'une prolifération de *Bacteroidetes*.

Cependant, parmi les facteurs expliquant cette divergence de flore, l'alimentation du senior jouerait un rôle prépondérant. En effet, le regroupement des sujets par type de régime alimentaire (pauvre en graisses/riche en fibres (DG1), modéré en graisses/riche en fibres (DG2), modéré en graisses/pauvre en fibres (DG3) et riche en graisses/pauvre en fibres (DG4)) est corrélé au lieu de résidence ainsi qu'au profil de microbiote. Ainsi, DG1 et DG2 sont rencontrés chez 98 % des seniors résidant en communauté et hospitalisés de jour, tandis que DG3 et DG4 sont rencontrés chez 83 % des seniors résidant en maison de repos ou hospitalisés au long cours. Ces derniers sont considérés comme ayant une alimentation moins saine et sont associés à une composition du microbiote moins diversifiée. Il convient de noter que les différences de composition du microbiote intestinal sont corrélées avec un certain nombre de marqueurs cliniques de fragilité tels que la tension artérielle ou l'inflammation. L'étude montre également que les changements s'opèrent dès que le senior change de lieu de vie : l'alimentation évolue après seulement 1 mois passé en établissement de soins de longue durée et la composition du microbiote devient représentative de cette population après un an de résidence (196).

#### 2.4.2.2. Antibiothérapies

Le rôle du microbiote intestinal dans l'amélioration de l'efficacité des médicaments et la réduction de leurs effets indésirables est rarement pris en compte, malgré que les effets gastro-intestinaux soient fréquents et que le maintien de l'eubiose soit essentiel pour la santé (197).

L'exposition à des médicaments ciblant les cellules humaines, comme les antidiabétiques avec la metformine (198), les IPP (199)(200)(201), les AINS (202) et les antipsychotiques atypiques (203), a été associée à des modifications de la composition du microbiote intestinal. En 2019, un criblage haut débit conduit sur 1 079 médicaments à usage humain a montré que la croissance d'au moins une des 40 espèces bactériennes représentatives du microbiote intestinal est altérée par plus d'un quart des molécules non antibiotiques, notamment les antimétabolites, les antipsychotiques et les antagonistes des canaux calciques (204). Par ailleurs, cette même étude incrimine 78 % des 156 antibactériens analysés dont faisaient partie 144 antibiotiques. Les traitements antibiotiques, utilisés pour éliminer des agents infectieux, ciblent fatalement les commensaux intestinaux en modifiant leur physiologie et leur expression génique (205), ce qui diminue leur richesse et leur diversité.

Selon une enquête réalisée par l'IPSOS en 2015, les effets indésirables imputables aux antibiotiques concernent 27 % des sujets traités, sont majoritairement de nature digestive (diarrhées et douleurs abdominales) et durent en moyenne 7 jours (206). Les diarrhées associées aux antibiotiques (DAA) résultent le plus souvent d'un déséquilibre de la flore intestinale qui se manifeste par une réduction du métabolisme des glucides et des sels biliaires par les bactéries anaérobies commensales (207)(208) :

- La réduction de la fermentation des glucides diminue la synthèse des AGCC responsables de l'absorption hydroélectrolytique par la muqueuse colique, conduisant à des diarrhées hydrosodées. En outre, l'accumulation de glucides non digérés dans le côlon s'accompagne de diarrhées osmotiques.
- Les sels biliaires, qui ne sont plus déconjugués ni déhydroxylés, peuvent stimuler la sécrétion colique et provoquer des diarrhées sécrétoires.

Ces diarrhées métaboliques par perturbation de la flore digestive normale sont le plus souvent bénignes et régressent à l'arrêt de l'antibiothérapie. Dans quelques cas, les diarrhées peuvent être consécutives aux effets directs des antibiotiques sur la motilité intestinale (209)(210)(211). L'apparition de diarrhées plus importantes (colites) résulte de la perte de l'effet barrière, mécanisme protégeant l'hôte contre les pathogènes (212). Lors de diarrhées infectieuses associées aux antibiotiques, le pathogène le plus fréquent est *Clostridium difficile* dont la colite la plus sévère est la colite pseudo-membraneuse. Plus rarement, la responsabilité d'autres bactéries telles que *Klebsiella oxytoca* est évoquée (213).

Aucun antibiotique n'est sans risque sur le microbiote intestinal. Cependant, ce risque n'est pas le même d'une antibiothérapie à une autre (214). L'étendue des altérations du microbiote dépend de plusieurs facteurs : le spectre, les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, la dose, la voie d'administration, la durée et la fréquence du traitement (215). Les antibiotiques à large spectre, actifs sur les bactéries anaérobies, ont un impact

important sur la flore intestinale et sont les principaux pourvoyeurs de DAA. À ce jour, presque tous les antibiotiques, à l'exception des aminosides administrés par voie intraveineuse, ont été incriminés dans le développement de la colite à *Clostridium difficile*. Là encore, les plus fréquemment impliqués sont les antibiotiques à large spectre tels que les pénicillines, les céphalosporines et la clindamycine, en particulier lorsqu'ils sont administrés par voie orale (216)(217). En effet, l'antibiothérapie à large spectre libère des niches écologiques intestinales antérieurement occupées, permettant à des organismes pathogènes associés à des infections gastro-intestinales de proliférer (214). Statistiquement, les associations d'antibiotiques ont des conséquences majorées (218). Enfin, certaines populations sont plus à risque de développer des effets indésirables, comme les âges extrêmes de la vie (212)(218).

La dysbiose post-antibiotique persiste un certain laps de temps avant un retour progressif à l'équilibre appelé résilience. La tendance du microbiote intestinal à se régénérer un à deux mois après l'antibiothérapie renseigne sur la résilience d'un microbiote équilibré (219). Ceci suggère que des déterminants très puissants pourraient jouer un rôle dans l'homéostasie de la flore digestive. Néanmoins, la récupération de la diversité et la stabilisation du microbiote peuvent prendre plusieurs mois, et la nouvelle composition bactérienne peut être significativement différente de celle existant avant le traitement antibiotique (220). L'importance de la dysbiose et le temps nécessaire à la restructuration du microbiote semblent individu-dépendants, probablement dus à la variation inter-individuelle du microbiote intestinal (221)(222)(223).

Ainsi, les antibiotiques peuvent rompre l'équilibre du microbiote intestinal à court terme mais aussi à long terme. Une meilleure compréhension des mécanismes en jeu ainsi que de leurs conséquences immédiates et à distance de l'antibiothérapie aidera à développer des stratégies nécessaires à l'optimisation de ces traitements.

## 2.5. *De la physiologie à la pathologie*

Au cours de leur longue coévolution, bactéries commensales et hôtes ont développé des interactions mutualistes fondées sur des échanges de nutriments et de métabolites (224).

La présence permanente d'une importante biomasse microbienne dans le tractus digestif exerce diverses fonctions physiologiques bénéfiques pour l'hôte, notamment immunitaires (225) et métaboliques (226).

Depuis quelques années, il apparaît que la dysbiose intestinale jouerait un rôle croissant dans un grand nombre de pathologies intestinales et extra-intestinales (227)(228), par exemple via l'axe microbiote-intestin-cerveau (229).

## 2.5.1. *Rôle du microbiote intestinal*

### 2.5.1.1. *Fonctions immunitaires*

Le développement du microbiote intestinal initié lors de la colonisation microbienne néonatale joue un rôle fondamental dans le développement du système immunitaire (74). Des communications bidirectionnelles s'installent, au sein desquelles le système immunitaire contrôle en retour l'expansion du microbiote intestinal (225). Ce dialogue hôte-bactéries est indispensable à la maturation et au maintien de la barrière immune intestinale via de nombreux mécanismes de régulation permettant la coexistence des deux partenaires (230).

#### 2.5.1.1.1. *Effet barrière*

La muqueuse intestinale, soumise dès la naissance à un flot d'antigènes alimentaires et microbiens, assure une fonction de barrière physique, chimique et immunitaire confinant dans l'intestin le contenu luminal indésirable pour l'hôte et comptant le microbiote intestinal parmi ses éléments fondamentaux (46).

De nombreuses données suggèrent l'influence du microbiote sur l'intégrité de l'épithélium intestinal et l'homéostasie locale (231), notamment en ce qui concerne le renouvellement des entérocytes (232), la cicatrisation épithéliale (233), l'épaisseur des couches de mucus, (234), la production de mucus (235), etc. Il convient également de noter l'importance du microbiote dans la promotion de l'angiogenèse intestinale ainsi que dans le bon fonctionnement des jonctions serrées entre les cellules épithéliales (236).

Grâce à différents mécanismes, le microbiote intestinal contribue à la protection de l'hôte contre l'invasion de pathogènes et à la prévention de sa propre prolifération. Premièrement, la présence physique du microbiote au sein de la lumière intestinale engendre une compétition entre agents commensaux et pathogènes pour les sites d'adhérence épithéliaux et les sources de nutriments. De plus, le microbiote est capable de produire directement des substances antibactériennes telles que les bactériocines (237), d'inhiber la dissémination de toxines pathogènes (238) ainsi que de stimuler indirectement la production de peptides antimicrobiens par les cellules intestinales (239) et de sIgA par les plasmocytes du chorion (lamina propria) (240). Ces dernières sont ancrées dans la couche externe du mucus par des interactions combinées avec les mucines et sont capables de se fixer aux bactéries afin de les circonscrire dans la lumière intestinale et d'inhiber leur prolifération (241).

Ainsi, l'inflammation physiologique induite continuellement par la présence du microbiote soutient pleinement la barrière immune intestinale (Figure 17), mais participe également au développement et au maintien du système immunitaire (46).

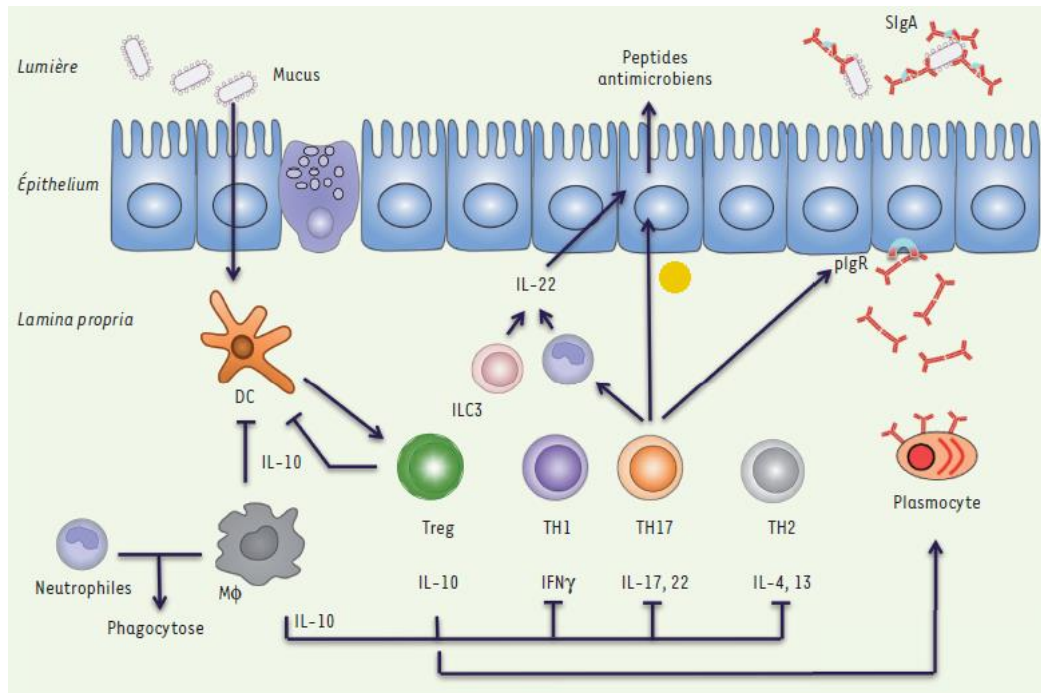


Figure 17. Mécanismes immunitaires induits sous l'effet de la colonisation microbienne formant la barrière immunitaire intestinale (230)

#### 2.5.1.1.2. Induction et éducation du système immunitaire

Le développement du microbiote intestinal durant la petite enfance est essentiel au développement ainsi qu'au bon fonctionnement de l'immunité intestinale et systémique (46)(242). Plusieurs études ont montré que les bactéries intestinales et leurs métabolites dont les AGCC jouent un rôle important dans la prolifération et la différenciation de lymphocytes T régulateurs (Treg), de lymphocytes T auxiliaires (Th) et de lymphocytes B sécrétant d'IgA ou d'IgG (243). Notamment, les récepteurs PRR (récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires) des cellules épithéliales, tels que les TLR (Toll-like receptors) ou les NLR (Nod-like receptors), sont capables de reconnaître les motifs moléculaires associés aux micro-organismes intestinaux, permettant la régulation de certaines réactions inflammatoires et la distinction entre les bactéries bénéfiques et les bactéries pathogènes (244).

#### 2.5.1.2. Fonctions métaboliques et nutritionnelles

Outre certaines sécrétions endogènes (mucines, débris cellulaires, stérols, etc.), les principales sources d'énergie du microbiote intestinal sont les structures glucidiques et protéiques d'origine alimentaire non digérées dans le tractus digestif supérieur et s'accumulent au niveau du côlon. La nature et la quantité de ces substrats dépendent des individus et de leurs habitudes nutritionnelles, témoignant du rôle clé que joue l'alimentation dans l'équilibre du microbiote intestinal. Leur biotransformation, rendue possible grâce à l'écosystème colique, fournit aux bactéries les besoins nécessaires à leur croissance et génère en contrepartie une



diversité de métabolites pour la plupart utilisés par l'hôte. Ces processus fermentaires font intervenir différentes espèces bactériennes ayant des activités enzymatiques complémentaires (245).

Hormis la récupération d'énergie, le microbiote est aussi impliqué dans le métabolisme des gaz (246) et des lipides (cholestérol (247), acides biliaires (248), hormones stéroïdiennes (249), stockage des triglycérides (250), etc.). Il facilite l'assimilation de nutriments grâce à des enzymes dont l'organisme est dépourvu et possède des fonctions de détoxification, d'absorption de minéraux (calcium, fer, magnésium, etc.) et de synthèse de vitamines (46).

#### 2.5.1.2.1. Métabolisme des glucides

Selon les individus et leur régime alimentaire, entre 10 et 60 g de glucides fermentescibles parviennent quotidiennement au côlon. Il s'agit principalement de fibres végétales composées de polysaccharides tels que l'amidon « résistant » (non dégradé par les  $\alpha$ -amylases de l'hôte) et la cellulose (constituant des parois cellulaires végétales) (251).

La première étape est l'hydrolyse de ces polysaccharides en fragments plus simples (oses, oligosides) par les bactéries fibrolytiques (ou hydrolytiques) du microbiote colique, principalement représentées par les genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia* et dans une moindre mesure par *Enterococcus*, *Clostridium* et *Eubacterium*. Elles possèdent une grande variété d'hydrolases (polysaccharidases, glycosidases, etc.) non synthétisées par l'hôte et responsables de la dégradation de l'amidon (activité amylolytique) et de la cellulose (activité cellulolytique), entre autres (252).

Les glucides ainsi produits sont dégradés en pyruvate par les bactéries glycolytiques utilisant la voie de la glycolyse. Le pyruvate est ensuite lui-même transformé via différentes voies métaboliques en AGCC (acétate, propionate et butyrate) et en gaz ( $H_2$  et  $CO_2$ ) (253). Certains métabolites intermédiaires, comme le lactate produit par les bactéries lactiques, sont métabolisés en AGCC par d'autres espèces, contribuant ainsi au maintien de la diversité microbienne. L'acétate est synthétisé par la plupart des espèces prédominantes du côlon, le propionate par *Bacteroides*, *Propionibacterium* et *Veillonella* (254) et le butyrate par *Eubacterium*, *Coprococcus*, *Roseburia* et *Faecalibacterium* (255) (Figure 18).

Les AGCC, produits finaux de la fermentation des glucides, sont rapidement absorbés au niveau de l'épithélium intestinal puis métabolisés dans différents sites de l'organisme où ils exercent des fonctions énergétiques (256) :

- L'acétate est principalement métabolisé dans les muscles, les reins, le cœur et le cerveau ;
- Le propionate subit un métabolisme dans le foie où il constitue un substrat de la néoglucogenèse qui peut inhiber la synthèse du cholestérol et réguler la lipogenèse dans le tissu adipeux ;
- Le butyrate est le substrat énergétique préférentiel des colonocytes pour lesquels il régule la croissance et la différenciation cellulaires (257).

Outre la source d'énergie, les AGCC présentent de nombreuses fonctions physiologiques importantes, notamment anti-diarrhéiques (258), de maintien du pH luminal, d'inhibition de la croissance d'agents pathogènes, d'influence sur la motilité intestinale (259), anticancéreuses (260) (réduction du cancer du côlon via la stimulation de l'apoptose des cellules cancéreuses

(259)), anti-inflammatoires ainsi que de régulation de la barrière intestinale et du système immunitaire (ils agissent comme des molécules de signalisation réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires et augmentant la population de Treg dans le gros intestin) (261).

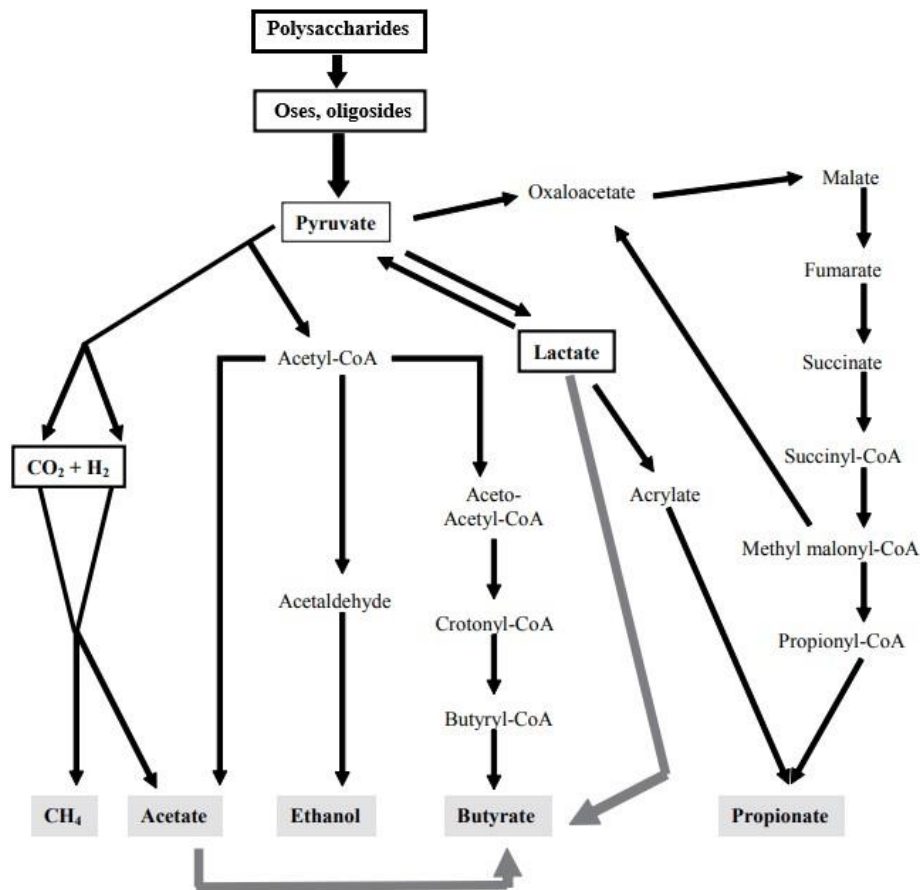


Figure 18. Principales voies métaboliques de la fermentation des polysaccharides par le microbiote intestinal (226)

#### 2.5.1.2.2. Métabolisme des protéines

La biodégradation des protéines est quantitativement moins importante que celle des glucides, 6 à 18 g de composés azotés atteignant le côlon tous les jours. Elle demeure cependant fondamentale, étant donné que les protéines représentent la principale source azotée des bactéries coliques (262).

Les bactéries protéolytiques appartenant aux genres *Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus* sont capables par leur activité protéasique d'hydrolyser les protéines en petits peptides. Certaines espèces peuvent métaboliser ces peptides en acides aminés libres qui seront utilisés par d'autres bactéries incapables d'assimiler directement des peptides. Chez certaines espèces des genres *Veillonella*,

*Fusibacterium*, *Peptococcus*, *Acidaminococcus*, *Clostridium* et *Eubacterium* ne fermentant pas les glucides, les acides aminés sont utilisés comme source principale d'énergie. Toutefois, de nombreuses espèces glycolytiques utilisent les peptides et les acides aminés uniquement comme source d'azote (262).

La fermentation des acides aminés utilise principalement la voie réductrice de désamination et aboutit, à l'instar de la fermentation des glucides, à la formation d'AGCC. Cependant, elle génère également de nombreux métabolites potentiellement toxiques pour l'hôte : l'ammoniaque ainsi que les composés phénoliques et indoliques sont absorbés, détoxifiés puis excrétés dans les urines. L'ammoniaque est aussi une source majeure d'azote pour un grand nombre d'espèces qui l'utilisent pour la synthèse d'acides aminés grâce à leur activité aminotransférase. En stimulant la protéosynthèse bactérienne, la fermentation des glucides contribue, avec l'absorption par la muqueuse intestinale, à la diminution de la concentration intraluminal de composés toxiques tels que l'ammoniaque (Figure 19) (262)(263).

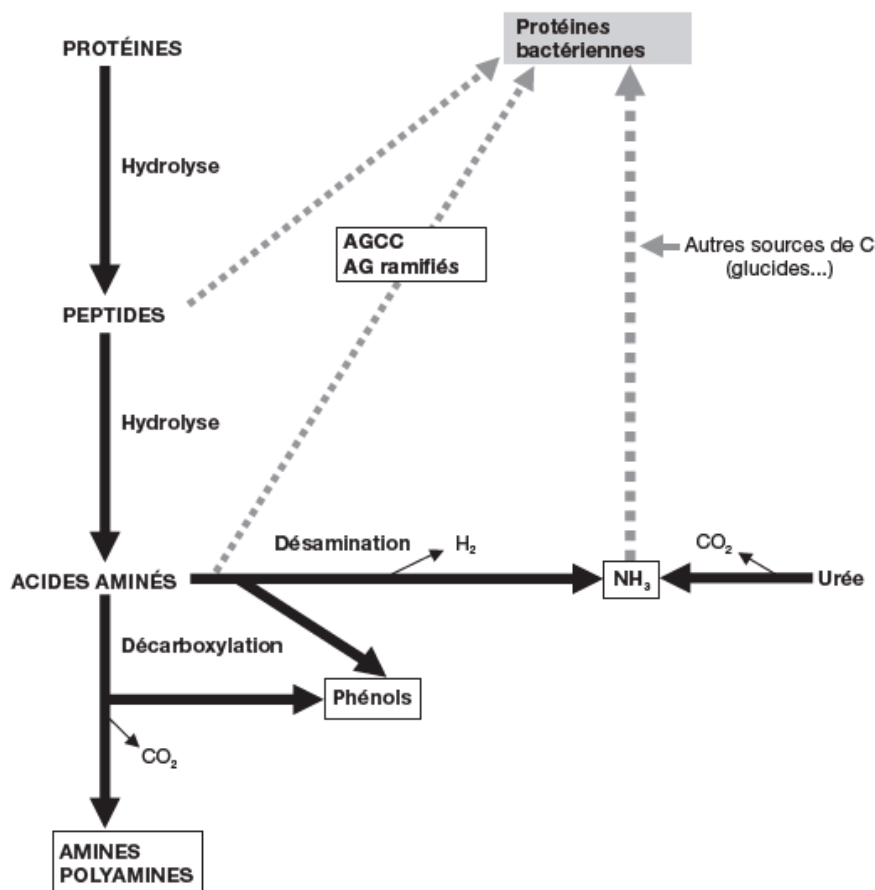


Figure 19. Métabolisme des protéines dans le côlon humain - relation entre protéolyse et protéosynthèse bactérienne (245)

#### 2.5.1.2.3. *Rôle de détoxification*

La flore intestinale est impliquée dans la détoxification de xénobiotiques (médicaments, polluants potentiellement cancérigènes, etc.) soit par métabolisme direct, soit à la suite d'un passage hépatique. Cependant, une bioactivation (augmentation de la toxicité) est également observée (264)(265).

#### 2.5.1.2.4. *Synthèse de vitamines*

Les vitamines sont des micronutriments nécessaires à des réactions biochimiques vitales pour toute cellule vivante. Or, les humains sont incapables de synthétiser la plupart des vitamines et leurs apports sont par conséquent exogènes (266). Contrairement aux vitamines alimentaires absorbées dans le tractus proximal de l'intestin grêle, l'absorption de vitamines d'origine microbienne (267) se produit principalement dans le côlon (268)(269). Les bactéries lactiques sont responsables de la production de vitamine B12 (cobalamine) dont une carence peut s'exprimer par un syndrome neuro-anémique (270). Les bifidobactéries sont les principaux producteurs de vitamine B9 (acide folique) impliquée dans la synthèse et la réparation de l'ADN (271). Les vitamines K, B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B3 (niacine), B5 (acide pantothénique), B6 (pyridoxine) et B8 (biotine) sont autant d'autres vitamines synthétisées par des bactéries intestinales (272).

#### 2.5.2. *Conséquence de la dysbiose intestinale en pathologie*

Compte tenu de la relation symbiotique étroite existant entre l'hôte et le microbiote intestinal, on peut facilement imaginer l'impact fonctionnel d'une dysbiose sur le développement de différentes pathologies immunitaires et métaboliques.

Le déséquilibre en cause peut se décrire à la fois en termes de composition, de fonction, de diversité, de densité et enfin de structure de l'écosystème microbien (273). Ce dernier entraîne une perturbation du système immunitaire qui rompt l'équilibre de la muqueuse intestinale, aboutissant à une hyperperméabilité et une inflammation digestives chroniques ayant des conséquences locales et/ou systémiques.

L'accouchement par césarienne, l'absence d'allaitement maternel, la prise répétée d'antibiotiques, l'alimentation carnée, l'hyper-hygiène, l'âge, etc. feraient partie des principaux facteurs incriminés dans la dysbiose pathologique car particulièrement impliqués dans le développement de la flore de putréfaction pro-inflammatoire au détriment de la flore de fermentation anti-inflammatoire (82).

Aujourd'hui, de nombreuses études suggèrent l'impact de la dysbiose intestinale sur le développement de certaines pathologies auto-immunes, allergiques, métaboliques, cardiovasculaires voire neurologiques (Tableau 5).

Tableau 5. Exemples de pathologies associées à une dysbiose intestinale

Pathologies		Dysbiose
Intestinales	MICI	Déficit en <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> (274)(275)
	Cancer colorectal	Diminution du rapport <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> (276) Multiplication de <i>Fusobacterium nucleatum</i> (277)(278)
	Infection à <i>C. difficile</i>	Diminution de la diversité globale et invasion pathogène de <i>Clostridium difficile</i> (279)
Allergiques	Asthme	Augmentation de <i>Bacteroidaceae</i> , en particulier de <i>Bacteroides fragilis</i> (280)
	Dermatite atopique	Augmentation d' <i>Escherichia coli</i> et de <i>Clostridium difficile</i> (281)
Métaboliques	Obésité	Augmentation du rapport <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> (250)(282)
	DT2	Diminution des producteurs de butyrate (283) Augmentation de <i>Lactobacillus</i> spp. (284)(285)
Neuro-dégénératives et psychiatriques	Parkinson	Diminution de <i>Prevotellaceae</i> et augmentation d' <i>Enterobacteriaceae</i> (286)
	TSA	Diminution d' <i>Akkermansia muciniphila</i> et de <i>Bifidobacterium</i> spp. (287) Augmentation d' <i>Alcaligenaceae</i> et de <i>Sutterella</i> (288)
Cardiovasculaires	Athérosclérose	Signature bactérienne particulière (289)

DT2 : diabète de type 2 ; MICI : maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ; TSA : trouble du spectre autistique.

Cependant, il n'est pas toujours évident de déterminer si la dysbiose est une cause ou une conséquence de la maladie. Par exemple, établir la responsabilité de bactéries intestinales dans l'obésité est complexe puisque l'alimentation souvent déséquilibrée des patients en surpoids altère leur microbiote intestinal (290).

## 2.6. Traitements basés sur la modulation du microbiote intestinal

### 2.6.1. Transplantation fécale

La transplantation fécale consiste à administrer des échantillons de selles d'un donneur sain dans le tube digestif d'un patient receveur ayant une flore intestinale altérée en vue de la rééquilibrer. Multiplication de *Fusobacterium nucleatum*

De nombreuses études semblent confirmer l'intérêt de ce traitement dans certaines indications. Cependant, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) préconise de la limiter aux cas graves et pour lesquels les traitements conventionnels n'ont pas d'effet (291). Cette technique a montré des résultats prometteurs en cas d'infections récurrentes à *Clostridium difficile* ou dans le traitement de troubles intestinaux post-antibiotiques (292). Récemment, des médecins néerlandais ont recensé les essais de transplantation de microbiote fécal dans différentes pathologies digestives :

- Dans les cas d'infections récidivantes à *C. difficile*, il a été montré que la transplantation de microbiote fécal avait une efficacité de 90 % ;
- Dans le cas de la rectocolite hémorragique (RCH), les résultats sont encourageants puisqu'on observe jusqu'à 68 % de rémission après la transplantation ;
- Dans le cas de la maladie de Crohn, de la constipation chronique et du syndrome de l'intestin irritable, les études sont encore trop limitées en termes de nombre de patients pour livrer des résultats interprétables (293).

Le succès remarquable du transfert de flore dans le traitement des infections récurrentes à *C. difficile* a peut-être fourni la meilleure preuve du principe de la manipulation du microbiote intestinal en tant que stratégie thérapeutique (294).

### 2.6.2. Probiotiques, prébiotiques et symbiotiques

- **Probiotiques** : micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité suffisante, procurent un bénéfice pour la santé de l'hôte (définition de l'OMS, 2002) (294).

Les produits probiotiques peuvent contenir une ou plusieurs souches microbiennes sélectionnées, généralement des bactéries lactiques Gram (+). Les souches appartiennent principalement aux genres *Lactobacillus* (*L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. johnsonii*, etc.) et *Bifidobacterium* (*B. bifidus*, *B. longum*, *B. infantis*, etc.), mais également à d'autres types de bactéries lactiques telles que *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus*, ou encore *Escherichia coli* Nissle 1917, *Bacillus clausii*, etc. Par ailleurs, certaines souches de levures appartenant au genre *Saccharomyces* sont largement utilisées, principalement *S. cerevisiae* (*boulardii*). Chaque souche probiotique est unique (295).

Au cours de ces 20 dernières années, de nombreuses études cliniques ont mis en évidence l'intérêt des probiotiques dans la prévention ou l'amélioration des effets délétères liés aux perturbations de la flore intestinale. Par exemple, certaines souches conduisent à une rémission de la RCH, mais aucun effet positif n'a été observé sur la maladie de Crohn

(296)(297). *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus rhamnosus* GG et divers mélanges de probiotiques réduisent considérablement le développement de DAA, mais seule *S. boulardii* est efficace contre l'infection à *C. difficile* (298).

L'effet bénéfique des probiotiques s'explique par différents mécanismes (Figure 20) :

- Antagonisme par la production de substances antimicrobiennes (299) ;
- Compétition avec les pathogènes pour l'adhésion à l'épithélium et les nutriments (300) ;
- Inhibition de la production de toxines bactériennes (301) ;
- Immunomodulation de l'hôte (302)(303).

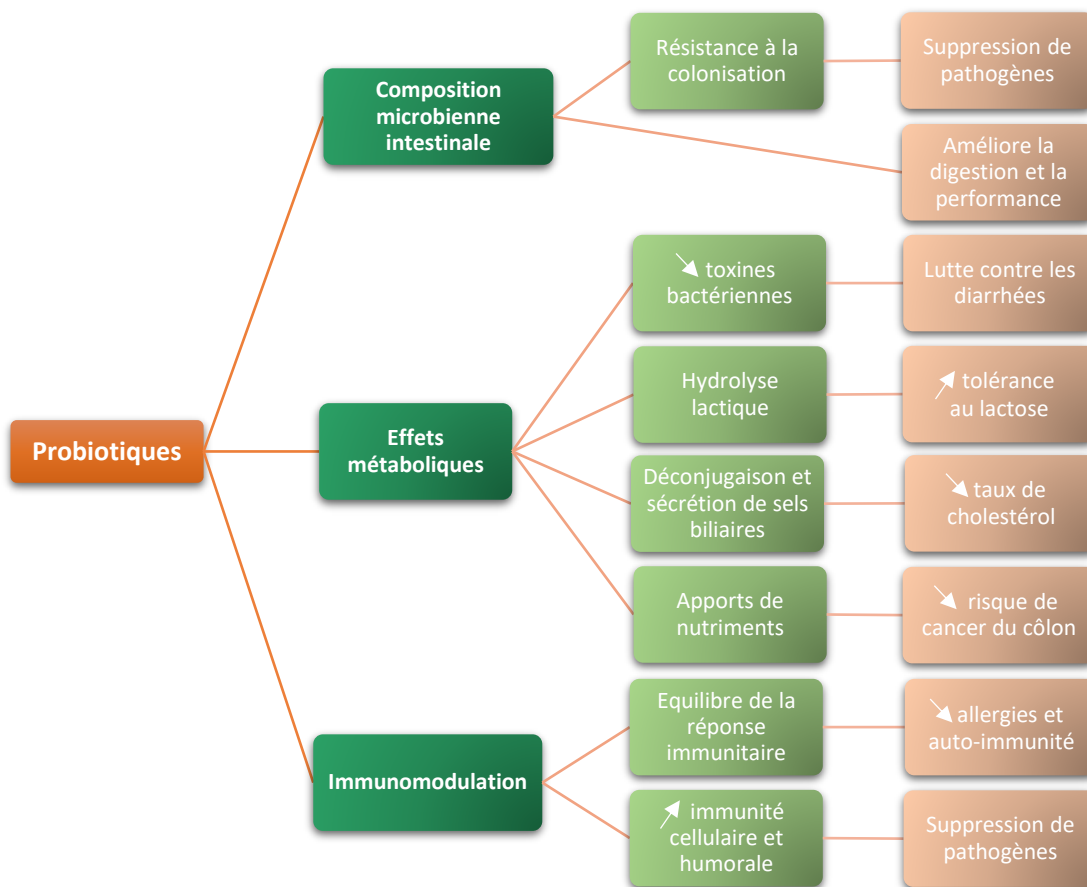


Figure 20. Mécanismes d'action des probiotiques (295)

La question de la sécurité de prescription des probiotiques est primordiale. D'une manière générale, plus de bénéfices sont observés par rapport aux risques. Le risque d'infection est faible et similaire à celui d'une infection par des souches bactériennes commensales (304). Une attention particulière doit néanmoins être apportée aux patients souffrant d'immunodépression sévère, de malnutrition, de cancer, ou présentant des symptômes d'incompétence de la barrière épithéliale intestinale tels qu'une diarrhée sévère (305).

- Prébiotiques : ingrédients alimentaires non digestibles qui stimulent de manière sélective au niveau du côlon la croissance ou l'activité d'un (ou d'un nombre limité de) groupe(s) bactérien(s) susceptible(s) d'améliorer la physiologie de l'hôte (306)(307).

Le régime alimentaire peut avoir un effet significatif sur la composition du microbiote intestinal en fournissant des nutriments qui favorisent la croissance de différents micro-organismes (308). Il existe plusieurs types d'ingrédients alimentaires qualifiés de prébiotiques. Parmi ceux-ci, de nombreuses fibres alimentaires composées de polysaccharides sont particulièrement mises en avant. Elles comprennent l'amidon résistant, les polysaccharides non amyliques (celluloses, hémicelluloses, pectines, gommes et mucilages), l'inuline et les oligosaccharides tels que les GOS, les fructo-oligosaccharides (FOS) et les xylo-oligosaccharides (XOS) (309). Parmi les produits issus de la biotransformation des prébiotiques, les AGCC sont les plus étudiés, même s'ils ne sont peut-être pas les seuls métabolites actifs dérivés de la fermentation colique (310). Dans la mesure où différents prébiotiques produisent une quantité et une composition différentes d'AGCC et de gaz, différentes fibres prébiotiques doivent être sélectionnées pour une administration en fonction de leur devenir métabolique dans le côlon afin de prévenir ou de traiter certaines maladies inflammatoires spécifiques (311).

Les prébiotiques sont faciles à administrer et ont démontré de manière reproductible un effet sur la composition globale du microbiote intestinal (312). Ils peuvent stimuler la croissance de commensaux bénéfiques, le plus souvent *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* (308). Cependant, ils fonctionnent de manière relativement non spécifique en favorisant la croissance de multiples espèces et peuvent ne pas fournir un ajustement stable et à long terme de la communauté bactérienne intestinale (313).

Une meilleure compréhension des mécanismes par lesquels différents composés alimentaires et leurs produits métaboliques finaux stimulent la croissance microbienne pourrait permettre une utilisation plus rationnelle des prébiotiques (313).

- Symbiotiques : produits qui contiennent à la fois un (des) probiotique(s) et un (des) prébiotique(s) (294).

Les symbiotiques sont généralement des ingrédients alimentaires ou des compléments alimentaires qui peuvent être utilisés afin d'améliorer l'efficacité thérapeutique, tirant simultanément parti des stratégies probiotiques et prébiotiques. Certains symbiotiques sont déjà utilisés en pratique clinique (314). Leur fonction peut être complémentaire ou synergique. La complémentarité signifie que chaque composant est choisi indépendamment pour son effet bénéfique sur la santé. La synergie signifie que le prébiotique est choisi en sa qualité de substrat dans le but de soutenir la croissance ou l'activité du probiotique qui lui est associé (314)(315). Les symbiotiques peuvent ainsi conduire à une colonisation plus efficace et plus stable des souches probiotiques, mais il est nécessaire de comprendre les besoins nutritionnels spécifiques des micro-organismes coadministrés (316)(317).

D'autres études sont nécessaires pour évaluer la composition et l'efficacité optimales des symbiotiques : une telle association est connue sous le nom d' « optibiotiques » (315).



---

## PARTIE 3

-

# INTERACTIONS DES MICROBIOTES INTESTINAUX DE MAMMIFÈRES AVEC PLASMODIUM SPP.

### 3. INTERACTIONS DES MICROBIOTES INTESTINAUX DE MAMMIFÈRES AVEC *PLASMODIUM* SPP.

Alors que l'influence du microbiote de l'intestin moyen du moustique sur la dynamique infectieuse de *Plasmodium* spp. est plutôt bien établie (2)(318)(319)(320), le rôle des communautés microbiennes intestinales d'hôtes mammifères dans l'infection par le paludisme est quant à lui moins défini.

Les microbiotes intestinaux de souris et d'humains en bonne santé partagent des entérotypes communs, formés principalement par la génétique de l'hôte et le régime alimentaire (321)(322)(323). Les premières études montrent des communautés bactériennes ayant une corrélation avec la susceptibilité à l'infection à *Plasmodium* spp. (324)(325) et au phénotype de la maladie (326). Toutefois, l'infection palustre aurait également un impact sur le microbiote et provoquerait une dysbiose intestinale transitoire (327)(328).

Ces résultats encouragent la recherche de traitements prophylactiques dans la lutte contre le paludisme, tels que des vaccins et des probiotiques (329)(330).

#### 3.1. *Microbiote intestinal et risque d'infection à Plasmodium spp.*

Le paludisme est transmis à l'Homme par l'inoculation de sporozoïtes de *Plasmodium* spp. lors de la piqûre du moustique *Anopheles* (331). Bien que la transmission soit plutôt efficace, seule une fraction des parasites inoculés parvient à établir l'infection (332)(333)(334), laissant entrevoir un mécanisme naturel de protection qui cible les phases initiales du cycle de vie parasitaire.

Des études chez l'animal et chez l'Homme suggèrent que la composition bactérienne intestinale est associée à une réponse immunitaire humorale et/ou à une protection contre l'infection à *Plasmodium* spp. (324)(325).

##### 3.1.1. *Immunité anti- $\alpha$ -Gal*

Malgré la nature mutualiste des interactions hôte versus microbiote, certains composants bactériens du microbiote intestinal humain expriment des glycanes immunogènes qui entraînent des réponses en anticorps (AC) spécifiques des glycanes. Les AC circulants qui en résultent protègent contre les infections par des agents pathogènes qui expriment ces glycanes, tels que le plasmodium (329).

### 3.1.1.1. Mécanismes évolutifs de l'immunité anti- $\alpha$ -Gal

Les humains ont des taux relativement élevés d'AC circulants capables de reconnaître les glycanes exprimés par des agents pathogènes (335). Comme pour tous les antigènes, les xéno-glycanes ne peuvent pas être ciblés par le système immunitaire s'ils sont également exprimés en auto-glycanes (335), ceci afin d'empêcher l'auto-immunité (336). Cette limitation peut être contournée par la sélection naturelle de mutations qui inactivent l'expression des auto-glycanes. Vraisemblablement, la fixation de telles mutations entraînant une perte de fonction a adapté le répertoire immunitaire anti-glycanique humain au fil de l'évolution (337).

Cette notion est étayée par l'inactivation chez l'Homme du gène CMAH qui a inhibé l'expression de l'acide N-glycolylneuraminique (Neu5Gc) (338) et a permis la réactivité immunitaire contre Neu5Gc, ayant ainsi modifié la capacité des formes ancestrales de *Plasmodium* spp. à infecter les ancêtres hominidés (339). De manière similaire, l'inactivation des gènes GGTA1 et iG3bS codant pour des  $\alpha$ 1,3-galactosyltransférases ( $\alpha$ 1,3GT) a inhibé l'expression de glycanes Gal $\alpha$ 1-3Gal ( $\alpha$ -Gal) chez des ancêtres primates anthropoïdes (340) et a permis l'émergence de réponses immunitaires anti- $\alpha$ -Gal, conférant une protection contre l'infection à *Plasmodium* spp. (341). Il a été avancé que l'acquisition d'une immunorésistance contre les agents pathogènes exprimant de tels glycanes était à l'origine de ce processus évolutif (337)(342). On pense que cela a conduit *Plasmodium* spp. à co-évoluer, ce qui a probablement donné naissance au *P. falciparum* moderne (343) (Figure 21).

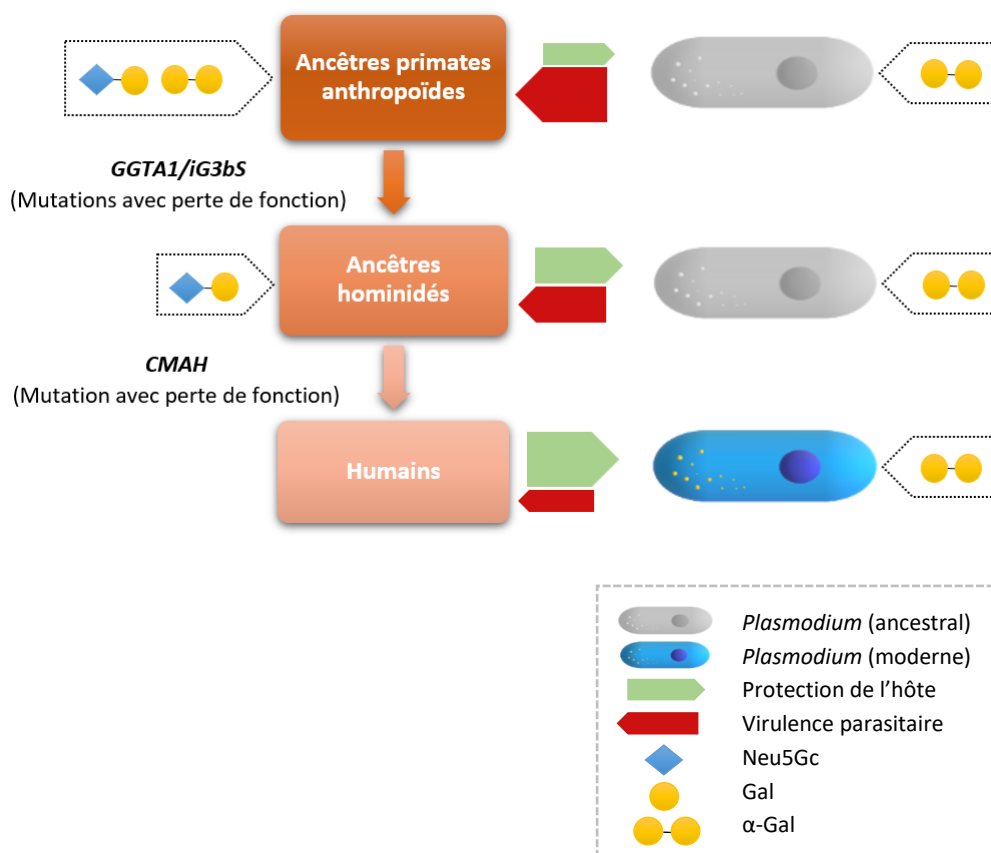


Figure 21. Mécanismes évolutifs de l'immunité anti- $\alpha$ -Gal (329)

### 3.1.1.2. Expression d' $\alpha$ -Gal par *Plasmodium* spp.

Malgré un profil de glycosylation apparemment médiocre (344), les parasites des paludismes murin (*P. berghei*, *P. yoelii*) et humain (*P. falciparum*) présentent des glycanes  $\alpha$ -Gal à la surface des sporozoïtes (324)(345) ainsi qu'au stade érythrocytaire de l'infection (324)(346)(347)(348). Dans les sporozoïtes, les glycanes  $\alpha$ -Gal sont conjugués à des protéines ancrées au GPI (324)(349) autres que la CSP (324), principale protéine exprimée à la surface des sporozoïtes (350).

Pourtant, aucun gène orthologue  $\alpha$ 1,3GT n'a encore été identifié chez *Plasmodium* spp. (349). Des niveaux résiduels d' $\alpha$ -Gal ont été détectés dans les glandes salivaires de moustiques non infectés, suggérant que ce glycanes pourrait être généré, au moins partiellement, par l'anophèle (324). Cependant, il n'existerait pas non plus de gène orthologue  $\alpha$ 1,3GT d'arthropode. L'origine des glycanes  $\alpha$ -Gal détectés dans les sporozoïtes de *Plasmodium* spp. n'a donc pas encore été établie.

### 3.1.1.3. Bactéries intestinales et production d'anticorps anti- $\alpha$ -Gal

#### 3.1.1.3.1. Études chez les mammifères

Contrairement aux humains, les souris de type sauvage possèdent un gène GGTA1 fonctionnel et expriment l' $\alpha$ -Gal à la surface de leurs cellules, inhibant le développement de l'immunité anti- $\alpha$ -Gal (351). La suppression de ce gène permet ainsi la production d'AC anti- $\alpha$ -Gal chez les souris déficientes en GGTA1 (GGTA1<sup>-/-</sup>) (351)(352)(353). Or, des souris GGTA1<sup>-/-</sup> axéniques ne peuvent produire que des taux résiduels d'AC anti- $\alpha$ -Gal (352). En effet, la production de taux physiologiques d'AC anti- $\alpha$ -Gal nécessite la mise en place d'interactions avec le microbiote intestinal de l'hôte, en particulier avec des composants bactériens exprimant l' $\alpha$ -Gal (345)(354). Ces derniers comprennent des membres Gram (-) de *Klebsiella*, *Serratia*, et *E. coli* ainsi que des Gram (+) telles que *Lactobacillus casei* (345). L'expression d' $\alpha$ -Gal par ces entérobactéries est associée aux glycoprotéines de la capsule et de la paroi cellulaire, ainsi qu'au LPS (345). La production d'AC anti- $\alpha$ -Gal est déclenchée lors de l'engagement des PRR et/ou des BCR (récepteurs des cellules B) sur des motifs moléculaires associés aux micro-organismes, tels que les glycanes du LPS (355)(356).

La colonisation de l'intestin par le pathobionte humain *Escherichia coli* O86:B7 exprimant des taux élevés d' $\alpha$ -Gal (357) résume l'étiologie de la production d'AC anti- $\alpha$ -Gal chez la souris (358) et chez les primates (359), ainsi que la production d'AC dirigés contre le glycanes du groupe sanguin B apparenté à  $\alpha$ -Gal chez le poulet (360) et chez l'Homme (361). Cela suggère que la colonisation de l'intestin par *E. coli* O86:B7 pourrait être particulièrement utile pour déclencher la production d'AC spécifiques de l' $\alpha$ -Gal, contribuant probablement aux titres élevés de ces AC circulants chez l'adulte en bonne santé (345). De plus, les AC anti- $\alpha$ -Gal peuvent également être produits en réponse à l'infection par des parasites protozoaires exprimant l' $\alpha$ -Gal, tels que *Leishmania* spp. et *Trypanosoma* spp. (362).

### 3.1.1.3.2. *Anticorps anti- $\alpha$ -Gal naturels chez l'Homme*

Chez l'Homme, les AC anti- $\alpha$ -Gal sont souvent qualifiés d'AC « naturels » car détectables dans le sang d'individus sains, en l'absence d'une immunisation décelable (336). Les AC anti- $\alpha$ -Gal représentent 1 à 5 % des IgM et IgG circulantes et sont produits par 1 % du répertoire de lymphocytes B chez l'adulte en bonne santé (341)(354)(363)(364). Les taux d'IgM anti- $\alpha$ -Gal chez l'Homme sont faibles à indétectables au cours des premières années de vie postnatale (324)(341) et augmentent avec le temps pour atteindre un état stable entre 3 et 5 ans (365)(366). Une explication possible des faibles niveaux d'IgM anti- $\alpha$ -Gal chez les nouveau-nés serait que le répertoire précoce des lymphocytes B est dépourvu de lymphocytes B spécifiques des glycanes, bien qu'ils se manifestent ensuite soit spontanément, soit en réponse à la colonisation par le microbiote (367). Conformément à cette notion, la colonisation de l'intestin par *E. coli* et les bifidobactéries favorise la maturation des lymphocytes B chez le nouveau-né et le nourrisson (368). De plus, les nouveau-nés portent un microbiote intestinal simplifié (82) qui pourrait être lié à l'impact de leur régime alimentaire sur la composition du microbiote (190). De plus, certains composants du microbiote du nouveau-né exercent un impact négatif sur les entérobactéries potentiellement virulentes exprimant l' $\alpha$ -Gal, phénomène connu sous le nom de « résistance à la colonisation » (369). Ce mécanisme de protection qui empêche les infections intestinales au début de la vie postnatale pourrait également éviter l'exposition à des bactéries immunogènes exprimant l' $\alpha$ -Gal au cours du développement, induisant probablement un état de tolérance immunologique (370).

### 3.1.1.4. *IgM anti- $\alpha$ -Gal cytotoxiques envers les sporozoïtes*

Bien que les facteurs génétiques de l'hôte et du parasite (371)(372) contribuent clairement à l'hétérogénéité des réponses immunitaires et cliniques au paludisme, il est probable que le microbiote intestinal de l'hôte joue également un rôle.

Dans une étude de cohorte, Yilmaz et al. ont montré une association significative entre les taux d'IgM anti- $\alpha$ -Gal et la protection contre l'infection à *P. falciparum* chez des enfants de plus de 4 ans et adultes maliens résidant dans une zone de transmission intense du paludisme (324). Cependant, aucune corrélation n'a été mise en évidence entre les taux d'AC anti- $\alpha$ -Gal et le risque de paludisme clinique (fébrile). Étant donné que des IgM anti- $\alpha$ -Gal peuvent être produites en réponse à des bactéries intestinales exprimant l' $\alpha$ -Gal, la colonisation intestinale par de telles bactéries devrait protéger contre la transmission du paludisme.

Dans le même rapport, Yilmaz et al. ont montré que des souris GGTA1 <sup>-/-</sup> colonisées par *E. coli* O86:B7 ont produit des IgM anti- $\alpha$ -Gal leur conférant une immunité stérilisante contre l'infection à *P. yoelii* et *P. berghei* (Tableau 6). Les IgM anti- $\alpha$ -Gal ciblent les sporozoïtes immédiatement après leur inoculation dans le derme et les neutralisent via un mécanisme impliquant l'activation de la voie classique du complément (Figure 22). Cependant, l'effet protecteur des IgM anti- $\alpha$ -Gal ne semble s'exercer ni au stade hépatique ni au stade sanguin ultérieurs, et de fait n'influence ni la parasitémie ni la survenue de formes sévères du paludisme (324). Les raisons de ce phénomène ne sont pas encore élucidées mais pourraient se rapporter à des aspects biologiques spécifiques des IgM (373).

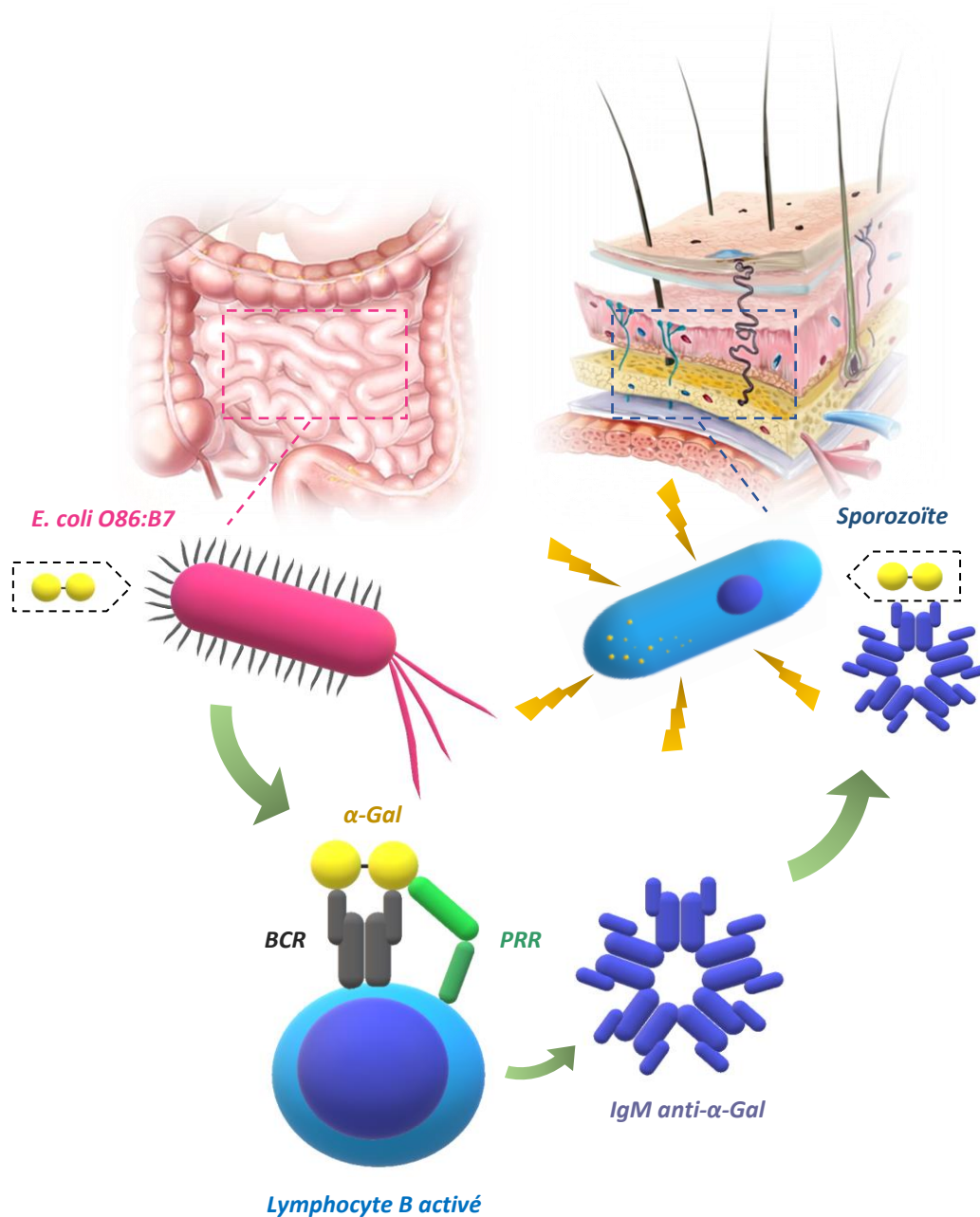


Figure 22. Colonisation intestinale d'*E. coli* O86:B7 et induction d'IgM anti-α-Gal cytotoxiques envers les sporozoïtes de *Plasmodium* spp. dans le derme (329)  
(BCR : récepteur des cellules B ; PRR : récepteurs de reconnaissance des motifs moléculaires)

Un mécanisme de protection similaire se produisant chez l'Homme lorsqu'il est colonisé par des souches bactériennes exprimant l'α-Gal reste à établir. L'observation récente selon laquelle la présence d'entérobactéries est associée à un risque réduit d'infection à *P. falciparum* chez les personnes vivant en zone d'endémie confirmerait cette hypothèse (325).

### 3.1.2. Caractérisation d'entérotypes protecteurs

Yooseph et al. ont analysé un sous-ensemble de la même cohorte malienne vue précédemment et ont mis en évidence une association significative entre la composition bactérienne intestinale et le risque d'infection à *P. falciparum*. Deux entérotypes distincts ont été mis en évidence : l'entérotipe des sujets à plus faible risque d'infection à *P. falciparum* présentait une proportion significativement plus élevée de *Bifidobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Escherichia* spp., et *Shigella* spp. (Tableau 6) par rapport à l'entérotipe des sujets à risque plus élevé d'infection à *P. falciparum* qui présentait une prédominance de *Firmicutes* (*Ruminococcaceae* et *Lachnospiraceae*). Là encore, les auteurs n'ont trouvé aucune corrélation significative entre la composition du microbiote intestinal et le risque de développer un paludisme fébrile (325).

Une hypothèse serait que la proportion supérieure d'*Escherichia* spp. dans l'entérotipe protecteur conférerait une immunité anti- $\alpha$ -Gal limitée au stade pré-hépatique (324). De plus, il existe une nette différence de composition du microbiote intestinal entre les individus de pays endémiques du paludisme et ceux de pays non endémiques (374). Cette différence pourrait s'expliquer par le régime alimentaire, la géographie ou même des adaptations hôte-pathogène au sein desquelles les personnes continuellement exposées acquièrent, maintiennent et développent un entérotipe susceptible de les protéger contre le paludisme. Considérant que les taux d'IgM anti- $\alpha$ -Gal retrouvés chez les individus en bonne santé des régions endémiques sont significativement plus élevés que ceux des individus des régions non endémiques (324), on peut supposer que la différence de composition du microbiote intestinal observée entre les sujets exposés et non exposés pourrait avoir un effet sur les taux d'AC anti- $\alpha$ -Gal.

Une autre hypothèse serait que l'entérotipe non protecteur prédispose l'hôte à établir l'infection à *P. falciparum*.

### 3.2. Microbiote intestinal et risque de paludisme grave

Villarino et al. ont observé que des souris provenant de différents fournisseurs présentaient une susceptibilité différente à développer un paludisme grave, corrélée avec les variations observées au sein de leur communauté bactérienne intestinale. Des souris axéniques ayant reçu une transplantation fécale issue de souris « résistantes » présentaient une charge parasitaire plus faible et une survie supérieure que celles ayant reçu une transplantation fécale issue de souris « sensibles », suggérant que l'entérotipe résistant a conféré une protection contre *Plasmodium* spp. (*P. berghei*, *P. yoelii* et *P. chabaudi*). L'entérotipe protecteur se caractérisait par une abondance accrue de *Lactobacillus* spp. et *Bifidobacterium* spp. (Tableau 6). En accord avec les différences de charge parasitaire, les souris résistantes présentaient une réponse immunitaire élevée par rapport aux souris sensibles (326). Il convient de noter que ces expériences ont été réalisées sur des souris de type sauvage exprimant naturellement l' $\alpha$ -Gal et qui ne peuvent donc pas produire d'AC anti- $\alpha$ -Gal. Par conséquent, le rôle protecteur des *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* dans ces expériences n'était en aucun cas lié à l'immunité anti- $\alpha$ -Gal.

Dans une approche inédite, Stough et al. ont étudié les associations entre la gravité du paludisme et les caractéristiques de transcription et de métabolomique des commensaux

intestinaux. L'étude a identifié 33 gènes bactériens exprimés de manière différentielle entre les souris résistantes et les souris sensibles à *P. yoelii*, notamment impliqués dans le métabolisme des protéines et du soufre ainsi que les propriétés de motilité et de chimiotactisme. Des différences de profil dans les métabolites associés aux micro-organismes intestinaux ont également été rapportées (375).

Enfin, des études ont montré que le monoxyde d'azote (NO) systémique atténue la gravité du paludisme (376)(377)(378)(379). Le NO est un sous-produit de la dénitrification, une voie biochimique de commensaux anaérobies tels que ceux prédominants dans les entérotypes protecteurs contre le paludisme, comme par exemple *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* (380)(381)(382)(383).

### 3.3. Dysbiose intestinale associée à l'infection à *Plasmodium* spp.

Mooney et al. ont montré que l'infection à *P. yoelii* chez des souris était associée à une dysbiose intestinale transitoire non observée chez des souris témoins inoculées avec du sang non infecté. L'analyse des échantillons fécaux des souris infectées a montré une réduction du ratio *Firmicutes/Bactéroïdes* ainsi qu'une réduction de l'abondance des protéobactéries dix jours après l'infection, qui sont revenues à leur niveau initial au bout de 30 jours. Ces souris étaient également plus sujettes à la colonisation par *E. coli* et *Salmonella* spp. non thyphique (327).

Dans un groupe distinct d'expériences menées par Taniguchi et al. sur des souris, l'infection à *P. berghei* a également entraîné une réduction des *Firmicutes* et une augmentation des protéobactéries, sur une période de neuf jours. Une dysbiose intestinale plus hétérogène et survenant plus tôt était associée à des pathologies cérébrales et intestinales plus graves (328).

Les résultats de ces deux études indépendantes sur l'infection à *Plasmodium* spp. chez la souris ont montré des modifications dans les communautés bactériennes vers un épuisement relatif des *Firmicutes* (327)(328), ce qui était corrélé à des issues de maladie plus graves (328). L'environnement intestinal altéré a favorisé la colonisation par des pathobiontes bactériens, ce qui peut être lié à l'observation clinique de coïnfections bactériennes fréquentes chez les patients atteints de paludisme, y compris de *Salmonella* non typhoïde ce qui est théoriquement lié à l'observation clinique de la prévalence accrue de *Salmonella* disséminée chez les enfants atteints de paludisme en Afrique subsaharienne (327).

Il convient de noter que la dysbiose qui survient dans l'infection aux plasmodiums murins peut être due à une perturbation de l'architecture intestinale normale due à la séquestration du parasite dans les lits vasculaires intestinaux, par des changements alimentaires accompagnant une maladie aiguë et par des réponses immunitaires et inflammatoires de l'hôte.



Tableau 6. Bactéries intestinales associées à une réduction du risque palustre

Phylum	Famille	Genre	Associations observées
<i>Actinobacteria</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Incidence réduite de l'infection à <i>P. falciparum</i> dans une cohorte malienne (325) ; Sévérité du paludisme atténuée chez la souris (326)
<i>Firmicutes</i>	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	Sévérité du paludisme atténuée chez la souris (326)
	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>	Incidence réduite de l'infection à <i>P. falciparum</i> dans une cohorte malienne (325)
<i>Proteobacteria</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i>	Colonisation intestinale par <i>E. coli</i> O86:B7 associée à une immunité humorale stérilisante contre les sporozoïtes de <i>Plasmodium</i> spp. chez la souris (324) ; Incidence réduite de l'infection à <i>P. falciparum</i> dans une cohorte malienne (325)
		<i>Shigella</i>	Incidence réduite de l'infection à <i>P. falciparum</i> dans une cohorte malienne (325)

### 3.4. Perspectives thérapeutiques dans la prophylaxie antipaludique

#### 3.4.1. Immunisation anti- $\alpha$ -Gal

Dans leur étude, Yilmaz et al. ont démontré de manière convaincante que l'antigène  $\alpha$ -Gal représente une cible vaccinale potentielle pour la protection contre l'infection et la transmission du paludisme (324).

L'effet protecteur des IgM anti- $\alpha$ -Gal est pertinent pour expliquer l'incidence plus élevée du paludisme chez les enfants que chez les adultes dans les régions endémiques (384). En effet, l'absence relative d'IgM anti- $\alpha$ -Gal chez les enfants de moins de 3 ans favoriserait la transmission du paludisme par rapport aux adultes qui présentent des taux plus élevés (323). Ainsi, les nourrissons et les enfants de moins de 3 ans bénéficieraient particulièrement d'une telle approche vaccinale.

Différentes stratégies peuvent être envisagées, à savoir les vaccins formulés à partir de glycanes (385) ou l'immunisation des muqueuses par des bactéries exprimant des glycanes (386) (Tableau 7).

#### 3.4.1.1. Vaccins injectables glycoconjugués

Alors que les AC anti- $\alpha$ -Gal peuvent fournir une immunité stérilisante contre le paludisme chez les souris, cela n'a pas été observé chez les humains vivant en zone d'endémie (323). Les taux d'AC anti- $\alpha$ -Gal en circulation chez l'Homme sont probablement inférieurs au seuil requis pour assurer une immunité stérilisante.

Cependant, chez la souris, l'immunisation par l' $\alpha$ -Gal induit une réponse immunitaire protectrice contre *Plasmodium* spp. qui peut être renforcée par une vaccination utilisant des adjuvants. Ces derniers favorisent la production d'IgG anti- $\alpha$ -Gal fixant le complément (323). De même, conjugués à un antigène protéique, les glycanes immunogènes tels que l' $\alpha$ -Gal peuvent déclencher des réponses IgG anti- $\alpha$ -Gal dirigées contre les épitopes peptidiques et glycaniques (387). Au final, l'effet protecteur conféré par des IgM anti- $\alpha$ -Gal de faible affinité produit par des bactéries intestinales peut être renforcé par des approches de vaccination induisant des réponses IgG anti- $\alpha$ -Gal de haute affinité.

Pour traduire ces approches en pratique clinique, il serait important de comparer l'efficacité relative de l'immunité anti- $\alpha$ -Gal avec d'autres réponses immunitaires ciblant les sporozoïtes telles que celles dirigées contre l'antigène CSP.

Il est d'ailleurs probable que l'effet protecteur des candidats vaccins formulés à base de sporozoïtes « atténués » (388) soit en partie motivé par une réponse anti- $\alpha$ -Gal, mais cela reste à démontrer.

#### 3.4.1.2. Vaccins oraux à base de probiotiques

L'aspect le plus innovant de l'étude de l'étude de Yilmaz et al. est sans doute l'utilisation potentielle de bactéries probiotiques pour induire une immunité anti- $\alpha$ -Gal (389). La vaccination orale par des bactéries vivantes exprimant des antigènes spécifiques est une approche largement utilisée pour déclencher une immunité protectrice et durable contre les agents pathogènes (390)(391). De plus, la découverte que l'administration de *Lactococcus lactis* recombinant exprimant des peptides antigéniques de mérozoïtes peut induire une réponse immunitaire protectrice contre l'infection à *P. yoelii* (392), suggère que cette approche pourrait être utilisée chez des bactéries exprimant l' $\alpha$ -Gal.

Actuellement, les recherches sur l'utilisation de probiotiques pour induire une immunité anti- $\alpha$ -Gal sont très limitées. Une étude a montré que la consommation de lait fermenté contenant *Lactobacillus casei* qui exprime l' $\alpha$ -Gal ne modifiait pas les taux d'AC anti- $\alpha$ -Gal chez des adultes en bonne santé (393). Cependant, ce premier rapport n'exclut pas le développement futur d'un vaccin à base de probiotiques exprimant l' $\alpha$ -Gal. La diversité des probiotiques les plus connus tels que les *Lactobacillus* (394), *Lactococcus* (395) et *Bifidobacterium* (396) est étonnante. Par exemple, le genre *Lactobacillus* comprend 154 espèces et 19 sous-espèces (394). Aussi, afin de renforcer la réponse immunitaire, il serait intéressant d'utiliser des entérobactéries présentant l'avantage, contrairement aux Gram (+), de posséder un LPS immunogène dont les unités glucidiques sont associées à l' $\alpha$ -Gal (345). Actuellement, on ignore si *E. coli* Nissle 1917 exprime ou non l' $\alpha$ -Gal. Cependant, si ces

bactéries n'expriment pas naturellement l' $\alpha$ -Gal, elles peuvent être transformées avec un plasmide contenant une  $\alpha$ 1,3GT bactérienne exprimée par *E. coli* (397) et d'autres bactéries (398).

Une telle approche présenterait des avantages évidents par rapport à la voie injectable, étant donné que les produits à base de probiotiques sont sûrs, bien tolérés et faciles à administrer. De plus, ils sont soumis à une réglementation stricte (399).

Cependant, un défi majeur réside dans la conception de stratégies d'administration capables de :

- Protéger les probiotiques et les antigènes des stress digestifs (pH gastrique, sels biliaires, enzymes, antimicrobiens, etc.) ;
- Incorporer des adjuvants immunostimulants appropriés ;
- Contrôler la libération au niveau du site gastro-intestinal cible (386).

Le développement de tests de criblage permettrait de sélectionner simplement et rapidement des micro-organismes pour leurs aptitudes fonctionnelles (311).

#### 3.4.2. Modulation du microbiote intestinal

Il est remarquable que la présence de *Bifidobacterium* confère simultanément une protection contre l'infection et la sévérité du paludisme (325)(326) (Tableau 6).

Comme vu précédemment, des études indiquent que des composants naturels du lait maternel humain, tels que les HMO, stimulent la croissance de *Bifidobacterium* (129)(131)(400)(401).

De plus, Villarino et al. ont réalisé des expériences supplémentaires basées sur des modifications de l'alimentation et l'administration de probiotiques. Après un traitement antibiotique, les souris sensibles nourries avec un yaourt fabriqué à partir de *Bifidobacterium* spp. et *Lactobacillus* spp., présentaient une charge parasitaire réduite (326).

Ensemble, ces résultats indiquent que la modulation du microbiote par une supplémentation nutritionnelle en probiotiques et/ou prébiotiques favorisant la croissance de micro-organismes commensaux tels que *Bifidobacterium* (Tableau 7), en particulier pendant la période néonatale (402)(403), serait bénéfique dans le contexte du paludisme.

Tableau 7. Perspectives de thérapies innovantes dans la prophylaxie antipaludique

	Modulation du microbiote intestinal		Immunisation anti- $\alpha$ -Gal	
	Probiotiques	Prébiotiques	Vaccins injectables	Vaccins oraux
<b>Prévention du risque infectieux</b>	Souches de <i>Bifidobacterium</i> spp. (325)(326)	HMO (131)	Antigènes $\alpha$ -Gal glycoconjugués + adjuvants (329)(330)	Probiotiques exprimant l' $\alpha$ -Gal (329)(330)
<b>Prévention des formes sévères</b>				

## CONCLUSION

Dans un contexte inquiétant de lutte contre le paludisme, le développement de thérapies innovantes efficaces serait d'un intérêt majeur.

Des études suggèrent que le microbiote intestinal est associé à une réduction du risque palustre en ciblant différentes étapes du cycle de vie du plasmodium. Des entérotypes protecteurs contre le risque d'infection et de paludisme grave ont été caractérisés par une abondance de bifidobactéries. Ainsi, la modulation de la composition du microbiote intestinal par différentes stratégies probiotiques (souches de *Bifidobacterium* spp.) et prébiotiques (HMO) pourrait prévenir le risque palustre en zone d'endémie, notamment chez les nourrissons particulièrement vulnérables. Ces stratégies nutritionnelles, bien que ne pouvant se suffire à elles-mêmes, pourraient être proposées à court terme en complément des vaccins antipaludiques partiellement efficaces.

De plus, la découverte de bactéries intestinales exprimant un antigène  $\alpha$ -Gal et conférant une immunité stérilisante contre la transmission du paludisme permet d'envisager de futures stratégies vaccinales. Des vaccins injectables formulés à base d'antigènes  $\alpha$ -Gal glycoconjugués et d'adjuvants appropriés sont à envisager. L'aspect le plus innovant réside toutefois dans la perspective d'une vaccination orale de souches bactériennes probiotiques naturelles ou génétiquement modifiées exprimant l'antigène  $\alpha$ -Gal. Un tel vaccin présenterait de faibles coûts de production et serait facile à administrer aux populations à haut risque telles que les enfants de moins de 3 à 5 ans dépourvus de prémunition. De plus, les vaccins probiotiques antipaludiques présenteraient l'avantage d'une efficacité à long terme. Cependant, beaucoup d'efforts seront nécessaires pour déterminer la composition et les doses d'administration adéquates de ces vaccins.

Malgré tout, l'éradication du paludisme passera par la mise au point de vaccins hautement efficaces. Une vaccination anti- $\alpha$ -Gal unique permettrait de se protéger simultanément du paludisme et d'autres maladies infectieuses majeures pour lesquelles les parasites expriment l' $\alpha$ -Gal. Il est également possible d'explorer la piste d'autres glycanes immunogènes que celle de l' $\alpha$ -Gal.

Enfin, des études supplémentaires sur le microbiote intestinal seront nécessaires afin de caractériser la composante non bactérienne du microbiote (virus, levures, champignons, etc.) et d'explorer les fonctions immunitaires, inflammatoires et métaboliques associées au risque palustre.

Quoiqu'il en soit, ces résultats encouragent la recherche de vaccins et de probiotiques innovants à visée prophylactique dans la poursuite de la lutte contre le paludisme.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. OMS. Paludisme.
2. Romoli O, Gendrin M. The tripartite interactions between the mosquito, its microbiota and Plasmodium. *Parasites & Vectors*. 20 mars 2018;11:200.
3. Landman C, Quévrain E. [Gut microbiota: Description, role and pathophysiologic implications]. *Rev Med Interne*. juin 2016;37(6):418-23.
4. Berrilli F, Di Cave D, Cavallero S, D'Amelio S. Interactions between parasites and microbial communities in the human gut. *Front Cell Infect Microbiol*. 2012;2:141.
5. Institut Pasteur. Paludisme. 2013.
6. Muséum national d'Histoire naturelle. Plasmodium falciparum.
7. Campus de Parasitologie-Mycologie - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). Paludisme. 2016.
8. E.PILLY.ECN. 5<sup>e</sup> éd. ALINEA Plus; 2018. 324 p.
9. Inserm. Paludisme : Le parasite P. vivax infecte des populations considérées comme résistantes.
10. Ross R. On some Peculiar Pigmented Cells Found in Two Mosquitos Fed on Malarial Blood. *Br Med J*. 18 déc 1897;2(1929):1786-8.
11. Grassi B, Bignami A. Ulteriori ricerche sul ciclo dei parassiti malarici umani nel corpo del zanzarone. *Atti Della Reale Accademia Nazionale Dei Lincei Classe Di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali Rendiconti*. 1899;
12. Carnevale P, Robert V. Les anophèles : biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. IRD éditions; 2009. (Didactiques).
13. Harbach RE. The classification of genus Anopheles (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull Entomol Res*. déc 2004;94(6):537-53.
14. OMS. Paludisme - Alerte vectorielle: invasion et propagation d'Anopheles stephensi.
15. Médecine tropicale. Paludisme actualités 2018.
16. López C, Saravia C, Gomez A, Hoebeke J, Patarroyo MA. Mechanisms of genetically-based resistance to malaria. *Gene*. 1 nov 2010;467(1-2):1-12.
17. Piel FB. The Present and Future Global Burden of the Inherited Disorders of Hemoglobin. *Hematol Oncol Clin North Am*. avr 2016;30(2):327-41.
18. OMS. Paludisme - Groupes à haut risque.
19. Bourée P, Delaigue S. Paludisme : avantages et inconvénients des tests de diagnostic rapide. *Médecine thérapeutique / Pédiatrie*. 1 avr 2015;18(2):109-12.

20. Bourdillon F. BEH - Recommandations sanitaires pour les voyageurs, 2019 (à l'attention des professionnels de santé).
21. OMS. Paludisme - Résistance aux insecticides.
22. OMS. Paludisme - Résistance aux médicaments antipaludiques.
23. HCSP. Avis relatif aux recommandations de prévention du paludisme pour les voyageurs. 2015;17.
24. OMS. Paludisme - Retrait des monothérapies à base d'artémisinine par voie orale.
25. OMS. Lancement d'un projet pilote de vaccination antipaludique au Malawi.
26. Kublin JG, Mikolajczak SA, Sack BK, Fishbaugher ME, Seilie A, Shelton L, et al. Complete attenuation of genetically engineered *Plasmodium falciparum* sporozoites in human subjects. *Sci Transl Med*. 04 2017;9(371).
27. Dong Y, Manfredini F, Dimopoulos G. Implication of the mosquito midgut microbiota in the defense against malaria parasites. *PLoS Pathogens*. 1 mai 2009;5(5):e1000423.
28. Rodgers FH, Gendrin M, Wyer CAS, Christophides GK. Microbiota-induced peritrophic matrix regulates midgut homeostasis and prevents systemic infection of malaria vector mosquitoes. *PLoS Pathogens*. 1 mai 2017;13(5):e1006391.
29. Sinden RE, Billingsley PF. *Plasmodium* invasion of mosquito cells: hawk or dove? *Trends Parasitol*. mai 2001;17(5):209-12.
30. Alout H, Ndam NT, Sandeu MM, Djégbé I, Chandre F, Dabiré RK, et al. Insecticide Resistance Alleles Affect Vector Competence of *Anopheles gambiae* s.s. for *Plasmodium falciparum* Field Isolates. *PLoS One*. 21 mai 2013;8(5).
31. The Journey of the Malaria Parasite in the Mosquito: Hopes for the New Century. *Parasitology Today*. 1 mai 2000;16(5):196-201.
32. Michel K, Kafatos FC. Mosquito immunity against *Plasmodium*. *Insect Biochem Mol Biol*. juill 2005;35(7):677-89.
33. Vlachou D, Schlegelmilch T, Christophides GK, Kafatos FC. Functional genomic analysis of midgut epithelial responses in *Anopheles* during *Plasmodium* invasion. *Curr Biol*. 12 juill 2005;15(13):1185-95.
34. Kumar S, Molina-Cruz A, Gupta L, Rodrigues J, Barillas-Mury C. A peroxidase/dual oxidase system modulates midgut epithelial immunity in *Anopheles gambiae*. *Science*. 26 mars 2010;327(5973):1644-8.
35. Pumpuni CB, Demaio J, Kent M, Davis JR, Beier JC. Bacterial population dynamics in three anopheline species: the impact on *Plasmodium* sporogonic development. *Am J Trop Med Hyg*. févr 1996;54(2):214-8.

36. Bahia AC, Dong Y, Blumberg BJ, Mlambo G, Tripathi A, BenMarzouk-Hidalgo OJ, et al. Exploring Anopheles gut bacteria for Plasmodium blocking activity. *Environmental Microbiology*. 15 janv 2014;16(9):2980-94.
37. Ramirez JL, Short SM, Bahia AC, Saraiva RG, Dong Y, Kang S, et al. *Chromobacterium Csp\_P* reduces malaria and dengue infection in vector mosquitoes and has entomopathogenic and in vitro anti-pathogen activities. *PLoS Pathogens*. 1 oct 2014;10(10):e1004398.
38. Cirimotich CM, Dong Y, Clayton AM, Sandiford SL, Souza-Neto JA, Mulenga M, et al. Natural Microbe-Mediated Refractoriness to Plasmodium Infection in *Anopheles gambiae*. *Science*. 13 mai 2011;332(6031):855-8.
39. Dennison NJ, Saraiva RG, Cirimotich CM, Mlambo G, Mongodin EF, Dimopoulos G. Functional genomic analyses of *Enterobacter*, *Anopheles* and *Plasmodium* reciprocal interactions that impact vector competence. *Malar J*. 22 2016;15(1):425.
40. Meister S, Agianian B, Turlure F, Relógio A, Morlais I, Kafatos FC, et al. *Anopheles gambiae* PGRPLC-mediated defense against bacteria modulates infections with malaria parasites. *PLoS Pathogens*. 1 août 2009;5(8):e1000542.
41. Huber M, Cabib E, Miller LH. Malaria parasite chitinase and penetration of the mosquito peritrophic membrane. *PNAS*. 1 avr 1991;88(7):2807-10.
42. Tsai Y-L, Hayward RE, Langer RC, Fidock DA, Vinetz JM. Disruption of *Plasmodium falciparum* Chitinase Markedly Impairs Parasite Invasion of Mosquito Midgut. *Infection and Immunity*. 1 juin 2001;69(6):4048-54.
43. Cirimotich CM, Ramirez JL, Dimopoulos G. Native Microbiota Shape Insect Vector Competence for Human Pathogens. *Cell Host & Microbe*. 20 oct 2011;10(4):307-10.
44. Gonzalez-Ceron L, Santillan F, Rodriguez MH, Mendez D, Hernandez-Avila JE. Bacteria in midguts of field-collected *Anopheles albimanus* block *Plasmodium vivax* sporogonic development. *J Med Entomol*. mai 2003;40(3):371-4.
45. Wang S, Ghosh AK, Bongio N, Stebbings KA, Lampe DJ, Jacobs-Lorena M. Fighting malaria with engineered symbiotic bacteria from vector mosquitoes. *PNAS*. 31 juill 2012;109(31):12734-9.
46. Microbiote intestinale (flore intestinale). Inserm - La science pour la santé.
47. Gevers D, Knight R, Petrosino JF, Huang K, McGuire AL, Birren BW, et al. The Human Microbiome Project: A Community Resource for the Healthy Human Microbiome. *PLoS Biol*. 14 août 2012;10(8).
48. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 25 mars 2005;307(5717):1915-20.
49. Neish AS. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*. janv 2009;136(1):65-80.



50. BENGMARK S. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut*. janv 1998;42(1):2-7.
51. Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2 juin 2006;312(5778):1355-9.
52. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol*. 2016;14(8):e1002533.
53. Luckey TD. Introduction to intestinal microecology. *Am J Clin Nutr*. déc 1972;25(12):1292-4.
54. Fodor AA, DeSantis TZ, Wylie KM, Badger JH, Ye Y, Hepburn T, et al. The « most wanted » taxa from the human microbiome for whole genome sequencing. *PLoS ONE*. 2012;7(7):e41294.
55. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 4 mars 2010;464(7285):59-65.
56. Dave M, Higgins PD, Middha S, Rioux KP. The human gut microbiome: current knowledge, challenges, and future directions. *Transl Res*. oct 2012;160(4):246-57.
57. Encyclopédie de l'environnement. Les microbiotes humains : des alliés pour notre santé.
58. Nielsen HB, Almeida M, Juncker AS, Rasmussen S, Li J, Sunagawa S, et al. Identification and assembly of genomes and genetic elements in complex metagenomic samples without using reference genomes. *Nat Biotechnol*. août 2014;32(8):822-8.
59. Schluter J, Foster KR. The evolution of mutualism in gut microbiota via host epithelial selection. *PLoS Biol*. 2012;10(11):e1001424.
60. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science*. 18 déc 2009;326(5960):1694-7.
61. Pérez-Cobas AE, Gosalbes MJ, Friedrichs A, Knecht H, Artacho A, Eismann K, et al. Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach. *Gut*. nov 2013;62(11):1591-601.
62. Li J, Jia H, Cai X, Zhong H, Feng Q, Sunagawa S, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol*. août 2014;32(8):834-41.
63. Moya A, Ferrer M. Functional Redundancy-Induced Stability of Gut Microbiota Subjected to Disturbance. *Trends Microbiol*. mai 2016;24(5):402-13.
64. Macpherson AJ, McCoy KD. Stratification and compartmentalisation of immunoglobulin responses to commensal intestinal microbes. *Semin Immunol*. 30 nov 2013;25(5):358-63.
65. Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol*. janv 2016;14(1):20-32.

66. Lavelle A, Lennon G, O'Sullivan O, Docherty N, Balfe A, Maguire A, et al. Spatial variation of the colonic microbiota in patients with ulcerative colitis and control volunteers. *Gut*. oct 2015;64(10):1553-61.
67. Li H, Limenitakis JP, Fuhrer T, Geuking MB, Lawson MA, Wyss M, et al. The outer mucus layer hosts a distinct intestinal microbial niche. *Nat Commun*. 22 sept 2015;6:8292.
68. Bevins CL, Salzman NH. Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nat Rev Microbiol*. mai 2011;9(5):356-68.
69. Peterson DA, McNulty NP, Guruge JL, Gordon JI. IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. *Cell Host Microbe*. 15 nov 2007;2(5):328-39.
70. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol*. mai 2009;9(5):313-23.
71. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 10 juin 2005;308(5728):1635-8.
72. Van den Abbeele P, Belzer C, Goossens M, Kleerebezem M, De Vos WM, Thas O, et al. Butyrate-producing *Clostridium* cluster XIVa species specifically colonize mucins in an in vitro gut model. *ISME J*. mai 2013;7(5):949-61.
73. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis*. 2015;26:26050.
74. Francino MP. Early development of the gut microbiota and immune health. *Pathogens*. 24 sept 2014;3(3):769-90.
75. Bäckhed F. Programming of host metabolism by the gut microbiota. *Ann Nutr Metab*. 2011;58 Suppl 2:44-52.
76. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*. juill 2007;5(7):e177.
77. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe*. 10 juin 2015;17(6):852.
78. Bergström A, Skov TH, Bahl MI, Roager HM, Christensen LB, Ejlerskov KT, et al. Establishment of Intestinal Microbiota during Early Life: a Longitudinal, Explorative Study of a Large Cohort of Danish Infants. *Appl Environ Microbiol*. 1 mai 2014;80(9):2889-900.
79. Mitsuoka T. Development of Functional Foods. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*. 2014;33(3):117-28.
80. Dogra S, Sakwinska O, Soh S-E, Ngom-Bru C, Brück WM, Berger B, et al. Rate of establishing the gut microbiota in infancy has consequences for future health. *Gut Microbes*. 3 sept 2015;6(5):321-5.

81. Dogra S, Sakwinska O, Soh S-E, Ngom-Bru C, Brück WM, Berger B, et al. Dynamics of infant gut microbiota are influenced by delivery mode and gestational duration and are associated with subsequent adiposity. *MBio*. 3 févr 2015;6(1).
82. Yatsunenکو T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 9 mai 2012;486(7402):222-7.
83. Purchiaroni F, Tortora A, Gabrielli M, Bertucci F, Gigante G, Ianiro G, et al. The role of intestinal microbiota and the immune system. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. févr 2013;17(3):323-33.
84. Stiemsma LT, Turvey SE. Asthma and the microbiome: defining the critical window in early life. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2017;13:3.
85. Tanaka M, Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergol Int*. oct 2017;66(4):515-22.
86. 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*. août 2006;118(2):511-21.
87. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr*. 1999;69(5):1035S-1045S.
88. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PLoS ONE*. 26 août 2008;3(8):e3056.
89. DiGiulio DB, Romero R, Kusanovic JP, Gómez R, Kim CJ, Seok KS, et al. Prevalence and diversity of microbes in the amniotic fluid, the fetal inflammatory response, and pregnancy outcome in women with preterm pre-labor rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol*. 1 juill 2010;64(1):38-57.
90. Romero R, Miranda J, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Martinez A, et al. Clinical chorioamnionitis at term I: microbiology of the amniotic cavity using cultivation and molecular techniques. *J Perinat Med*. janv 2015;43(1):19-36.
91. Jiménez E, Fernández L, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Nueno-Palop C, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol*. oct 2005;51(4):270-4.
92. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 21 mai 2014;6(237):237ra65.
93. Jiménez E, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Olivares M, Xaus J, et al. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol*. avr 2008;159(3):187-93.
94. Moles L, Gómez M, Heilig H, Bustos G, Fuentes S, de Vos W, et al. Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life. *PLoS ONE*. 2013;8(6):e66986.

95. Gosalbes MJ, Llop S, Vallès Y, Moya A, Ballester F, Francino MP. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clin Exp Allergy*. févr 2013;43(2):198-211.
96. Madan JC, Salari RC, Saxena D, Davidson L, O'Toole GA, Moore JH, et al. Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. nov 2012;97(6):F456-462.
97. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere M-F. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol*. avr 2013;21(4):167-73.
98. Mändar R, Mikelsaar M. Transmission of mother's microflora to the newborn at birth. *Biol Neonate*. 1996;69(1):30-5.
99. Tannock GW, Fuller R, Smith SL, Hall MA. Plasmid profiling of members of the family Enterobacteriaceae, lactobacilli, and bifidobacteria to study the transmission of bacteria from mother to infant. *J Clin Microbiol*. juin 1990;28(6):1225-8.
100. Nowrouzian. *Escherichia coli* in infants' intestinal microflora: colonization rate, strain turnover, and virulence gene carriage.
101. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*. 2 févr 2001;291(5505):881-4.
102. Ducluzeau R. [Development, equilibrium and role of microbial flora in the newborn]. *Ann Pediatr (Paris)*. janv 1993;40(1):13-22.
103. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. janv 2000;30(1):61-7.
104. Turrone F, Peano C, Pass DA, Foroni E, Severgnini M, Claesson MJ, et al. Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota. *PLoS ONE*. 2012;7(5):e36957.
105. Brigitta Kleessen JM Eugenia Bezirtzoglou. Culture-Based Knowledge on Biodiversity, Development and Stability of Human Gastrointestinal Microflora. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 1 janv 2000;12(2):53-63.
106. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA*. 29 juin 2010;107(26):11971-5.
107. 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*. janv 1999;28(1):19-25.

108. Biasucci G, Benenati B, Morelli L, Bessi E, Boehm G. Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *J Nutr.* sept 2008;138(9):1796S-1800S.
109. Biasucci G, Rubini M, Riboni S, Morelli L, Bessi E, Retetangos C. Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Hum Dev.* juill 2010;86 Suppl 1:13-5.
110. Huurre A, Kalliomäki M, Rautava S, Rinne M, Salminen S, Isolauri E. Mode of delivery - effects on gut microbiota and humoral immunity. *Neonatology.* 2008;93(4):236-40.
111. 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.* avr 2014;63(4):559-66.
112. Azad MB, Konya T, Maughan H, Guttman DS, Field CJ, Chari RS, et al. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CMAJ.* 19 mars 2013;185(5):385-94.
113. Salminen S, Gibson GR, McCartney AL, Isolauri E. Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children. *Gut.* sept 2004;53(9):1388-9.
114. Decker E, Hornef M, Stockinger S. Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. *Gut Microbes.* avr 2011;2(2):91-8.
115. Renz-Polster H, David MR, Buist AS, Vollmer WM, O'Connor EA, Frazier EA, et al. Caesarean section delivery and the risk of allergic disorders in childhood. *Clin Exp Allergy.* nov 2005;35(11):1466-72.
116. Arboleya S, Ang L, Margolles A, Yiyuan L, Dongya Z, Liang X, et al. Deep 16S rRNA metagenomics and quantitative PCR analyses of the premature infant fecal microbiota. *Anaerobe.* juin 2012;18(3):378-80.
117. Arboleya S, Binetti A, Salazar N, Fernández N, Solís G, Hernández-Barranco A, et al. Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *FEMS Microbiol Ecol.* mars 2012;79(3):763-72.
118. Magne F, Suau A, Pochart P, Desjeux J-F. Fecal Microbial Community in Preterm Infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* oct 2005;41(4):386.
119. Westerbeek EAM, van den Berg A, Lafeber HN, Knol J, Fetter WPF, van Elburg RM. The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: a review of the literature. *Clin Nutr.* juin 2006;25(3):361-8.
120. Sakata H, Yoshioka H, Fujita K. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *Eur J Pediatr.* juill 1985;144(2):186-90.
121. Schwiertz A, Gruhl B, Löbnitz M, Michel P, Radke M, Blaut M. Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatr Res.* sept 2003;54(3):393-9.

122. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci USA*. 15 mars 2011;108 Suppl 1:4578-85.
123. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev*. nov 2015;91(11):629-35.
124. Boquien C-Y. Human Milk: An Ideal Food for Nutrition of Preterm Newborn. *Front Pediatr*. 16 oct 2018;6.
125. Bode L. Human milk oligosaccharides: prebiotics and beyond. *Nutr Rev*. 1 nov 2009;67(suppl\_2):S183-91.
126. Marcobal A, Barboza M, Froehlich JW, Block DE, German JB, Lebrilla CB, et al. Consumption of Human Milk Oligosaccharides by Gut-Related Microbes. *J Agric Food Chem*. 12 mai 2010;58(9):5334-40.
127. Le Huërou-Luron I, Blat S, Boudry G. Breast- v. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. *Nutr Res Rev*. juin 2010;23(1):23-36.
128. González R, Klaassens ES, Malinen E, de Vos WM, Vaughan EE. Differential Transcriptional Response of *Bifidobacterium longum* to Human Milk, Formula Milk, and Galactooligosaccharide. *Appl Environ Microbiol*. août 2008;74(15):4686-94.
129. Sela DA, Mills DA. Nursing our microbiota: molecular linkages between bifidobacteria and milk oligosaccharides. *Trends Microbiol*. juill 2010;18(7):298-307.
130. Sakurama H, Kiyohara M, Wada J, Honda Y, Yamaguchi M, Fukiya S, et al. Lacto-N-biosidase Encoded by a Novel Gene of *Bifidobacterium longum* Subspecies *longum* Shows Unique Substrate Specificity and Requires a Designated Chaperone for Its Active Expression. *J Biol Chem*. 30 août 2013;288(35):25194-206.
131. Matsuki T, Yahagi K, Mori H, Matsumoto H, Hara T, Tajima S, et al. A key genetic factor for fucosyllactose utilization affects infant gut microbiota development. *Nature Communications*. 24 juin 2016;7:11939.
132. Sjögren YM, Tomicic S, Lundberg A, Böttcher MF, Björkstén B, Sverremark-Ekström E, et al. Influence of early gut microbiota on the maturation of childhood mucosal and systemic immune responses. *Clinical & Experimental Allergy*. 2009;39(12):1842-51.
133. Chichlowski M, De Lartigue G, German JB, Raybould HE, Mills DA. Bifidobacteria isolated from infants and cultured on human milk oligosaccharides affect intestinal epithelial function. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. sept 2012;55(3):321-7.
134. Iyengar SR, Walker WA. Immune factors in breast milk and the development of atopic disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. déc 2012;55(6):641-7.
135. Field CJ. The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. *J Nutr*. janv 2005;135(1):1-4.
136. Palmeira P, Carneiro-Sampaio M. Immunology of breast milk. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. sept 2016;62(6):584-93.

137. Levast B, Li Z, Madrenas J. The role of IL-10 in microbiome-associated immune modulation and disease tolerance. *Cytokine*. oct 2015;75(2):291-301.
138. Brandtzaeg P. Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. *Vaccine*. 28 juill 2003;21(24):3382-8.
139. Jeurink P v., van Berghenhenegouwen J, Jiménez E, Knippels L m. j., Fernández L, Garssen J, et al. Human milk: a source of more life than we imagine. *Beneficial Microbes*. 27 déc 2012;4(1):17-30.
140. Klatt NR, Funderburg NT, Brenchley JM. Microbial translocation, immune activation and HIV disease. *Trends Microbiol*. janv 2013;21(1):6-13.
141. Collado MC, Delgado S, Maldonado A, Rodríguez JM. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. *Lett Appl Microbiol*. mai 2009;48(5):523-8.
142. Sahl JW, Matalaka MN, Rasko DA. Phylomark, a tool to identify conserved phylogenetic markers from whole-genome alignments. *Appl Environ Microbiol*. juill 2012;78(14):4884-92.
143. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res*. mars 2013;69(1):1-10.
144. Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr*. 1 sept 2012;96(3):544-51.
145. Martín V, Maldonado-Barragán A, Moles L, Rodriguez-Baños M, Campo RD, Fernández L, et al. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *J Hum Lact*. févr 2012;28(1):36-44.
146. Ducluzeau R. [Development, equilibrium and role of microbial flora in the newborn]. *Ann Pediatr (Paris)*. janv 1993;40(1):13-22.
147. Orrhage K, Nord CE. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. *Acta Paediatr Suppl*. août 1999;88(430):47-57.
148. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe*. déc 2011;17(6):478-82.
149. Fallani M, Young D, Scott J, Norin E, Amarri S, Adam R, et al. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. juill 2010;51(1):77-84.
150. Rinne M, Kalliomaki M, Arvilommi H, Salminen S, Isolauri E. Effect of probiotics and breastfeeding on the bifidobacterium and lactobacillus/enterococcus microbiota and humoral immune responses. *J Pediatr*. août 2005;147(2):186-91.

151. Lundequist B, Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottle fed infants from birth to eight weeks. *Acta Paediatr Scand.* janv 1985;74(1):45-51.
152. Stark PL, Lee A. Clostridia isolated from the feces of infants during the first year of life. *J Pediatr.* mars 1982;100(3):362-5.
153. Marcobal A, Barboza M, Sonnenburg ED, Pudlo N, Martens EC, Desai P, et al. Bacteroides in the infant gut consume milk oligosaccharides via mucus-utilization pathways. *Cell Host Microbe.* 17 nov 2011;10(5):507-14.
154. Campeotto F, Waligora-Dupriet A-J, Doucet-Populaire F, Kalach N, Dupont C, Butel M-J. Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. /data/revues/03998320/00310005/533/. 26 mars 2008;
155. Langhendries J, Paquay T, Hannon M, Darimont J. Acquisition de la flore intestinale néonatale: rôle sur la morbidité et perspectives thérapeutiques. *Archives de Pédiatrie.* 1 juin 1998;5(6):644-53.
156. Coppa GV, Bruni S, Morelli L, Soldi S, Gabrielli O. The first prebiotics in humans: human milk oligosaccharides. *J Clin Gastroenterol.* juill 2004;38(6 Suppl):S80-83.
157. Veereman-Wauters G, Staelens S, Van de Broek H, Plaskie K, Wesling F, Roger LC, et al. Physiological and bifidogenic effects of prebiotic supplements in infant formulae. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* juin 2011;52(6):763-71.
158. Gregory KE, Samuel BS, Houghteling P, Shan G, Ausubel FM, Sadreyev RI, et al. Influence of maternal breast milk ingestion on acquisition of the intestinal microbiome in preterm infants. *Microbiome.* 30 2016;4(1):68.
159. Vallès Y, Artacho A, Pascual-García A, Ferrús ML, Gosalbes MJ, Abellán JJ, et al. Microbial succession in the gut: directional trends of taxonomic and functional change in a birth cohort of Spanish infants. *PLoS Genet.* juin 2014;10(6):e1004406.
160. Fallani M, Amarri S, Uusijarvi A, Adam R, Khanna S, Aguilera M, et al. Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres. *Microbiology (Reading, Engl).* mai 2011;157(Pt 5):1385-92.
161. Vaishampayan PA, Kuehl JV, Froula JL, Morgan JL, Ochman H, Francino MP. Comparative Metagenomics and Population Dynamics of the Gut Microbiota in Mother and Infant. *Genome Biol Evol.* 1 janv 2010;2:53-66.
162. Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol.* 18 nov 2008;6(11):e280.
163. Tanaka S, Kobayashi T, Songjinda P, Tateyama A, Tsubouchi M, Kiyohara C, et al. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. *FEMS Immunol Med Microbiol.* juin 2009;56(1):80-7.



164. 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.* nov 2012;56(11):5811-20.
165. Greenwood C, Morrow AL, Lagomarcino AJ, Altaye M, Taft DH, Yu Z, et al. Early empiric antibiotic use in preterm infants is associated with lower bacterial diversity and higher relative abundance of *Enterobacter*. *J Pediatr.* juill 2014;165(1):23-9.
166. Moore AM, Ahmadi S, Patel S, Gibson MK, Wang B, Ndao MI, et al. Gut resistome development in healthy twin pairs in the first year of life. *Microbiome.* 2015;3:27.
167. Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterström R. Fecal bacterial microflora of newborn infants during intensive care management and treatment with five antibiotic regimens. *Pediatr Infect Dis.* oct 1986;5(5):533-9.
168. White AC, Atmar RL, Wilson J, Cate TR, Stager CE, Greenberg SB. Effects of requiring prior authorization for selected antimicrobials: expenditures, susceptibilities, and clinical outcomes. *Clin Infect Dis.* août 1997;25(2):230-9.
169. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med.* 25 juill 2002;347(4):240-7.
170. Jauréguy F, Carton M, Panel P, Foucaud P, Butel M-J, Doucet-Populaire F. Effects of intrapartum penicillin prophylaxis on intestinal bacterial colonization in infants. *J Clin Microbiol.* nov 2004;42(11):5184-8.
171. Hanson LA, Korotkova M, Telemo E. Breast-feeding, infant formulas, and the immune system. *Ann Allergy Asthma Immunol.* juin 2003;90(6 Suppl 3):59-63.
172. Langdon A, Crook N, Dantas G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Medicine.* déc 2016;8(1):39.
173. Nakayama J, Kobayashi T, Tanaka S, Korenori Y, Tateyama A, Sakamoto N, et al. Aberrant structures of fecal bacterial community in allergic infants profiled by 16S rRNA gene pyrosequencing. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1 déc 2011;63(3):397-406.
174. Vatanen T, Kostic AD, d’Hennezel E, Siljander H, Franzosa EA, Yassour M, et al. Variation in Microbiome LPS Immunogenicity Contributes to Autoimmunity in Humans. *Cell.* 5 mai 2016;165(4):842-53.
175. Zoetendal EG, Akkermans AD, De Vos WM. Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. *Appl Environ Microbiol.* oct 1998;64(10):3854-9.
176. Science for health. Evolution du microbiote avec l’âge.
177. Claesson MJ, Cusack S, O’Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci USA.* 15 mars 2011;108 Suppl 1:4586-91.

178. Woodmansey EJ. Intestinal bacteria and ageing. *J Appl Microbiol.* mai 2007;102(5):1178-86.
179. Woodmansey EJ, McMurdo MET, Macfarlane GT, Macfarlane S. Comparison of compositions and metabolic activities of fecal microbiotas in young adults and in antibiotic-treated and non-antibiotic-treated elderly subjects. *Appl Environ Microbiol.* oct 2004;70(10):6113-22.
180. Biagi E, Candela M, Turrone S, Garagnani P, Franceschi C, Brigidi P. Ageing and gut microbes: perspectives for health maintenance and longevity. *Pharmacol Res.* mars 2013;69(1):11-20.
181. Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekhnman R, et al. Human genetics shape the gut microbiome. *Cell.* 6 nov 2014;159(4):789-99.
182. Goodrich JK, Davenport ER, Beaumont M, Jackson MA, Knight R, Ober C, et al. Genetic Determinants of the Gut Microbiome in UK Twins. *Cell Host & Microbe.* 11 mai 2016;19(5):731-43.
183. Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, Zeller G, Telzerow A, Anderson EE, et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature.* 29 2018;555(7698):623-8.
184. Biedermann L, Zeitz J, Mwinyi J, Sutter-Minder E, Rehman A, Ott SJ, et al. Smoking cessation induces profound changes in the composition of the intestinal microbiota in humans. *PLoS ONE.* 2013;8(3):e59260.
185. Jiang H, Ling Z, Zhang Y, Mao H, Ma Z, Yin Y, et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun.* août 2015;48:186-94.
186. Lyte M, Vulchanova L, Brown DR. Stress at the intestinal surface: catecholamines and mucosa-bacteria interactions. *Cell Tissue Res.* janv 2011;343(1):23-32.
187. Dominguez-Bello MG, Godoy-Vitorino F, Knight R, Blaser MJ. Role of the microbiome in human development. *Gut.* 2019;68(6):1108-14.
188. Chen S-Y, Tsai C-N, Lee Y-S, Lin C-Y, Huang K-Y, Chao H-C, et al. Intestinal microbiome in children with severe and complicated acute viral gastroenteritis. *Sci Rep.* 11 2017;7:46130.
189. Garrett-Bakelman FE, Darshi M, Green SJ, Gur RC, Lin L, Macias BR, et al. The NASA Twins Study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight. *Science.* 12 2019;364(6436).
190. 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 USA.* 17 août 2010;107(33):14691-6.
191. Lin A, Bik EM, Costello EK, Dethlefsen L, Haque R, Relman DA, et al. Distinct Distal Gut Microbiome Diversity and Composition in Healthy Children from Bangladesh and the United States. *PLOS ONE.* 22 janv 2013;8(1):e53838.

192. Nakayama J, Watanabe K, Jiang J, Matsuda K, Chao S-H, Haryono P, et al. Diversity in gut bacterial community of school-age children in Asia. *Scientific Reports*. 23 févr 2015;5:8397.
193. Ruengsomwong S, La-ongkham O, Jiang J, Wannissorn B, Nakayama J, Nitisinprasert S. Microbial Community of Healthy Thai Vegetarians and Non-Vegetarians, Their Core Gut Microbiota, and Pathogen Risk. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 28 oct 2016;26(10):1723-35.
194. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 7 oct 2011;334(6052):105-8.
195. Nakayama J, Yamamoto A, Palermo-Conde LA, Higashi K, Sonomoto K, Tan J, et al. Impact of Westernized Diet on Gut Microbiota in Children on Leyte Island. *Front Microbiol*. 2017;8:197.
196. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, Power SE, O'Connor EM, Cusack S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*. 9 août 2012;488(7410):178-84.
197. Kåhrström CT, Pariente N, Weiss U. Intestinal microbiota in health and disease. *Nature*. 07 2016;535(7610):47.
198. Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S, et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature*. 10 déc 2015;528(7581):262-6.
199. Imhann F, Bonder MJ, Vich Vila A, Fu J, Mujagic Z, Vork L, et al. Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. *Gut*. mai 2016;65(5):740-8.
200. Jackson MA, Goodrich JK, Maxan M-E, Freedberg DE, Abrams JA, Poole AC, et al. Proton pump inhibitors alter the composition of the gut microbiota. *Gut*. mai 2016;65(5):749-56.
201. Reveles KR, Ryan CN, Chan L, Cosimi RA, Haynes WL. Proton pump inhibitor use associated with changes in gut microbiota composition. *Gut*. 2018;67(7):1369-70.
202. Rogers M a. M, Aronoff DM. The influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the gut microbiome. *Clin Microbiol Infect*. févr 2016;22(2):178.e1-178.e9.
203. Flowers SA, Evans SJ, Ward KM, McInnis MG, Ellingrod VL. Interaction Between Atypical Antipsychotics and the Gut Microbiome in a Bipolar Disease Cohort. *Pharmacotherapy*. 2017;37(3):261-7.
204. Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, Zeller G, Telzerow A, Anderson EE, et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature*. 29 mars 2018;555(7698):623-8.
205. Maurice CF, Haiser HJ, Turnbaugh PJ. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell*. 17 janv 2013;152(1-2):39-50.

206. Lescure X. Gestion des effets secondaires des antibiotiques. :87.
207. Högenauer C, Hammer HF, Krejs GJ, Reisinger EC. Mechanisms and management of antibiotic-associated diarrhea. *Clin Infect Dis.* oct 1998;27(4):702-10.
208. Gabaron-Kerleguer A, Soler CP, Désidéri-Vaillant C, Garrabé E, Cavallo JD. Diarrhées post-antibiothérapie. *Médecine et Maladies Infectieuses.* 1 janv 2001;31(11):650-5.
209. Peeters TL. Erythromycin and other macrolides as prokinetic agents. *Gastroenterology.* déc 1993;105(6):1886-99.
210. Caron F, Ducrotte P, Lerebours E, Colin R, Humbert G, Denis P. Effects of amoxicillin-clavulanate combination on the motility of the small intestine in human beings. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 1991;35(6):1085-8.
211. Dobbins WO, Herrero BA, Mansbach CM. Morphologic alterations associated with neomycin induced malabsorption. *Am J Med Sci.* janv 1968;255:63-77.
212. Kaltenbach G, Heitz D. [Antibiotic-associated diarrhea in the elderly]. *Rev Med Interne.* janv 2004;25(1):46-53.
213. Masson E. Colite postantibiotique. EM-Consulte.
214. Newton DF, Macfarlane S, Macfarlane GT. Effects of antibiotics on bacterial species composition and metabolic activities in chemostats containing defined populations of human gut microorganisms. *Antimicrob Agents Chemother.* mai 2013;57(5):2016-25.
215. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology.* 2010;156(11):3216-23.
216. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect.* sept 1998;40(1):1-15.
217. McFarland LV, Surawicz CM, Stamm WE. Risk factors for *Clostridium difficile* carriage and *C. difficile*-associated diarrhea in a cohort of hospitalized patients. *J Infect Dis.* sept 1990;162(3):678-84.
218. Barbut F, Petit JC. Epidemiology of *Clostridium difficile*-associated infections. *Clin Microbiol Infect.* août 2001;7(8):405-10.
219. De La Cochetière MF, Durand T, Lepage P, Bourreille A, Galmiche JP, Doré J. Resilience of the dominant human fecal microbiota upon short-course antibiotic challenge. *J Clin Microbiol.* nov 2005;43(11):5588-92.
220. Lankelma JM, Nieuwdorp M, de Vos WM, Wiersinga WJ. The gut microbiota in internal medicine: implications for health and disease. *Neth J Med.* févr 2015;73(2):61-8.
221. Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 15 mars 2011;108 Suppl 1:4554-61.

222. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS ONE*. 24 mars 2010;5(3):e9836.
223. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J*. mai 2007;1(1):56-66.
224. McFall-Ngai M, Hadfield MG, Bosch TCG, Carey HV, Domazet-Lošo T, Douglas AE, et al. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proc Natl Acad Sci USA*. 26 févr 2013;110(9):3229-36.
225. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 27 mars 2014;157(1):121-41.
226. Bernalier-Donadille A. Fermentative metabolism by the human gut microbiota. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. 1 sept 2010;34:S16-22.
227. Chang C, Lin H. Dysbiosis in gastrointestinal disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. févr 2016;30(1):3-15.
228. Schroeder BO, Bäckhed F. Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease. *Nat Med*. 2016;22(10):1079-89.
229. Lyte M. Microbial Endocrinology and the Microbiota-Gut-Brain Axis. In: Cryan JF, éditeur. *Microbial Endocrinology: The Microbiota-Gut-Brain Axis in Health and Disease*. Springer New York; 2014. p. 3-24. (Advances in Experimental Medicine and Biology).
230. Gaboriau-Routhiau V, Cerf-Bensussan N. Gut microbiota and development of the immune system. *Med Sci (Paris)*. nov 2016;32(11):961-7.
231. Natividad JMM, Verdu EF. Modulation of intestinal barrier by intestinal microbiota: pathological and therapeutic implications. *Pharmacol Res*. mars 2013;69(1):42-51.
232. Smith K, McCoy KD, Macpherson AJ. Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota. *Semin Immunol*. avr 2007;19(2):59-69.
233. Swanson PA, Kumar A, Samarin S, Vijay-Kumar M, Kundu K, Murthy N, et al. Enteric commensal bacteria potentiate epithelial restitution via reactive oxygen species-mediated inactivation of focal adhesion kinase phosphatases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 24 mai 2011;108(21):8803-8.
234. Petersson J, Schreiber O, Hansson GC, Gendler SJ, Velcich A, Lundberg JO, et al. Importance and regulation of the colonic mucus barrier in a mouse model of colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. févr 2011;300(2):G327-333.
235. Wrzosek L, Miquel S, Noordine M-L, Bouet S, Joncquel Chevalier-Curt M, Robert V, et al. *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biol*. 21 mai 2013;11:61.

236. Hooper LV. Bacterial contributions to mammalian gut development. *Trends Microbiol.* mars 2004;12(3):129-34.
237. Bäumlér AJ, Sperandio V. Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature.* 07 2016;535(7610):85-93.
238. Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y, Yoshimura K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature.* 27 janv 2011;469(7331):543-7.
239. Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol.* mars 2010;10(3):159-69.
240. Mathias A, Pais B, Favre L, Benyacoub J, Corthésy B. Role of secretory IgA in the mucosal sensing of commensal bacteria. *Gut Microbes.* 2014;5(6):688-95.
241. Rogier EW, Frantz AL, Bruno MEC, Kaetzel CS. Secretory IgA is Concentrated in the Outer Layer of Colonic Mucus along with Gut Bacteria. *Pathogens.* 29 avr 2014;3(2):390-403.
242. Francino MP. Early Development of the Gut Microbiota and Immune Health. *Pathogens.* sept 2014;3(3):769-90.
243. Nguyen QN, Himes JE, Martinez DR, Permar SR. The Impact of the Gut Microbiota on Humoral Immunity to Pathogens and Vaccination in Early Infancy. *PLOS Pathogens.* 22 déc 2016;12(12):e1005997.
244. Hevia A, Delgado S, Sánchez B, Margolles A. Molecular Players Involved in the Interaction Between Beneficial Bacteria and the Immune System. *Front Microbiol.* 2015;6:1285.
245. Gérard P, Bernalier-Donadille A. Les fonctions majeures du microbiote intestinal. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* 1 avr 2007;42:28-36.
246. Christl SU, Murgatroyd PR, Gibson GR, Cummings JH. Production, metabolism, and excretion of hydrogen in the large intestine. *Gastroenterology.* 1 avr 1992;102(4, Part 1):1269-77.
247. Lichtenstein AH. Intestinal cholesterol metabolism. *Ann Med.* févr 1990;22(1):49-52.
248. Ridlon JM, Kang D-J, Hylemon PB. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J Lipid Res.* 2 janv 2006;47(2):241-59.
249. Macdonald IA, Bokkenheuser VD, Winter J, McLernon AM, Mosbach EH. Degradation of steroids in the human gut. *J Lipid Res.* 6 janv 1983;24(6):675-700.
250. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 21 déc 2006;444(7122):1027-31.
251. Cummings JH, Macfarlane GT. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *Journal of Applied Bacteriology.* 1991;70(6):443-59.

252. Englyst HN, Hay S, Macfarlane GT. Polysaccharide breakdown by mixed populations of human faecal bacteria. *FEMS Microbiology Letters*. 1 juin 1987;45(3):163-71.
253. Miller TL, Wolin MJ. Fermentations by saccharolytic intestinal bacteria. *Am J Clin Nutr*. janv 1979;32(1):164-72.
254. Reichardt N, Duncan SH, Young P, Belenguer A, McWilliam Leitch C, Scott KP, et al. Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota. *ISME J*. juin 2014;8(6):1323-35.
255. Pryde SE, Duncan SH, Hold GL, Stewart CS, Flint HJ. The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiol Lett*. 17 déc 2002;217(2):133-9.
256. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud D-J, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res*. sept 2013;54(9):2325-40.
257. Ahmad MS, Krishnan S, Ramakrishna BS, Mathan M, Pulimood AB, Murthy SN. Butyrate and glucose metabolism by colonocytes in experimental colitis in mice. *Gut*. avr 2000;46(4):493-9.
258. Ramakrishna BS, Mathan VI. Colonic dysfunction in acute diarrhoea: the role of luminal short chain fatty acids. *Gut*. sept 1993;34(9):1215-8.
259. Sun Y, O'Riordan MXD. Regulation of bacterial pathogenesis by intestinal short-chain Fatty acids. *Adv Appl Microbiol*. 2013;85:93-118.
260. Bindels LB, Porporato P, Dewulf EM, Verrax J, Neyrinck AM, Martin JC, et al. Gut microbiota-derived propionate reduces cancer cell proliferation in the liver. *Br J Cancer*. 9 oct 2012;107(8):1337-44.
261. Corrêa-Oliveira R, Fachi JL, Vieira A, Sato FT, Vinolo MAR. Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clin Transl Immunology*. 22 avr 2016;5(4):e73.
262. Phillips SF, Pemberton JH, Shorter R. The large intestine Physiology, pathophysiology and disease. *Acta Endosc*. 1 mars 1991;21(2):XVIII-XVIII.
263. Macfarlane GT. Metabolic Activities of the Normal Colonic Flora. In: Gibson SAW, éditeur. *Human Health: The Contribution of Microorganisms*. Springer London; 1994. p. 17-52. (Springer Series in Applied Biology).
264. Koppel N, Rekdal VM, Balskus EP. Chemical transformation of xenobiotics by the human gut microbiota. *Science*. 2018;356(6344).
265. Li H, He J, Jia W. The influence of gut microbiota on drug metabolism and toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2016;12(1):31-40.
266. LeBlanc JG, Laiño JE, del Valle MJ, Vannini V, van Sinderen D, Taranto MP, et al. B-group vitamin production by lactic acid bacteria--current knowledge and potential applications. *J Appl Microbiol*. déc 2011;111(6):1297-309.

267. LeBlanc JG, Milani C, de Giori GS, Sesma F, van Sinderen D, Ventura M. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Curr Opin Biotechnol.* avr 2013;24(2):160-8.
268. Said HM, Mohammed ZM. Intestinal absorption of water-soluble vitamins: an update. *Curr Opin Gastroenterol.* mars 2006;22(2):140-6.
269. Ichihashi T, Takagishi Y, Uchida K, Yamada H. Colonic absorption of menaquinone-4 and menaquinone-9 in rats. *J Nutr.* mars 1992;122(3):506-12.
270. Martens JH, Barg H, Warren MJ, Jahn D. Microbial production of vitamin B12. *Appl Microbiol Biotechnol.* mars 2002;58(3):275-85.
271. Pompei A, Cordisco L, Amaretti A, Zanoni S, Matteuzzi D, Rossi M. Folate production by bifidobacteria as a potential probiotic property. *Appl Environ Microbiol.* janv 2007;73(1):179-85.
272. Hill MJ. Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. *Eur J Cancer Prev.* mars 1997;6 Suppl 1:S43-45.
273. Lepage P. The human gut microbiota: Interactions with the host and dysfunctions. *Rev Mal Respir.* déc 2017;34(10):1085-90.
274. Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, et al. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis.* août 2009;15(8):1183-9.
275. Kabeerdoss J, Sankaran V, Pugazhendhi S, Ramakrishna BS. *Clostridium leptum* group bacteria abundance and diversity in the fecal microbiota of patients with inflammatory bowel disease: a case-control study in India. *BMC Gastroenterol.* 26 janv 2013;13:20.
276. Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N, Peters WHM, Roelofs R, Boleij A, et al. Towards the Human Colorectal Cancer Microbiome. *PLOS ONE.* 24 mai 2011;6(5):e20447.
277. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res.* févr 2012;22(2):299-306.
278. Flanagan L, Schmid J, Ebert M, Soucek P, Kunicka T, Liska V, et al. *Fusobacterium nucleatum* associates with stages of colorectal neoplasia development, colorectal cancer and disease outcome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* août 2014;33(8):1381-90.
279. Bartlett JG. *Clostridium difficile* Infection. *Infect Dis Clin North Am.* 2017;31(3):489-95.
280. Vael C, Nelen V, Verhulst SL, Goossens H, Desager KN. Early intestinal *Bacteroides fragilis* colonisation and development of asthma. *BMC Pulm Med.* 26 sept 2008;8:19.
281. Penders J, Thijs C, van den Brandt PA, Kummeling I, Snijders B, Stelma F, et al. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study. *Gut.* mai 2007;56(5):661-7.



282. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. déc 2006;444(7122):1022.
283. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 4 oct 2012;490(7418):55-60.
284. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 6 juin 2013;498(7452):99-103.
285. Sato J, Kanazawa A, Ikeda F, Yoshihara T, Goto H, Abe H, et al. Gut dysbiosis and detection of « live gut bacteria » in blood of Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. août 2014;37(8):2343-50.
286. Scheperjans F, Aho V, Pereira PAB, Koskinen K, Paulin L, Pekkonen E, et al. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Mov Disord*. mars 2015;30(3):350-8.
287. Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Low Relative Abundances of the Mucolytic Bacterium *Akkermansia muciniphila* and *Bifidobacterium* spp. in Feces of Children with Autism. *Appl Environ Microbiol*. 15 sept 2011;77(18):6718-21.
288. Williams BL, Hornig M, Parekh T, Lipkin WI. Application of novel PCR-based methods for detection, quantitation, and phylogenetic characterization of *Sutterella* species in intestinal biopsy samples from children with autism and gastrointestinal disturbances. *MBio*. 2012;3(1).
289. Tang WHW, Wang Z, Levison BS, Koeth RA, Britt EB, Fu X, et al. Intestinal Microbial Metabolism of Phosphatidylcholine and Cardiovascular Risk. *New England Journal of Medicine*. 25 avr 2013;368(17):1575-84.
290. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 29 août 2013;500(7464):585-8.
291. VIDAL. Greffe de flore intestinale : les recommandations de l'ANSM pour améliorer la sécurité.
292. Dinh A, Bouchand F, Le AM. Current treatment and epidemiology of *Clostridium difficile* infections. *Rev Med Interne*. sept 2015;36(9):596-602.
293. Rossen NG, MacDonald JK, Vries EM de, D'Haens GR, Vos WM de, Zoetendal EG, et al. Fecal microbiota transplantation as novel therapy in gastroenterology: A systematic review. *World Journal of Gastroenterology*. 7 mai 2015;21(17):5359-71.
294. Boclé J-C. ANSES - Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'Homme adulte. févr 2005;128.
295. Markowiak P, Śliżewska K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*. 15 sept 2017;9(9).

296. Bengmark S. Bioecological control of inflammatory bowel disease. *Clin Nutr.* avr 2007;26(2):169-81.
297. Geier MS, Butler RN, Howarth GS. Inflammatory bowel disease: current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics, prebiotics and synbiotics. *Int J Food Microbiol.* 1 avr 2007;115(1):1-11.
298. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol.* avr 2006;101(4):812-22.
299. Vandenberg PA. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiol Rev.* 1 sept 1993;12(1-3):221-37.
300. Guillot JF. Probiotic feed additives. *J Vet Pharmacol Ther.* 2003;
301. Brandão RL, Castro IM, Bambirra EA, Amaral SC, Fietto LG, Tropa MJ, et al. Intracellular signal triggered by cholera toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol.* févr 1998;64(2):564-8.
302. Isolauri E, Sütas Y, Kankaanpää P, Arvilommi H, Salminen S. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr.* 2001;73(2 Suppl):444S-450S.
303. Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. Probiotics and immunity. *J Gastroenterol.* 2009;44(1):26-46.
304. Doron S, Snyderman DR. Risk and safety of probiotics. *Clin Infect Dis.* 15 mai 2015;60 Suppl 2:S129-134.
305. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang MLK. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr.* juin 2006;83(6):1256-64; quiz 1446-7.
306. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *J Nutr.* 1 juin 1995;125(6):1401-12.
307. Schrezenmeir J, de Vrese M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition. *Am J Clin Nutr.* 2001;73(2 Suppl):361S-364S.
308. Foxx-Orenstein A, Chey W. Manipulation of the Gut Microbiota as a Novel Treatment Strategy for Gastrointestinal Disorders. *The American Journal of Gastroenterology Supplements.* 1 juill 2012;1:41-6.
309. Achary AA, Prapulla SG. Xylooligosaccharides (XOS) as an Emerging Prebiotic: Microbial Synthesis, Utilization, Structural Characterization, Bioactive Properties, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2011;10(1):2-16.
310. Ríos-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Gueimonde M, de Los Reyes-Gavilán CG, Salazar N. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. *Front Microbiol.* 2016;7:185.

311. Tsai Y-L, Lin T-L, Chang C-J, Wu T-R, Lai W-F, Lu C-C, et al. Probiotics, prebiotics and amelioration of diseases. *J Biomed Sci.* 4 janv 2019;26(1):3.
312. Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev.* déc 2004;17(2):259-75.
313. Waldman AJ, Balskus EP. The Human Microbiota, Infectious Disease, and Global Health: Challenges and Opportunities. *ACS Infect Dis.* 12 2018;4(1):14-26.
314. Pandey KR, Naik SR, Vakil BV. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *J Food Sci Technol.* déc 2015;52(12):7577-87.
315. Ma J, Zhou Q, Li H. Gut Microbiota and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Insights on Mechanisms and Therapy. *Nutrients.* 16 oct 2017;9(10).
316. Figueroa-González I, Quijano G, Ramírez G, Cruz-Guerrero A. Probiotics and prebiotics -perspectives and challenges. *J Sci Food Agric.* juin 2011;91(8):1341-8.
317. Panigrahi P, Parida S, Pradhan L, Mohapatra SS, Misra PR, Johnson JA, et al. Long-term colonization of a *Lactobacillus plantarum* synbiotic preparation in the neonatal gut. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* juill 2008;47(1):45-53.
318. Dennison NJ, Jupatanakul N, Dimopoulos G. The mosquito microbiota influences vector competence for human pathogens. *Curr Opin Insect Sci.* 1 sept 2014;3:6-13.
319. Boissière A, Tchioffo MT, Bachar D, Abate L, Marie A, Nsango SE, et al. Midgut microbiota of the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae* and interactions with *Plasmodium falciparum* infection. *PLoS Pathog.* 2012;8(5):e1002742.
320. Gendrin M, Rodgers FH, Yerbanga RS, Ouédraogo JB, Basáñez M-G, Cohuet A, et al. Antibiotics in ingested human blood affect the mosquito microbiota and capacity to transmit malaria. *Nat Commun.* 6 janv 2015;6:5921.
321. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 13 juin 2012;486(7402):207-14.
322. Hildebrand F, Nguyen TLA, Brinkman B, Yunta RG, Cauwe B, Vandenabeele P, et al. Inflammation-associated enterotypes, host genotype, cage and inter-individual effects drive gut microbiota variation in common laboratory mice. *Genome Biol.* 24 janv 2013;14(1):R4.
323. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 23 janv 2014;505(7484):559-63.
324. Yilmaz B, Portugal S, Tran TM, Gozzelino R, Ramos S, Gomes J, et al. Gut Microbiota Elicits a Protective Immune Response against Malaria Transmission. *Cell.* 4 déc 2014;159(6):1277-89.

325. Yooseph S, Kirkness EF, Tran TM, Harkins DM, Jones MB, Torralba MG, et al. Stool microbiota composition is associated with the prospective risk of *Plasmodium falciparum* infection. *BMC Genomics*. 22 août 2015;16(1).
326. Villarino NF, LeCleir GR, Denny JE, Dearth SP, Harding CL, Sloan SS, et al. Composition of the gut microbiota modulates the severity of malaria. *PNAS*. 23 févr 2016;113(8):2235-40.
327. Mooney JP, Lokken KL, Byndloss MX, George MD, Velazquez EM, Faber F, et al. Inflammation-associated alterations to the intestinal microbiota reduce colonization resistance against non-typhoidal *Salmonella* during concurrent malaria parasite infection. *Scientific Reports*. 5 oct 2015;5:14603.
328. Taniguchi T, Miyauchi E, Nakamura S, Hirai M, Suzue K, Imai T, et al. *Plasmodium berghei* ANKA causes intestinal malaria associated with dysbiosis. *Sci Rep*. 27 oct 2015;5:15699.
329. Soares MP, Yilmaz B. Microbiota Control of Malaria Transmission. *Trends Parasitol*. févr 2016;32(2):120-30.
330. Cabezas-Cruz A, de la Fuente J. Immunity to  $\alpha$ -Gal: The Opportunity for Malaria and Tuberculosis Control. *Front Immunol*. 2017;8.
331. Ménard R, Tavares J, Cockburn I, Markus M, Zavala F, Amino R. Looking under the skin: the first steps in malarial infection and immunity. *Nat Rev Microbiol*. oct 2013;11(10):701-12.
332. Rickman LS, Jones TR, Long GW, Paparello S, Schneider I, Paul CF, et al. *Plasmodium falciparum*-infected *Anopheles stephensi* inconsistently transmit malaria to humans. *Am J Trop Med Hyg*. nov 1990;43(5):441-5.
333. Sauerwein RW, Roestenberg M, Moorthy VS. Experimental human challenge infections can accelerate clinical malaria vaccine development. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(1):57-64.
334. Verhage DF, Telgt DSC, Bousema JT, Hermsen CC, van Gemert GJA, van der Meer JWM, et al. Clinical outcome of experimental human malaria induced by *Plasmodium falciparum*-infected mosquitoes. *Neth J Med*. févr 2005;63(2):52-8.
335. Oyelaran O, McShane LM, Dodd L, Gildersleeve JC. Profiling human serum antibodies with a carbohydrate antigen microarray. *J Proteome Res*. sept 2009;8(9):4301-10.
336. Avrameas S. Natural autoantibodies: from « horror autotoxicus » to « gnothi seauton ». *Immunol Today*. mai 1991;12(5):154-9.
337. Bishop JR, Gagneux P. Evolution of carbohydrate antigens--microbial forces shaping host glycomes? *Glycobiology*. mai 2007;17(5):23R-34R.
338. Hayakawa T, Satta Y, Gagneux P, Varki A, Takahata N. Alu-mediated inactivation of the human CMP- N-acetylneuraminic acid hydroxylase gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 25 sept 2001;98(20):11399-404.

339. Tangvoranuntakul P, Gagneux P, Diaz S, Bardor M, Varki N, Varki A, et al. Human uptake and incorporation of an immunogenic nonhuman dietary sialic acid. *Proc Natl Acad Sci USA*. 14 oct 2003;100(21):12045-50.
340. Galili U, Swanson K. Gene sequences suggest inactivation of alpha-1,3-galactosyltransferase in catarrhines after the divergence of apes from monkeys. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 15 août 1991;88(16):7401.
341. Galili U, Rachmilewitz EA, Peleg A, Flechner I. A unique natural human IgG antibody with anti-alpha-galactosyl specificity. *J Exp Med*. 1 nov 1984;160(5):1519-31.
342. Cywes-Bentley C, Skurnik D, Zaidi T, Roux D, Deoliveira RB, Garrett WS, et al. Antibody to a conserved antigenic target is protective against diverse prokaryotic and eukaryotic pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA*. 11 juin 2013;110(24):E2209-2218.
343. Varki A, Gagneux P. Human-specific evolution of sialic acid targets: explaining the malignant malaria mystery? *Proc Natl Acad Sci USA*. 1 sept 2009;106(35):14739-40.
344. Macedo CS de, Schwarz RT, Todeschini AR, Previato JO, Mendonça-Previato L. Overlooked post-translational modifications of proteins in *Plasmodium falciparum*: N- and O-glycosylation -- a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. déc 2010;105(8):949-56.
345. Galili U, Mandrell RE, Hamadeh RM, Shohet SB, Griffiss JM. Interaction between human natural anti-alpha-galactosyl immunoglobulin G and bacteria of the human flora. *Infect Immun*. juill 1988;56(7):1730-7.
346. Ramasamy R, Reese RT. A role for carbohydrate moieties in the immune response to malaria. *J Immunol*. mars 1985;134(3):1952-5.
347. Ramasamy R, Reese RT. Terminal galactose residues and the antigenicity of *Plasmodium falciparum* glycoproteins. *Mol Biochem Parasitol*. mai 1986;19(2):91-101.
348. Ramasamy R, Ramasamy M, Yasawardena S. Antibodies and *Plasmodium falciparum* merozoites. *Trends in Parasitology*. 1 avr 2001;17(4):194-7.
349. Ramasamy R, Field MC. Terminal galactosylation of glycoconjugates in *Plasmodium falciparum* asexual blood stages and *Trypanosoma brucei* bloodstream trypomastigotes. *Exp Parasitol*. avr 2012;130(4):314-20.
350. Nardin EH, Nussenzweig V, Nussenzweig RS, Collins WE, Harinasuta KT, Tapchaisri P, et al. Circumsporozoite proteins of human malaria parasites *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. *J Exp Med*. 1 juill 1982;156(1):20-30.
351. Yang Y-G, deGoma E, Ohdan H, Bracy JL, Xu Y, Iacomini J, et al. Tolerization of Anti-Gal $\alpha$ 1-3Gal Natural Antibody-forming B Cells by Induction of Mixed Chimerism. *J Exp Med*. 20 avr 1998;187(8):1335-42.
352. Chiang TR, Fanget L, Gregory R, Tang Y, Ardiet DL, Gao L, et al. Anti-Gal antibodies in humans and 1, 3alpha-galactosyltransferase knock-out mice. Transplantation. 27 juin 2000;69(12):2593-600.

353. Tearle RG, Tange MJ, Zannettino ZL, Katerelos M, Shinkel TA, Van Denderen BJ, et al. The alpha-1,3-galactosyltransferase knockout mouse. Implications for xenotransplantation. *Transplantation*. 15 janv 1996;61(1):13-9.
354. Macher BA, Galili U. The Galalpha1,3Galbeta1,4GlcNAc-R (alpha-Gal) epitope: a carbohydrate of unique evolution and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta*. févr 2008;1780(2):75-88.
355. Avrameas S. Natural autoantibodies: from « horror autotoxicus » to « gnothi seauton ». *Immunol Today*. mai 1991;12(5):154-9.
356. Wang L, Radic MZ, Galili U. Human anti-Gal heavy chain genes. Preferential use of VH3 and the presence of somatic mutations. *The Journal of Immunology*. 1 août 1995;155(3):1276-85.
357. Pal SC, Koteswara Rao C, Kereselidze T, Krishnaswami AK, Murty DK, Pandit CG, et al. An extensive community outbreak of enteropathogenic *Escherichia coli* O86: B7 gastroenteritis. *Bull World Health Organ*. 1969;41(6):851-8.
358. Posekany KJ, Pittman HK, Bradfield JF, Haisch CE, Verbanac KM. Induction of Cytolytic Anti-Gal Antibodies in  $\alpha$ -1,3-Galactosyltransferase Gene Knockout Mice by Oral Inoculation with *Escherichia coli* O86:B7 Bacteria. *Infection and Immunity*. 1 nov 2002;70(11):6215-22.
359. Mañez R, Blanco FJ, Díaz I, Centeno A, Lopez-Pelaez E, Hermida M, et al. Removal of bowel aerobic gram-negative bacteria is more effective than immunosuppression with cyclophosphamide and steroids to decrease natural alpha-galactosyl IgG antibodies. *Xenotransplantation*. févr 2001;8(1):15-23.
360. Springer GF, Horton RE, Forbes M. Origin of anti-human blood group B agglutinins in white Leghorn chicks. *J Exp Med*. 1 août 1959;110(2):221-44.
361. Springer GF, Horton RE. Blood group isoantibody stimulation in man by feeding blood group-active bacteria. *J Clin Invest*. juill 1969;48(7):1280-91.
362. Avila JL, Rojas M, Galili U. Immunogenic Gal alpha 1----3Gal carbohydrate epitopes are present on pathogenic American *Trypanosoma* and *Leishmania*. *J Immunol*. 15 avr 1989;142(8):2828-34.
363. Galili U, Macher BA, Buehler J, Shohet SB. Human natural anti-alpha-galactosyl IgG. II. The specific recognition of alpha (1----3)-linked galactose residues. *J Exp Med*. 1 août 1985;162(2):573-82.
364. Galili U, Buehler J, Shohet SB, Macher BA. The human natural anti-Gal IgG. III. The subtlety of immune tolerance in man as demonstrated by crossreactivity between natural anti-Gal and anti-B antibodies. *J Exp Med*. 1 mars 1987;165(3):693-704.
365. Doenz U, Nydegger UE, Kueng A, Carrel T, Mohacsi P. Anti-Galalpha1-3Gal IgM/IgG antibody levels in infants: do they have a clinical relevance in pediatric xenotransplantation? *J Heart Lung Transplant*. nov 2000;19(11):1108-13.

366. LaTemple DC, Galili U. Adult and neonatal anti-Gal response in knock-out mice for alpha1,3galactosyltransferase. *Xenotransplantation*. août 1998;5(3):191-6.
367. Kearney JF, Patel P, Stefanov EK, King RG. Natural antibody repertoires: development and functional role in inhibiting allergic airway disease. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:475-504.
368. Lundell A-C, Björnsson V, Ljung A, Ceder M, Johansen S, Lindhagen G, et al. Infant B Cell Memory Differentiation and Early Gut Bacterial Colonization. *The Journal of Immunology*. 1 mai 2012;188(9):4315-22.
369. Buffie CG, Pamer EG. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nat Rev Immunol*. nov 2013;13(11):790-801.
370. Fan X, Ang A, Pollock-BarZiv SM, Dipchand AI, Ruiz P, Wilson G, et al. Donor-specific B-cell tolerance after ABO-incompatible infant heart transplantation. *Nature Medicine*. nov 2004;10(11):1227-33.
371. Kwiatkowski DP. How Malaria Has Affected the Human Genome and What Human Genetics Can Teach Us about Malaria. *Am J Hum Genet*. août 2005;77(2):171-92.
372. Turner L, Lavstsen T, Berger SS, Wang CW, Petersen JEV, Avril M, et al. Severe malaria is associated with parasite binding to endothelial protein C receptor. *Nature*. 27 juin 2013;498(7455):502-5.
373. Pleass RJ, Moore SC, Stevenson L, Hviid L. Immunoglobulin M: Restraint of Inflammation and Mediator of Immune Evasion by *Plasmodium falciparum* Malaria. *Trends Parasitol*. févr 2016;32(2):108-19.
374. Aakko J, Endo A, Mangani C, Maleta K, Ashorn P, Isolauri E, et al. Distinctive Intestinal *Lactobacillus* Communities in 6-Month-Old Infants From Rural Malawi and Southwestern Finland. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. déc 2015;61(6):641-8.
375. Stough JMA, Dearth SP, Denny JE, LeClerc GR, Schmidt NW, Campagna SR, et al. Functional Characteristics of the Gut Microbiome in C57BL/6 Mice Differentially Susceptible to *Plasmodium yoelii*. *Front Microbiol*. 2016;7:1520.
376. Cabrales P, Zanini GM, Meays D, Frangos JA, Carvalho LJM. Nitric oxide protection against murine cerebral malaria is associated with improved cerebral microcirculatory physiology. *J Infect Dis*. 15 mai 2011;203(10):1454-63.
377. Serghides L, Kim H, Lu Z, Kain DC, Miller C, Francis RC, et al. Inhaled Nitric Oxide Reduces Endothelial Activation and Parasite Accumulation in the Brain, and Enhances Survival in Experimental Cerebral Malaria. *PLOS ONE*. 16 nov 2011;6(11):e27714.
378. Martins YC, Zanini GM, Frangos JA, Carvalho LJM. Efficacy of different nitric oxide-based strategies in preventing experimental cerebral malaria by *Plasmodium berghei* ANKA. *PLoS ONE*. 2012;7(2):e32048.
379. Burgner D, Xu W, Rockett K, Gravenor M, Charles IG, Hill AV, et al. Inducible nitric oxide synthase polymorphism and fatal cerebral malaria. *Lancet*. 10 oct 1998;352(9135):1193-4.

380. Ji XB, Hollocher TC. Reduction of nitrite to nitric oxide by enteric bacteria. *Biochem Biophys Res Commun.* 30 nov 1988;157(1):106-8.
381. Crane BR, Sudhamsu J, Patel BA. Bacterial nitric oxide synthases. *Annu Rev Biochem.* 2010;79:445-70.
382. Sobko T, Reinders CI, Jansson E, Norin E, Midtvedt T, Lundberg JO. Gastrointestinal bacteria generate nitric oxide from nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.* déc 2005;13(4):272-8.
383. Vermeiren J, Van de Wiele T, Verstraete W, Boeckx P, Boon N. Nitric oxide production by the human intestinal microbiota by dissimilatory nitrate reduction to ammonium. *J Biomed Biotechnol.* 2009;2009:284718.
384. Modiano D, Petrarca V, Sirima BS, Nebié I, Diallo D, Esposito F, et al. Different response to *Plasmodium falciparum* malaria in West African sympatric ethnic groups. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 12 nov 1996;93(23):13206-11.
385. Astronomo RD, Burton DR. Carbohydrate vaccines: developing sweet solutions to sticky situations? *Nat Rev Drug Discov.* avr 2010;9(4):308-24.
386. Davitt CJH, Lavelle EC. Delivery strategies to enhance oral vaccination against enteric infections. *Adv Drug Deliv Rev.* 30 août 2015;91:52-69.
387. Cobb BA, Wang Q, Tzianabos AO, Kasper DL. Polysaccharide processing and presentation by the MHCII pathway. *Cell.* 28 mai 2004;117(5):677-87.
388. Seder RA, Chang L-J, Enama ME, Zephir KL, Sarwar UN, Gordon IJ, et al. Protection against malaria by intravenous immunization with a nonreplicating sporozoite vaccine. *Science.* 20 sept 2013;341(6152):1359-65.
389. Cabezas Cruz A, Valdés JJ, de la Fuente J. Control of vector-borne infectious diseases by human immunity against  $\alpha$ -Gal. *Expert Rev Vaccines.* 2016;15(8):953-5.
390. Hackett J. Use of *Salmonella* for heterologous gene expression and vaccine delivery systems. *Curr Opin Biotechnol.* oct 1993;4(5):611-5.
391. Holmgren J, Czerkinsky C. Cholera as a model for research on mucosal immunity and development of oral vaccines. *Current Opinion in Immunology.* 1 janv 1992;4(4):387-91.
392. Zhang Z-H, Jiang P-H, Li N-J, Shi M, Huang W. Oral vaccination of mice against rodent malaria with recombinant *Lactococcus lactis* expressing MSP-1(19). *World J Gastroenterol.* 28 nov 2005;11(44):6975-80.
393. Mangold A, Hercher D, Hlavin G, Liepert J, Zimmermann M, Kollmann D, et al. Anti- $\alpha$ -Gal antibody titres remain unaffected by the consumption of fermented milk containing *Lactobacillus casei* in healthy adults. *Int J Food Sci Nutr.* mai 2012;63(3):278-82.
394. Mikelsaar M, Sepp E, Štšepetova J, Songisepp E, Mändar R. Biodiversity of Intestinal Lactic Acid Bacteria in the Healthy Population. *Adv Exp Med Biol.* 2016;932:1-64.



395. van Hylckama Vlieg JET, Rademaker JLW, Bachmann H, Molenaar D, Kelly WJ, Siezen RJ. Natural diversity and adaptive responses of *Lactococcus lactis*. *Curr Opin Biotechnol.* avr 2006;17(2):183-90.
396. Bottacini F, Ventura M, van Sinderen D, O'Connell Motherway M. Diversity, ecology and intestinal function of bifidobacteria. *Microb Cell Fact.* 29 août 2014;13 Suppl 1:S4.
397. Chen C, Liu B, Xu Y, Utkina N, Zhou D, Danilov L, et al. Biochemical characterization of the novel  $\alpha$ -1, 3-galactosyltransferase WclR from *Escherichia coli* O3. *Carbohydr Res.* 22 juill 2016;430:36-43.
398. Han W, Cai L, Wu B, Li L, Xiao Z, Cheng J, et al. The wciN gene encodes an  $\alpha$ -1,3-galactosyltransferase involved in the biosynthesis of the capsule repeating unit of *Streptococcus pneumoniae* serotype 6B. *Biochemistry.* 24 juill 2012;51(29):5804-10.
399. Kumar H, Salminen S, Verhagen H, Rowland I, Heimbach J, Bañares S, et al. Novel probiotics and prebiotics: road to the market. *Curr Opin Biotechnol.* avr 2015;32:99-103.
400. Jain N, Walker WA. Diet and host-microbial crosstalk in postnatal intestinal immune homeostasis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* janv 2015;12(1):14-25.
401. Oozeer R, van Limpt K, Ludwig T, Ben Amor K, Martin R, Wind RD, et al. Intestinal microbiology in early life: specific prebiotics can have similar functionalities as human-milk oligosaccharides. *Am J Clin Nutr.* août 2013;98(2):561S-71S.
402. Chassard C, de Wouters T, Lacroix C. Probiotics tailored to the infant: a window of opportunity. *Curr Opin Biotechnol.* avr 2014;26:141-7.
403. Gritz EC, Bhandari V. The human neonatal gut microbiome: a brief review. *Front Pediatr.* 2015;3:17.