

LE MICROBIOTE DIGESTIF ET SANTÉ HUMAINE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :..... 2016

PAR

Mlle. MAJDOUB Fatima Zahra

Née le 22 Mars 1989 à Casablanca

Pour l' Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES: Microbiote digestif – Dysbiose – Prébiotique – Probiotique – Transplantation
de microbiote fécal

MEMBRES DU JURY

Mr. M. ZOUHDI
Professeur de microbiologie

Mr. Y. SEKHSOKH
Professeur de microbiologie

Mme. S. TELLAL
Professeur de biochimie

Mme. M. CHADLI
Professeur de microbiologie

Mr. A. GAOUZI
Professeur de pédiatrie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إننا أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 32

صَلَّى اللَّهُ الْعَظِيمَ



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969	: Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974	: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981	: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989	: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997	: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003	: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013	: Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen	: Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes	Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération	Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie	Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général	: Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
-------------------------	----------------------

Novembre 1983

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie
-------------------------------	--------------

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima	Cardiologie
Pr. BENSAID Younes	Pathologie Chirurgicale
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa	Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali
Pr. CHAHED OUAZZANI Houria
Pr. EL YAACOUBI Moradh
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUÏ Mohamed

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUÏA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Radiologie
Gastro-Entérologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOUDI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUDAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham

Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie **Inspecteur du SS**
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie

Pr. CHERKAoui Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAoui Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAoui Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOURI Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAoui CHAFIQ
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation – **Dir. HMIM**
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur ERSM**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajac
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Gastro-Entérologie
Neurologie – **Doyen Abulcassis**
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURLAH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie

Pr. BENZZOUBEIR Nadia
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
 Pr. CHOHO Abdelkrim *
 Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 Pr. EL HAOURI Mohamed *
 Pr. EL MANSARI Omar*
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. IKEN Ali
 Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. LAGHMARI Mina
 Pr. MABROUK Hfid*
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RACHID Khalid *
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 Pr. RHOU Hakima
 Pr. SIAH Samir *
 Pr. THIMOU Amal
 Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
 Pr. AMRANI Mariam
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 Pr. BENKIRANE Ahmed*
 Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 Pr. BOULAADAS Malik
 Pr. BOURAZZA Ahmed*
 Pr. CHAGAR Belkacem*
 Pr. CHERRADI Nadia
 Pr. EL FENNI Jamal*
 Pr. EL HANCHI ZAKI
 Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 Pr. HACHI Hafid
 Pr. JABOUIRIK Fatima
 Pr. KHABOUZE Samira
 Pr. KHARMAZ Mohamed

Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Gynécologie Obstétrique
 Traumatologie Orthopédie

Pr. LEZREK Mohammed*
 Pr. MOUGHIL Said
 Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
 Pr. TARIB Abdelilah*
 Pr. TIJAMI Fouad
 Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
 Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
 Pr. ALLALI Fadoua
 Pr. AMAZOUZI Abdellah
 Pr. AZIZ Noureddine*
 Pr. BAHIRI Rachid
 Pr. BARKAT Amina
 Pr. BENHALIMA Hanane
 Pr. BENYASS Aatif
 Pr. BERNOUSSI Abdelghani
 Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
 Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 Pr. EL HAMZAQUI Sakina*
 Pr. HAJJI Leila
 Pr. HESSISSEN Leila
 Pr. JIDAL Mohamed*
 Pr. LAAROUSSI Mohamed
 Pr. LYAGOUBI Mohammed
 Pr. NIAMANE Radouane*
 Pr. RAGALA Abdelhak
 Pr. SBIHI Souad
 Pr. ZERAIDI Najia

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 Pr. AKJOUJ Said*
 Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 Pr. BENCHEIKH Razika
 Pr. BIYI Abdelhamid*
 Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 Pr. DOGHMI Nawal
 Pr. ESSAMRI Wafaa

Urologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Rhumatologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Pédiatrie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie *(mise en disponibilité)*
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Parasitologie
 Rhumatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Gynécologie Obstétrique

Anesthésie Réanimation

Rhumatologie
 Radiologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique
 Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie

Pr. FELLAT Ibtissam
 Pr. FAROUDY Mamoun
 Pr. GHADOUANE Mohammed*
 Pr. HARMOUCHE Hicham
 Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
 Pr. JROUNDI Laila
 Pr. KARMOUNI Tariq
 Pr. KILI Amina
 Pr. KISRA Hassan
 Pr. KISRA Mounir
 Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 Pr. MANSOURI Hamid*
 Pr. OUANASS Abderrazzak
 Pr. SAFI Soumaya*
 Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 Pr. SOUALHI Mouna
 Pr. TELLAL Saida*
 Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
 Pr. ACHACHI Leila
 Pr. ACHOUR Abdessamad*
 Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
 Pr. AMHAJJI Larbi*
 Pr. AMMAR Haddou*
 Pr. AOUI Sarra
 Pr. BAITE Abdelouahed*
 Pr. BALOUCH Lhousaine*
 Pr. BENZIANE Hamid*
 Pr. BOUTIMZINE Nourdine
 Pr. CHARKAOUI Naoual*
 Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
 Pr. ELABSI Mohamed
 Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 Pr. EL OMARI Fatima
 Pr. GANA Rachid
 Pr. GHARIB Noureddine
 Pr. HADADI Khalid*
 Pr. ICHOU Mohamed*
 Pr. ISMAILI Nadia
 Pr. KEBDANI Tayeb
 Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*

Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Réanimation médicale
 Pneumo phtisiologie
 Chirurgie générale
 Chirurgie cardio vasculaire
 Traumatologie orthopédie
 ORL
 Parasitologie
 Anesthésie réanimation
 Biochimie-chimie
 Pharmacie clinique
 Ophtalmologie
 Pharmacie galénique
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Anesthésie réanimation
 Psychiatrie
 Neuro chirurgie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Radiothérapie
 Oncologie médicale
 Dermatologie
 Radiothérapie
 Anesthésie réanimation

Pr. LOUZI Lhoussain*
 Pr. MADANI Naoufel
 Pr. MAHI Mohamed*
 Pr. MARC Karima
 Pr. MASRAR Azlarab
 Pr. MOUTAJ Redouane *
 Pr. MRABET Mustapha*
 Pr. MRANI Saad*
 Pr. OUZZIF Ez zohra*
 Pr. RABHI Monsef*
 Pr. RADOUANE Bouchaib*
 Pr. SEFFAR Myriame
 Pr. SEKHSOKH Yessine*
 Pr. SIFAT Hassan*
 Pr. TABERKANET Mustafa*
 Pr. TACHFOUTI Samira
 Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 Pr. TANANE Mansour*
 Pr. TLIGUI Houssain
 Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
 Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
 Pr. AGDR Aomar*
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
 Pr. AKHADDAR Ali*
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. AMAHZOUNE Brahim*
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. ARKHA Yassir
 Pr. AZENDOUR Hicham*
 Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae*
 Pr. BOUI Mohammed*
 Pr. BOUNAIM Ahmed*
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
 Pr. CHAKOUR Mohammed *

Microbiologie
 Réanimation médicale
 Radiologie
 Pneumo phtisiologie
 Hématologie
 Parasitologie
 Médecine préventive santé publique et hygiène
 Virologie
 Biochimie-chimie
 Médecine interne
 Radiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Radiothérapie
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Ophtalmologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 Parasitologie
 Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale

Médecine interne
 Pédiatre
 Chirurgie Générale
 Neurologie
 Neuro-chirurgie
 Radiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Rhumatologie
 Neuro-chirurgie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Anatomie
 Biochimie-chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie orthopédique
 Hématologie biologique



Pr. CHTATA Hassan Toufik*
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENNASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid*
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. L'KASSIMI Hachemi*
 Pr. LAMSAOURI Jamal*
 Pr. MARMADÉ Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
 Pr. ZOUHAIR Said*

Chirurgie vasculaire périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Microbiologie
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Hématologie biologique
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-phtisiologie
 Microbiologie

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. LEZREK Mounir
 Pr. MALIH Mohamed*
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. NAZIH Mouna*
 Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anesthésie réanimation
 Médecine interne
 Physiologie
 ORL
 Microbiologie
 Médecine aéronautique
 Biochimie chimie
 Radiologie
 Chirurgie pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Urologie
 Gastro entérologie
 Anatomie pathologique
 Ophtalmologie
 Pédiatrie
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie générale
 Hématologie
 Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOU MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSEFFAJ Nadia
Pr. BENSGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophthisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique
Immunologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologie
Anatomie



Pr. EL KORAICHI Alac
 Pr. EN-NOUALI Hassane*
 Pr. ERRGUIG Laila
 Pr. FIKRI Meryim
 Pr. GHANIMI Zineb
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANE Zineb
 Pr. IRAQI Hind
 Pr. KABBAJ Hakima
 Pr. KADIRI Mohamed*
 Pr. LATIB Rachida
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUT Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Pédiatrie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
 Pr. GHOUNDALE Omar*
 Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

***Enseignants Militaires**

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootéchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015



Dédicaces



JE DEDIE CETTE THESE ...

A Allah

Tout puissant

Qui m'a inspiré

Qui m'a guidé dans le bon chemin

Je vous dois ce que je suis devenue Louanges

*et remerciements Pour votre clémence et
miséricorde.*

A ceux qui me sont les plus chers

A ceux qui ont toujours cru en moi

A ceux qui m'ont toujours encouragée

Je dédie cette thèse :

À ma très chère mère Jodar Rachida

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

C'est grâce à Dieu puis à toi que je suis devenue ce que je suis aujourd'hui. J'espère qu'en ce jour l'un de tes rêves se réalise à travers moi en concrétisant le fruit de tes sacrifices.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

A mon très cher Père Majdoub Essaid

Le grand militant, qui a toujours été un exemple pour ses enfants, qui m'a toujours poussé à me surpasser dans tout ce que j'entreprends, qui m'a transmis cette rage de vaincre et la faim de savoir. Celui qui a été ma source de motivation, le moteur de mes ambitions, qui m'a appris que le savoir est une richesse que nul ne peut voler.

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je te porte, ni la profonde gratitude que je te témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que tu n'as jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

Je te serai cher père reconnaissante toute ma vie, pour tout le mal que tu t'es donné pour moi à chaque étape de ma vie, pour ta patience et ton amour.

J'espère être la fille que tu as voulu que je sois, et je m'efforcerai d'être digne de ce que tu aurais souhaité que je sois. Ce titre de Docteur en Pharmacie je le porterai fièrement et je te le dédie tout particulièrement.

Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie

A ma soeur Mona

*Ma chère soeur, ma confidente et ma fidèle compagnante dans les moments les plus délicats
de cette vie mystérieuse.*

*En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour toi.
Je te dédie ce travail avec mes vœux les plus sincères de bonheur de santé et de réussite*

To my lovely sister Soukaina

*Unreachable words to express how much you are so dear to me my Dongseng Satsuke,
I can only hope that you reach all your goals and realise all your dreams cuty
Thank you for being there whenever i was down,
Thank you for all your advices and warm big heart
Thank you my teammate, my shoulder, my one and only beautiful sister*

A tous les membres de ma famille, petits et grands

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection

To my best friend Fatima Ezzahra Gharbaoui

My dearest friend, my beloved unni and my soul guardian, you were with me since our first year, we passed a lot together with the word aja-aja fighting, and I thank Allah that you were with me and will always be, I do remember first thing you said to me after passing exams « you have to lose to know how to win » since that day, i never lost an exam and never lost hope.

I'm so thankful to have you in my life that I can't find appropriate words or great lyrics, you are my serotonin my one and only source of happiness, hope and never give up Today is the D-day that we were waiting for soooo long and for that i dedicate this work to you

Love you unni

À mes chers amis

Imane Zhim, Hinda Haloui, Jamila Ghardach, Abir Koufail, Fatima Feth, Asmaa Bamoussi, Rajae Maman, Hewane Wole

Majdi Mohammed Ben abdallah, Yassine Smitti, Younes Mechali, Hima abdallah Hassouna

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères et soeurs et des amis sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

***A TOUS MES CHERS AMIS DE LA FACULTE DE
MEDECINE ET DE PHARMACIE DE RABAT***

*J'ai le plaisir de dédier à chacun de vous ce modeste travail.
J'espère que vous y trouverez l'expression de mes sentiments les plus
sincères.*

A tous mes enseignants

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce
travail, A tous ceux qui m'ont dispensée le savoir,*

*A tous ceux et celles qui me sont chers Et que j'ai involontairement
omis de Citer*

Qu'ils me pardonnent...

Remerciements



A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Mr ZOUHDI Mimoun Professeur de Microbiologie

C'est pour nous un grand honneur de vous avoir à la présidence de ce jury malgré vos multiples responsabilités.

Votre rigueur scientifique et vos qualités humaines font de vous un maître estimé de tous.

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de notre jury de thèse.

Veillez trouver ici, cher maître, l'expression de notre admiration et l'assurance de nos sentiments les plus distingués.

A NOTRE MAITRE ET RAPPORTEUR DE THESE

Mr SEKHSOKH Yassine Professeur de microbiologie

Vous m'avez confié ce sujet de thèse et je souhaite être digne de cet honneur. Ce travail a pu être mené à bien grâce à vous.

Vos précieux conseils m'ont aidé à structurer mon travail et à approfondir mes analyses. Votre grande générosité et votre disponibilité m'ont permis d'enrichir mes recherches et de mener à bien la réalisation de cette thèse de fin d'étude.

Je vous témoigne tous mes respects et ma grande admiration. Veuillez accepter, cher maitre, le témoignage de ma gratitude et de ma profonde reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE
Madame TELLAL Saida Professeur de biochimie

*Nous sommes très honorés par la spontanéité avec laquelle vous avez
accepté de juger ce travail, nous vous en remercions.*

*Votre compétence scientifique et pédagogique fait de vous l'un des
enseignants les plus remarquables qu'on puisse rencontrer au cours
de son cursus universitaire.*

*Veuillez trouver, chère Maitre, dans ce travail, l'expression de notre
sincère reconnaissance et de notre profond respect.*

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE
Madame CHADLI Meryama Professeur de microbiologie

*Nous vous remercions vivement d'avoir accepté sans réserve de siéger
parmi le jury de notre thèse.*

*Votre humanisme, votre spontanéité et votre gentillesse ne sont un
secret pour personne.*

*Veuillez accepter, Madame, l'expression de ma grande admiration et
mes sincères respects.*

***A notre Maitre et Juge de thèse Mr Ahmed Gaouzi Professeur de
pédiatrie***

*Vous nous faites honneur en acceptant de juger notre travail.
Pour cela, nous vous transmettons nos sincères remerciements ainsi
que l'expression de notre admiration.
Veuillez recevoir l'expression de notre reconnaissance et de notre
respect.*



LISTE DES ILLUSTRATIONS

Liste des acronymes

Liste des acronymes

-EPS : Sulfate d'éthylphényle 4

AA : Acide Aminé

ADNr : Acide DésoxyriboNucléique
ribosomique

AEA : Anandamide

AGCC: Acide Gras Chaîne Courte

AIEC: Adhérent-Invasif *Escherichia coli*

ALDH2 : Acétaldéhyde déshydrogénase

ARNr : Acide ribonucléique ribosomique

ATG16L1: Autophagy Related protein 16-
like 1

CD: Cluster of Differentiation

CEI : Cellule épithéliale intestinale

CFU : Colony Forming Unit

CHC : Carcinome Hépatocellulaire

CMH: Complexe Majeur
d'Histocompatibilité

CMV: Cytomégalovirus

CRC: Cancer Colorectal

CRF : Corticotropin-releasing factor

CRP : protéine C-réactive

DACD : Diarrhée à *C.difficile*

DGGE: denaturing gradient gel
electrophoresis

DJA : Dose Journalière Admissible

EAE : Encéphalomyélite allergique
expérimentale

EBV: Epstein - Barr virus

eCB: endocannabinoïde

ECUN : Entérocolite Ulcéro-Nécrosante

EPS : Exopolysaccharide

EPSPS : synthase 3-phosphoshikimate 1-
carboxyvinyltransferase

ETX : Toxine epsilon

FAO : Food and Agriculture Organization

Fiaf: Fast-Induced Adipocyte Factor

FISH: Fluorescent In Situ Hybridation

FMF : Fièvre Méditerranéenne Familiale

FOS : Fructo-oligosaccharides

GABA : Acide Gamma-AminoButyrique

GALT : Gut-associated lymphoid tissue

GF : Germ Free

GI : Gastro-Intestinal

GLP-1 et 2 : Glucagon-like peptide-1 et 2

GOS : Galacto-oligosaccharides

Gpr: G Protein Récepteur

HDL : High density lipoproteine

HIV: Human Immunodeficiency Virus

HMP: Human Microbiome Project

HBS : Hypothalamo-pituito-surrénalien

HTLV: Human T-lymphotropic Virus

IBS : Irritable bowel syndrome

ICD : Infection à *Clostridium difficile*

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

IMC : Indice de Masse Corporelle

INF: Interferon

INRA : Institut Scientifique de Recherche Agronomique

ITS : Internally Transcribed Spacer

Klf4 : Kruppel-like factor 4

LB : Lymphocyte B

LP : lamina propria

Lpl: Lipoprotéine lipase

LPS: Lipopolysaccharide

LTh: Lymphocyte T Helper

LTreg: Lymphocyte T regulator

MAF : Maladie alcoolique du foie

MAMPS : Microbe-Associated Molecular Patterns

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase

MC: Maladie de Crohn

MetaHIT: Metagenomics of the Human Intestinal Tract

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales

MP : Maladie de Parkinson

NAS : Non-caloric Artificial Sweeteners

NE : Nutrition Entérale

NF-κB: Nuclear Factor-kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

NGF : Facteurs de Croissance des Nerfs

NK : Natural Killer

NLR : NOD2 Like Receptor

NOD : Non Obèse et Diabétique

NOD2: Nucleotide oligomerization domain 2

NPY : Neuropeptide Tyrosine

OMP : Outer Membrane Protein

ORF : Open Reading Frame

OTU : Operational Taxonomic Units

PAI : Phosphatase Alcaline Intestinale

PAL : Phénylalanine ammoniac lyase

PPARy : Peroxisome proliferator-activated receptor y

PSA: Polysaccharide A

qPCR : Quantitative polymerase chain reaction

RCH : Rectocolite Hémorragique

RCIU : Retard de Croissance Intra-Utérin

RISA : Ribosomal Intergenic Spacer Analysis

ROS : Reactive Oxygen Species

SAA : Serum Amyloid A

SCN : Staphylocoques à Coagulase Négative

SEP : Sclérose En Plaque

SFB : Segmented Filamentous Bacteria

SI : Système immunitaire

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise

SII: Syndrome de l'Intestin Irritable

SGC : Syndrome du grêle court

SNC : Système nerveux central

SNE : Système nerveux entérique

SPF : Specific Pathogen Free

TDAA : Trouble Déficitaire de l'Attention
avec Hyperactivité

TGF- β 2: Transforming Growth Factor-
beta 2

THS: Traitement hormonal substitutif

TI: Tractus Intestinal

TLR: Toll Like Receptor

TMA: triméthylamine

TMF : Transplantation de microbiote fécal

TNBS: l'acide 2,4,6-
trinitrobenzenesulphonique

TNF: Tumor Necrosis Factor

T-RFLP : Terminal Restriction Fragment
Length Polymorphism

TSA : Trouble du spectre autistique

TTGE : Temperature Gradient gel
Electrophoresis

USDA : United states department of
agriculture

WGS : Whole-Genome Shotgun

ZO-1: Zonula Occludens 1

Liste des figures :

Figure 1	Dr. Théodore Escherich, 43 ans en 1900	4
Figure 2	Pr. Elie Metchnikoff en 1913	5
Figure 3	Nombre de publications liées au microbiote digestif, par an, dans les deux dernières décennies	6
Figure 4	Pr. Carl Richard Woese	8
Figure 5	La prolifération du projet Microbiome Humain à l'échelle internationale	9
Figure 6	Organisation générale du système digestif humain	11
Figure 7	La paroi du tractus gastro-intestinal	14
Figure 8	Composition des communautés microbiennes associées au corps humain	16
Figure 9	Aspects temporaux de l'établissement et du développement du microbiote chez le nouveau-né	17
Figure 10	Évolution du microbiote du tractus gastro-intestinal de la naissance jusqu'à l'âge de 2 ans	18
Figure 11	Composition des communautés microbiennes dans le tractus gastro-intestinal humain	22
Figure 12	Variations qualitative et quantitative du microbiote intestinal	23
Figure 13	Variation transversale du microbiote intestinal	25
Figure 14	Un exemple de bactérie mucotrope représenté par <i>Akkermansia muciniphila</i>	27
Figure 15	Les 3 entérotypes du microbiote intestinal	29
Figure 16	Représentation schématique de l'arbre phylogénétique des bactéries dans les selles	29
Figure 17	Abondance relative des 57 génomes bactériens les plus fréquents rencontrés chez au moins 90% des individus de la cohorte	34
Figure 18	Composition des phylums des microbiotes intestinaux des personnes âgées (A) et jeunes (B)	39
Figure 19	Évolution du microbiote intestinal selon l'âge et les facteurs environnementaux	42
Figure 20	Différence de fréquence du diabète entre des souris mâles et femelles	44

Figure 21	schéma de By pass gastrique	45
Figure 22	Évolution des 5 principaux groupes bactériens du microbiote intestinal des nouveau-nés prématurés	51
Figure 23	Gradient Nord-Sud : de la Suède à l'Espagne : plus de Bifidobacterium au Nord ; une diversification plus précoce au Sud	55
Figure 24	L'impact du cycle circadien et habitudes alimentaires sur l'horloge biologique des bactéries intestinales	65
Figure 25	Comparaison des principaux phylums du microbiote intestinal avant et après la cessation du tabagisme	68
Figure 26	Techniques utilisées pour étudier le microbiote intestinal	71
Figure 27	Représentation de la structure du gène codant l'ARN ribosomal 16S bactérien	74
Figure 28	Analyse des résultats sur une lame de microarray	77
Figure 29	Cibles et approches « Méta-analyses » associées pour l'étude des communautés microbiennes	78
Figure 30	Schéma général de l'approche métagénomique	79
Figure 31	Le microbiote intestinal et ses rôles multiples chez son hôte	83
Figure 32	Chaîne trophique de dégradation et fermentation des polysaccharides dans le côlon humain	85
Figure 33	Métabolisme microbien des protéines dans le côlon humain : Relation entre protéolyse et protéosynthèse bactérienne	88
Figure 34	Production d'IgA par le système immunitaire	96
Figure 35	Modulation de la réponse immunitaire par le microbiote intestinal	97
Figure 36	La rupture de la barrière intestinale entraîne une perte de tolérance vis-à-vis du microbiote intestinal	99
Figure 37	Voies impliquées dans la communication bidirectionnelle entre le microbiote intestinal et le cerveau	102
Figure 38	Interconnexions des fonctions du microbiote intestinal	107
Figure 39	Implication du microbiote intestinal dans plusieurs états pathologiques hors	109

	le tractus gastro-intestinal	
Figure 40	Impact du microbiote intestinal et mécanismes associés au développement de l'inflammation, du diabète associés à l'obésité	114
Figure 41	Proportion moyenne des 11 genres bactériens les plus abondants entre les sujets diabétiques et sains	118
Figure 42	Proportion moyenne de 4 groupes de fonctions entre diabétiques et sains	118
Figure 43	Coupes de foie des souris associées au microbiote de la souris présentant des désordres métaboliques ou au microbiote de la souris sans désordre métabolique	120
Figure 44	Composition du microbiote intestinal des patients alcooliques avec différents stades de MAF	120
Figure 45	Abondance relative des membres des phylums bactériens prédominants dans le microbiote fécal des patients atteints de diarrhée post-antibiotiques en rapport avec <i>C.difficile</i>	130
Figure 46	Mécanismes d'induction de la carcinogenèse par le microbiote intestinal	145
Figure 47	Les principaux mécanismes d'action des probiotiques	159
Figure 48	Chronologie de la TMF	170

Liste des tableaux :

Tableau I	Pourcentage d'ARN ribosomal de différents groupes microbiens dans les selles de bébé d'une semaine nourris au lait maternel ou avec une formule infantile	56
Tableau II	Résumé des régimes inducteurs de dysbiose	60
Tableau III	Les différentes approches d'étude du microbiote intestinal	72
Tableau IV	Différences entre la Maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH)	121
Tableau V	Les meilleures sources de fibres alimentaires	155
Tableau VI	Indications pour une transplantation de matériel fécal en cas d'infections à <i>Clostridium difficile</i>	169
Tableau VII	liste des agents infectieux à dépister chez les donneurs	171
Tableau VIII	Les voies d'administration	174

Sommaire

I) Introduction	1
II) Historique	3
III) Physiologie du tube digestif	12
IV) Composition du microbiote intestinal : Eubiose_ Normobiose	18
A. Notion de Microbiote humain	19
B. Installation et développement normal du microbiote intestinal	20
C. Composition du microbiote digestif.....	25
a. Spécificité anatomique du microbiote intestinal	26
b. Composition du microbiote humain à partir de l'étude des selles	34
c. Notion du microbiome bactérien.....	40
D. Homéostasie du microbiote et résilience	44
E. Variation au cours de la vie et des conditions extrêmes	46
a. Microbiote et ménopause	46
b. Microbiote et âges extrêmes	47
V) Facteurs influençant l'installation et la stabilité du microbiote	50
A. Facteurs physiologiques.....	51
B. Facteurs environnementaux	60
C. Facteurs n'influençant pas la colonisation intestinale	88
VI) Méthodes d'exploration du microbiote intestinal.....	89
A. Méthodes culturales :	91
B. Techniques indépendantes de la culture :	92
a . Méthodes de séquençage :	93
b. Méthodes d'empreintes moléculaires :.....	94
c. Les puces à ADN.....	96
d. FISH et qPCR.....	97
C. Les méthodes de La Méta-analyse :	98
VII) Influence du microbiote intestinal sur la physiologie de l'hôte: Fonctions et rôle	103

A. Les fonctions métaboliques et nutritionnelles	105
B. Fonction de protection : effet barrière	114
C. Rôle dans l'immunité : immunomodulation	117
D. Maintien de l'intégrité et développement de la structure intestinale	124
E. Axe intestin-cerveau.....	127
F. Autres fonctions :	132
G. Interconnexions des fonctions	133
VIII) Dysbiose et pathologies :.....	134
A. Dysbiose et pathologies métaboliques.....	136
B. Dysbiose et maladies intestinales.....	149
C. Dysbiose et maladies allergiques	161
D. Dysbiose et pathologies neurologiques	163
E. Dysbiose et pathologies rhumatismales	174
F. Dysbiose et cancers digestifs.....	176
G. Autres pathologies	182
IX) Modulations thérapeutiques	186
A. La nutrithérapie :.....	187
B. Approche microbiologique :	193
C. Transplantation de microbiote fécal :	208
X) L'apport du pharmacien d'officine dans la préservation de l'eubiose	221
A. les conseils d'or du bon usage des médicaments	222
a. Le bon usage des antibiotiques.....	222
b. Les médicaments probiotiques et compléments alimentaires	224
B. Les conseils d'or en nutrition.....	227
C. Les conseils d'or en hygiène de vie	230
XI) Perspectives d'avenir.....	235
Conclusion	239
Annexes	194
Résumés.....	239
Références bibliographiques et webographiques.....	202



INTRODUCTION

Depuis notre naissance, nous vivons en symbiose avec des centaines de milliards de microbes. Leur nombre est de 10 à 100 fois plus le nombre de l'ensemble des cellules que contient notre organisme [1,2], et leur poids pèse environ 1,5 Kg, dépasse celui de notre cerveau [2]. De plus, le métagénome intestinal, est au moins 150 fois plus important que celui du génome humain, 22 000 pour ce dernier contre 3,3 millions pour le premier [3].

Le corps humain est colonisé de l'extérieur (peau et muqueuses) mais aussi de l'intérieur (sphère ORL, tube digestif, vagin) par un ensemble de bactéries, parasites ou virus. Afin d'illustrer cette cohabitation, on peut comparer notre corps à la Terre et les microbes aux organismes vivant qui la peuplent. Historiquement, ces organismes ont d'abord été considérés comme pathogènes et étudiés comme tels. Cependant et assez récemment, l'hypothèse d'un rôle bénéfique des microorganismes a été avancée. De plus, il s'est avéré que l'ensemble du génome humain n'était pas capable de subvenir aux besoins de l'Homme et la voie la plus rapide pour un organisme pour posséder d'autres facultés est d'acquérir les gènes nécessaires à partir d'un autre organisme.

L'intestin chez l'adulte, contient 100000 milliards de bactérie, cette communauté bactérienne est composée de plus de 1000 espèces différentes [4]. Cette communauté appelée anciennement flore (ou microflore) intestinale est dorénavant nommée microbiote. À l'âge adulte chez des sujets sains, ce microbiote est considéré comme équilibré, c'est l'eubiose. Cependant l'intérêt porté au microbiote intestinal dans diverses maladies intestinales ou extra-intestinales a fortement augmenté. Les progrès des techniques moléculaires associées à des outils bioinformatiques ont permis de décrire plus précisément cette communauté bactérienne intestinale [5].

Cette thèse bibliographique portera dans une première partie sur l'évolution de la composition du microbiote intestinal du nouveau-né jusqu'à l'âge extrême de la vie, ainsi les facteurs influençant l'installation du microbiote intestinal et aussi sur les fonctions biologiques que le microbiote apporte à son hôte. Puis, dans une deuxième partie, il sera fait un point sur les récentes découvertes où la dysbiose est mise en cause dans la survenue de

certaines pathologies métaboliques, auto-immunes, inflammatoires ou cancéreuses. Enfin, les modulations thérapeutiques seront abordées dans une troisième partie, avec l'approche nutritionnelle, microbiologique et la transplantation de microbiote fécal, sans oublier le rôle important du pharmacien dans l'éducation thérapeutique des patients, dans le conseil et l'orientation.



Les découvertes médicales résultent d'études et de recherches longues et minutieuses , mais il arrive aussi qu'elles découlent de propos entendus ou de choses vues à l'improviste de l'observation de faits connu depuis longtemps mais auxquels personne jusqu'alors n'avait prêté attention .

A. La mort se trouve dans les entrailles :

Vers l'an 400 avant Jésus-Christ il a été cité comme disant par Hippocrate « la mort se trouve dans les entrailles» et « la mauvaise digestion est la racine de tout mal » [6], qui montre que l'importance des intestins dans la santé humaine a été reconnue depuis longtemps. Depuis plusieurs décennies, la plupart des recherches sur l'impact des bactéries dans l'environnement intestinal était concentré sur les agents pathogènes gastro-intestinaux et la façon dont ils causent la maladie.

La microbiologie est née au XVII^e siècle du développement de la microscopie par Antonie Van Leeuwenhoek, et a pris son essor avec la mise au point des techniques de culture et d'isolement des micro-organismes par Robert Koch et Louis Pasteur au XIX^e siècle. L'écologie, apparue plus récemment en tant que science, se définit comme « l'étude des interactions entre les organismes vivants et le milieu, et des organismes vivants entre eux dans les conditions naturelles» [7]. L'écologie microbienne a donc pour but de déterminer quels sont les micro-organismes présents dans un environnement donné, et leurs fonctions dans cet environnement.

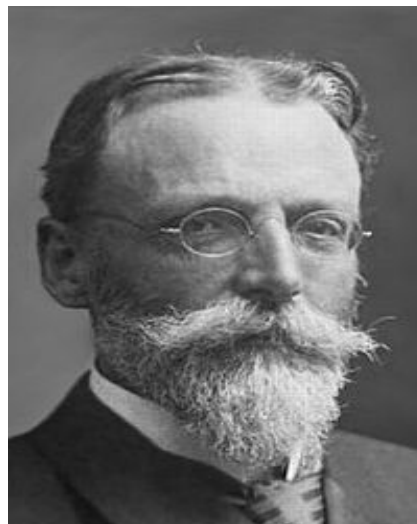


Figure N° 1: Dr. Théodore Escherich, 43 ans en 1900

En 1884, Mr Théodore Escherich (fig.1), Pédiatre et bactériologiste allemand-autrichien, le premier à isoler des bactéries commensales de selles d'enfants, dont « *Bacterium coli commune* » et « *Bacterium lactis aerogenes* » connues aujourd'hui sous les noms *Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes* [8] , a mentionné qu'après les méthodes de recherche de Koch, il y aura temps des méthodes pour examiner et démêler l'apparence des bactéries dans des conditions normales dans les selles et le tractus intestinal [9], le travail d'Escherich sur la relation entre flore intestinale et physiopathologie digestive est généralement considéré comme marquant la naissance de l'étude du microbiote humain.

Il a cependant fallu attendre 1931 pour que les chercheurs se rendent compte que le tractus intestinal était en fait colonisé par un ensemble de micro-organismes dont la majorité était

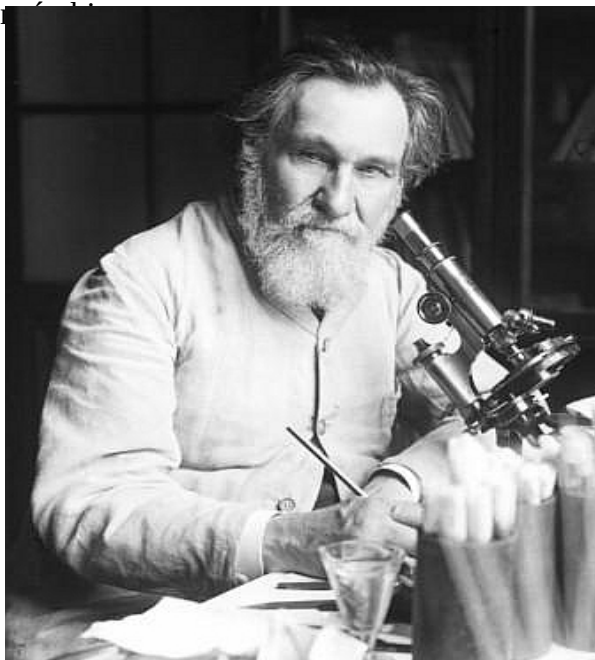


Figure N° 2: Pr. Elie Metchnikoff en 1913

En 1908 l'inventeur du « yaourt » Elie Metchnikoff un zoologiste et bactériologiste sujet de l'Empire russe (fig.2) à qui on doit la découverte de la phagocytose, a publié un livre très important « La prolongation de la vie ». Dans ce livre, il développe une théorie selon laquelle le vieillissement est causé par la prolifération progressive et incontrôlée de bactéries toxiques dans l'intestin et que les bactéries lactiques (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) pourraient antagoniser ce processus de "putréfaction intérieure" et prolonger la vie. Cette théorie était basée sur l'observation que la consommation importante de produits lactés

fermentés en Bulgarie était corrélée à une prévalence importante d'individus centenaires, Cette théorie inspira le microbiologiste japonais Minoru Shirota d'étudier la relation causale entre bactéries et bonne santé de l'intestin [10].

En 1920, une épidémie d'hémorragies a été observée chez des troupeaux de bétail aux États-Unis et au Canada, ayant consommé une plante « trèfle doux » et fut dès lors appelée la maladie obscure du mélilot gâté. Et c'est dans les années 1930 qu'un biochimiste Danois, Carl Peter Hendrik Dam, qui étudiait la synthèse du cholestérol chez le poulet, a soumis ce volatile à un régime rigoureusement privé de lipides. Au cours de cette expérience il constatât l'apparition de la maladie hémorragique sous-cutanée même après ajout de cholestérol dans leur alimentation. Il conclut qu'en plus du cholestérol, une autre substance à effet coagulant, a été retirée des aliments. Cette substance fut alors isolée en 1935 et on la nomma Koagulation vitamin, ou plus simplement vitamine K. Des études furent entreprises sur cette substance, et ont montré qu'environ 60% de la vitamine K précisément la ménaquinone (vitamine K2), est synthétisée par les bactéries coliques [11] et couvre la majorité de nos besoins en vitamine K [12].

B. Les premières recherches par les méthodes traditionnelles :

Alors, la recherche sur le microbiote digestif n'a été initiée qu'à la fin du 19^{ème} siècle, (fig.3)

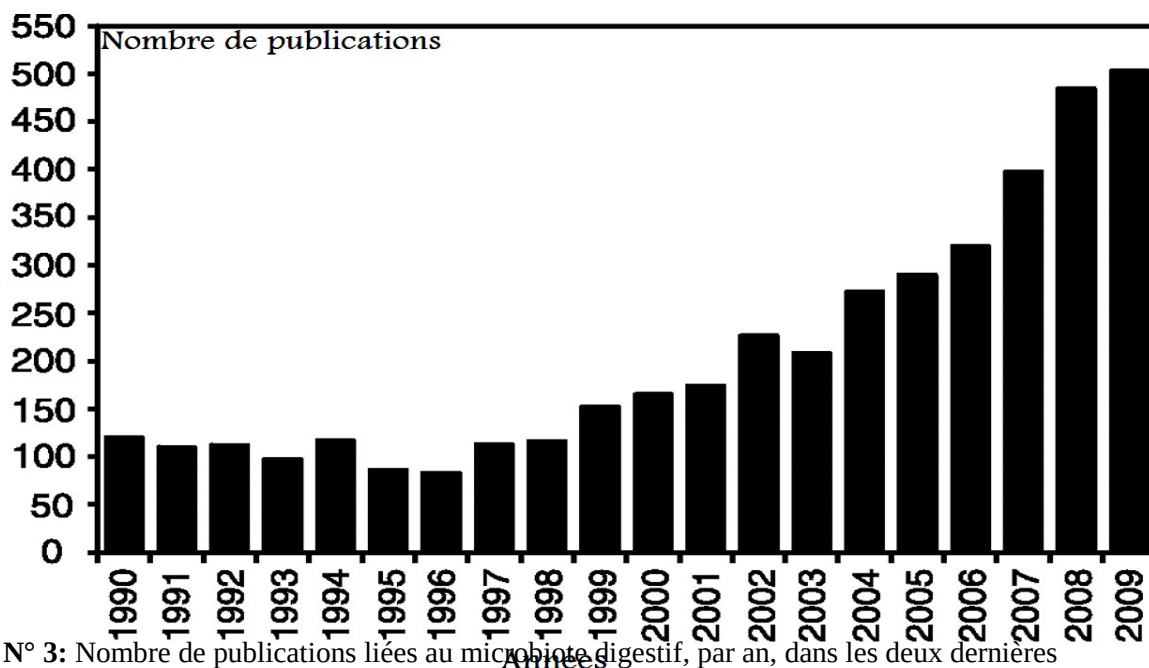


Figure N° 3: Nombre de publications liées au microbiote digestif, par an, dans les deux dernières décennies.

C'est vers le début des années 1960 que l'intérêt a grandi [13]. Les premières estimations de la composition du microbiote intestinal ont été tirées des techniques traditionnelles de bactériologie telles que la culture, la microscopie et l'étude de la fermentation des sucres des bactéries isolées de selles humains [14-16]. L'intérêt de la composition de cette flore était alors l'identification d'agents pathogènes responsables de diarrhées infectieuses (*Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli enterotoxinogène*...). Rapidement, il est apparu que le microbiote intestinal possédait d'autres rôles tels que la protection des cellules épithéliales intestinales [17], la régulation du stockage des graisses [18], mais aussi une interaction avec le système immunitaire et donc potentiellement responsable de pathologie humaine. Cette prise de conscience a été le point de départ de très nombreuses études durant ces 10 dernières années. L'avènement des techniques moléculaires a permis de faciliter mais aussi de compléter la composition de cette flore, en effet une proportion estimée à environ 80% de germes intestinaux étant non cultivables [4].

C. L'apparition des méthodes moléculaires :

Un des principaux moteurs ayant permis une meilleure compréhension du microbiote intestinal a été le développement d'outils moléculaires indépendants des techniques de culture. En effet, il a été montré qu'une grande partie du microbiote intestinal échappe aux techniques de culture actuelles, en grande partie parce qu'il est majoritairement composé de bactéries anaérobies strictes, voire de bactéries extrêmement sensibles à l'oxygène [4].

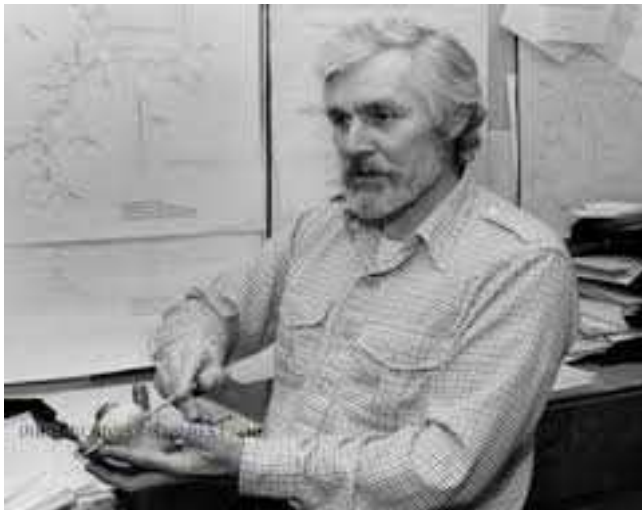


Figure N° 4 : Pr. Carl Richard Woese

Près de 10 ans après les travaux de Zuckerland (1965), premier à avoir considéré les molécules comme marqueurs de l'histoire évolutive, Woese (fig.4) et ses collaborateurs appliquèrent cette théorie à l'étude de la phylogénie bactérienne en utilisant comme marqueurs de l'évolution les ARN ribosomiques (ARNr), et notamment l'ARNr 16S (pour les Procaryotes) et l'ARNr 18S (pour les Eucaryotes). Ces travaux ont conduit à une division du monde du vivant en trois domaines : Eucarya, Bacteria et Archea [19], et ont révélé que la petite sous unité ribosomal contenait des régions de séquences nucléotidiques qui sont hautement conservées et qu'elles sont entrecoupées de régions hypervariables [20], Ces régions contiennent la signature du groupe et de l'espèce phylogénétique. Grâce au développement de ces techniques, mais aussi à la prise de conscience que la santé humaine dépendait de la flore que se trouve à l'extérieur et à l'intérieur du corps humain, l'étude de la microbiologie intestinale a connu une renaissance dans la dernière décade.

Les premières études moléculaires ont combiné la PCR (Polymerase Chain Reaction) et une méthode d'électrophorèse en gel couplé avec un gradient dénaturant (DGGE), ce qui a permis de comparer les microbiotes intestinaux [21]. Puis, une technique d'hybridation (FISH) a permis de détecter environ 32 espèces différentes de bactéries intestinales [22]. Une autre approche a été d'observer directement les produits biochimiques du métabolisme microbien par spectrométrie de masse [23]. Cette méthode n'est utilisée qu'en complément de techniques traditionnelles de séquençages.

D. De la phylogénétique à la métagénomique :

Il s'est avéré que l'étude phylogénétique ne répondrait pas à toutes les questions, mais, avec l'avènement des approches de transcriptomique, protéomique, métabolomique permettant d'explorer le microbiote de son potentiel génique à son impact métabolique chez l'hôte. Plusieurs projets internationaux de grande envergure ont été mis en œuvre pour combler ces lacunes dans nos connaissances. On peut citer le projet MetaHIT (Metagenomics of the Human Intestinal Tract consortium) [24,25], de la Communauté européenne, coordonné par l'Institut national de la recherche agronomique (INRA) en 2005, 3 millions de gènes, soit

100 à 150 fois plus que le nombre de gènes dans le génome humain, ont été identifiés [26]. Le projet Human Microbiome Project (HMP) du National Institute of Health (NIH) aux États-Unis lancé en 2007 dont l'objectif est de déchiffrer la séquence génomique de tous les micro-organismes vivant habituellement dans notre corps et à sa surface [27], les projets franco-chinois Microobese/MetaGut [28] dont l'objectif est de chercher à mieux cerner les relations entre ce métagénome et des caractéristiques physiologiques, aussi Canada a été bien placé dans la recherche scientifique pour profiter de ces initiatives et de lancer en 2007 la Canadian Microbiome Initiative (CMI) [29]. La coordination globale de ces projets et d'autres de portée plus limitée est assurée au sein du Consortium international du Microbiome humain (CIMH) [30].

À l'heure actuelle, les pays participants (fig.5) ont engagé 250 millions de dollars américains dans le CIMH; les États-Unis ont investis 115 millions de dollars.



Figure N° 5 : la prolifération du projet Microbiome Humain à l'échelle internationale [29]

Les pays qui participent actuellement au CIMH sont les suivants :

- Australie : Common wealth scientific and industrial Research organization
- Canada : Instituts de recherche en santé du Canada
- Chine : Microbiome et infections de l'intestin humain
- Chine : Ministère de la science et de la technologie
- Europe : Commission européenne
- France : Agence nationale de la recherche (INRA)
- Irlande : the DAFF/HRB elderly gut metagenomics project ELDERMET
- Japon : Consortium japonais du métagénome humain
- Corée du Sud: Ministère de la santé, du bien être et des affaires familiales
- États-Unis : Instituts nationaux de la santé (NIH)



PHYSIOLOGIE DU TUBE DIGESTIF

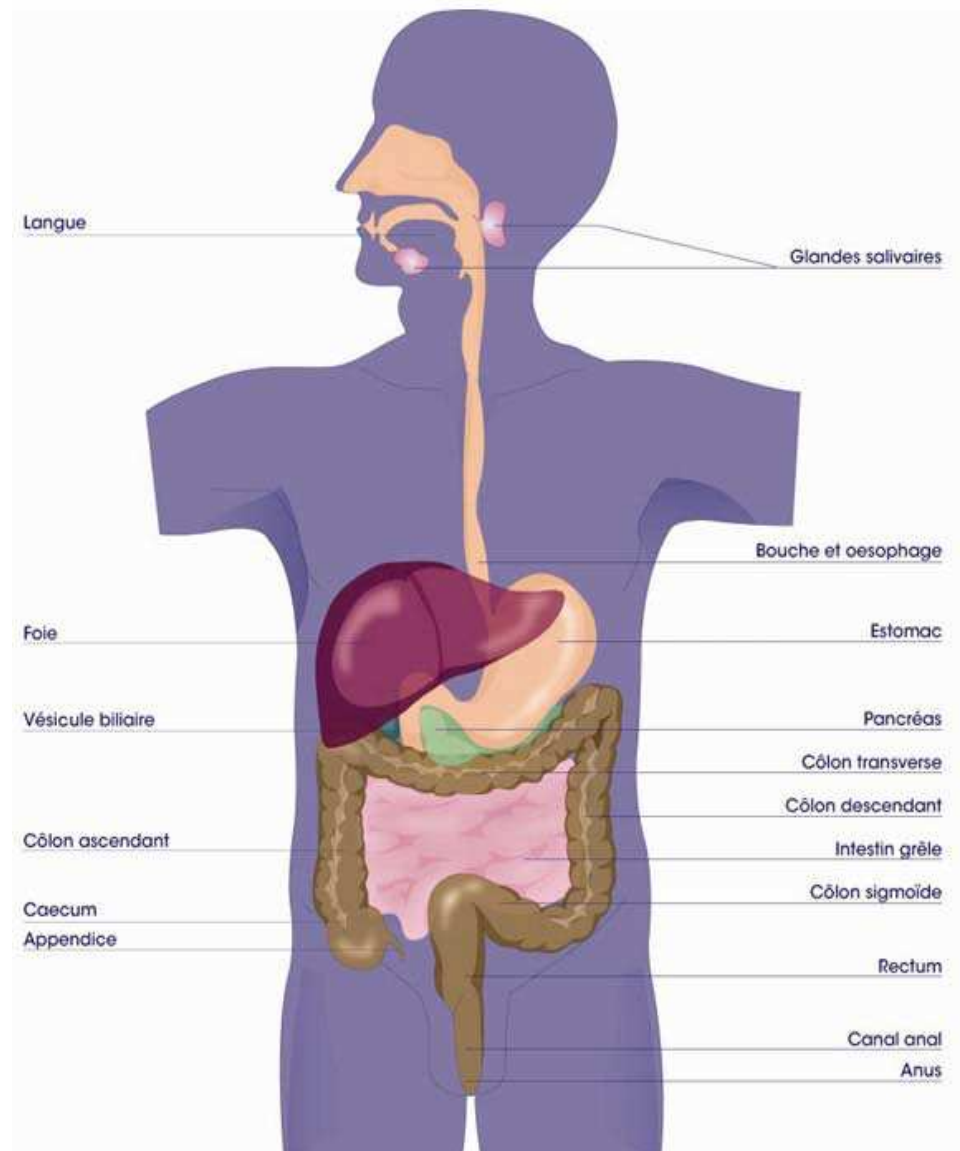


Figure N° 6 : Organisation générale du système digestif humain

Le système digestif démarre au niveau de la cavité buccale et s'étend jusqu'à l'anus [30]. Il inclut le tractus gastro-intestinal ainsi que les organes accessoires de la digestion, notamment les glandes salivaires, le foie, la vésicule biliaire et le pancréas exocrine [31]. Le tractus gastro-intestinal permet l'acheminement des aliments mais aussi la digestion chimique et enzymatique de ces derniers depuis leur ingestion au niveau de la bouche jusqu'à leur excrétion au niveau du rectum (fig.6). Il est d'une longueur moyenne de 4,5 m chez l'homme, est composé de la bouche, du pharynx, de l'œsophage, de l'estomac, de l'intestin grêle, lui-

même comportant le duodénum, le jéjunum et l'iléon et est terminé par le gros intestin (successivement caecum et appendice, côlon ascendant, côlon transverse, côlon descendant, côlon sigmoïde et rectum) et de l'anús.

L'appareil digestif permet le transfert vers le milieu intérieur des nutriments (glucides, protéines, lipides, minéraux et vitamines), aussi de l'eau et des électrolytes. Il joue un rôle de protection de l'organisme en prévenant le passage des bactéries et d'autres substances indésirables provenant de la lumière intestinale, et exerce enfin un rôle de surveillance immunitaire via l'association avec les tissus lymphoïdes. Les fonctions du tractus gastro-intestinal sont régulées par des hormones du système nerveux autonome [32].

A. L'œsophage

L'œsophage est un tube droit, de 25 cm de longueur, qui se trouve derrière la trachée, et fonctionne comme un simple conduit vecteur et propulseur du bol alimentaire du pharynx à l'estomac. La progression du bol alimentaire se fait sous l'effet de la pesanteur pour les liquides, et par le jeu du péristaltisme des fibres lisses pour les solides. Les glandes muqueuses et sous-muqueuses sécrètent le mucus qui protège la surface de l'œsophage et aide en lubrifiant la nourriture, le sphincter œsophagien supérieur et le sphincter pharyngo œsophageal se composent du muscle strié circulaire, qui empêchent l'air d'entrer dans l'œsophage et l'estomac pendant la respiration, le sphincter œsophagien inférieur et le sphincter gastro œsophageal se trouvent juste au-dessus du secteur où l'œsophage joint l'estomac, le muscle circulaire dans ce secteur reste normalement contracté, créant une zone de haute pression qui sert à empêcher le reflux du contenu gastrique dans l'œsophage [33].

B. L'estomac

Sac en forme de J, qui se trouve dans le quadrant supérieur gauche de l'abdomen, fait suite à l'œsophage au niveau du cardia ainsi nommé en raison de sa proximité du cœur, et se termine au niveau du pylore, sous forme d'entonnoir qui se connecte avec l'intestin grêle, la couche de muscle lisse circulaire s'épaissit pour former le sphincter pylorique. Ce muscle sert de valve qui commande le débit de vidange de l'estomac et empêche la régurgitation du

contenu de l'intestin de nouveau dans l'estomac, ainsi il possède deux zones fonctionnelles : - fundus et corps : zone de réception et stockage temporaire des aliments, qui sont alors mélangés avec l'eau et le suc gastrique afin de produire le chyme ; - l'antrum : zone de brassage « moulinage » et évacuation du chyme [33].

La muqueuse gastrique est couverte de mucus produit par les cellules de l'épithélium de surface et par les cellules à mucus, le mucus est une barrière de protection contre les agressions susceptibles de léser la muqueuse:

- Il protège contre les agressions mécaniques par son effet lubrifiant.
- Il protège contre l'autodigestion de l'estomac par la pepsine.
- Étant alcalin, il protège contre l'attaque acide en neutralisant l'HCL [31].

C. L'intestin grêle

L'intestin grêle forme la portion centrale du tube digestif, qui unit l'estomac au gros intestin, Il est constitué du duodénum, du jéjunum et de l'iléon, Cette partie pelotonnée du tractus gastro-intestinal mesure environ 7 mètres de longueur, et présente un diamètre d'environ 5 centimètres. Le duodénum débute au niveau de la valve pylorique et rejoint le jéjunum au niveau du ligament de treitz [33]. C'est au niveau du duodénum où les enzymes situés dans la paroi apicale des cellules épithéliales agissent. Le jéjunum correspond à la deuxième partie de l'IG, caractérisée par une longueur de 2,5 mètres, et de nombreux replis qui en augmentent énormément la surface, permettant une absorption maximale des nutriments digérés. La troisième partie de l'IG correspond à l'iléon de 2 à 4 mètres de longueur, dont la terminaison débouche dans le cæcum, cette jonction iléo-caecale joue le rôle d'une barrière à sens unique entre l'IG et le gros intestin empêchant la contamination de l'iléon par le contenu caecal [31].

Les nutriments mécaniquement broyés (le chyme) quittent l'estomac et arrivent à l'IG, leur digestion est achevée dans la lumière intestinale sous l'action de la bile et des enzymes pancréatiques. La totalité des produits de la digestion des glucides, des lipides et des protéines ainsi que des électrolytes, des minéraux, des vitamines et de l'eau sont absorbés par cette

partie du tractus gastro-intestinal [31] dont la surface apicale des cellules épithéliales est hérissée de villosités et de microvillosités filiformes, recouvertes par le glycocalyx [34], permettant d'accroître énormément la surface disponible pour l'hébergement des enzymes digestifs de la membrane et de l'absorption active ou passive [31].

D. Le gros intestin

Aussi appelé le côlon fait suite à l'IG. Il s'agit de la partie la plus distale du tractus gastro-intestinal. Il est constitué de plusieurs parties : le cæcum (structure en forme de pochette) auquel est rattaché l'appendice, du côlon, du rectum et se termine par le canal anal. Le gros intestin présente une longueur comprise généralement entre 1,20 et 1,50 mètre, et décrit un trajet en cadre dans l'abdomen. La valvule iléo-caecale permet la transition entre l'iléon et le caecum, elle assure la liaison entre l'intestin grêle et le gros intestin et empêche le contenu colique de refluer dans l'iléon [34].

Le côlon peut être divisé en 4 segments : le côlon ascendant, transverse, descendant puis la partie sigmoïde. Le côlon a pour fonction principale l'absorption d'eau, de sodium et autres minéraux. Il réabsorbe 90% des 1000-2000 ml de chyme isotonique [34]. Une étude par FISH de l'ensemble de l'intestin rempli de selles montre que le bioréacteur colique peut, d'un point de vue fonctionnel, être séparé en trois compartiments [35].

- ❖ Une couche de mucus séparatrice hautement visqueuse, qui sépare complètement le conduit d'épandage colique et la muqueuse et qui ne contient pas de bactéries ;
- ❖ Un compartiment central de fermentation, dans lequel bactéries et fibres sont brassées et biodégradées ;
- ❖ Un compartiment où sont piégées les bactéries, ou zone de réserve germinale, qui se situe entre la couche de mucus séparatrice et le compartiment central de fermentation.

E. La paroi intestinale

Comme le tube digestif est ininterrompu de la bouche à l'anus, sa lumière est en continuité avec l'environnement extérieur. La paroi du tube digestif comporte quatre couches, la couche la plus interne, depuis la lumière intestinale, est la muqueuse, comprenant l'épithélium, la lamina propria ainsi que la musculeuse-muqueuse. Les couches suivantes sont la sous-muqueuse, la musculeuse et enfin, la couche la plus externe, la séreuse ou adventice selon les régions du tractus gastro-intestinal (fig.7) [36].

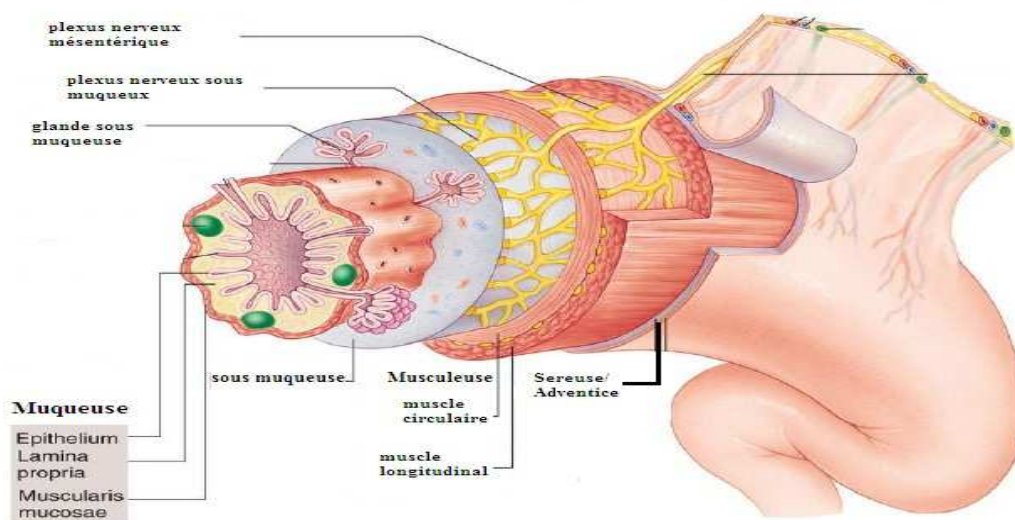


Figure N° 7 : la paroi du tractus gastro-intestinal

**COMPOSITION DU MICROBIOTE
INTESTINAL :
EUBIOSE_ NORMOBIOSE**

A. Notion de Microbiote humain

Le corps humain n'est pas seulement constitué de cellules humaines, il abrite l'autre et l'autre participe à son être biologique. Les êtres vivants les plus directement et intimement associés à l'homme sont des microorganismes formant le microbiote humain. Le microbiote (du grec mikros: petit et bios: vie) désigne les espèces microscopiques qui prédominent et/ou sont durablement adaptées à la surface et à l'intérieur d'un organisme vivant. Le Microbiote dérive de l'anglais microbiota et remplace aujourd'hui les termes désuets de flore microbienne ou de microflore [37].

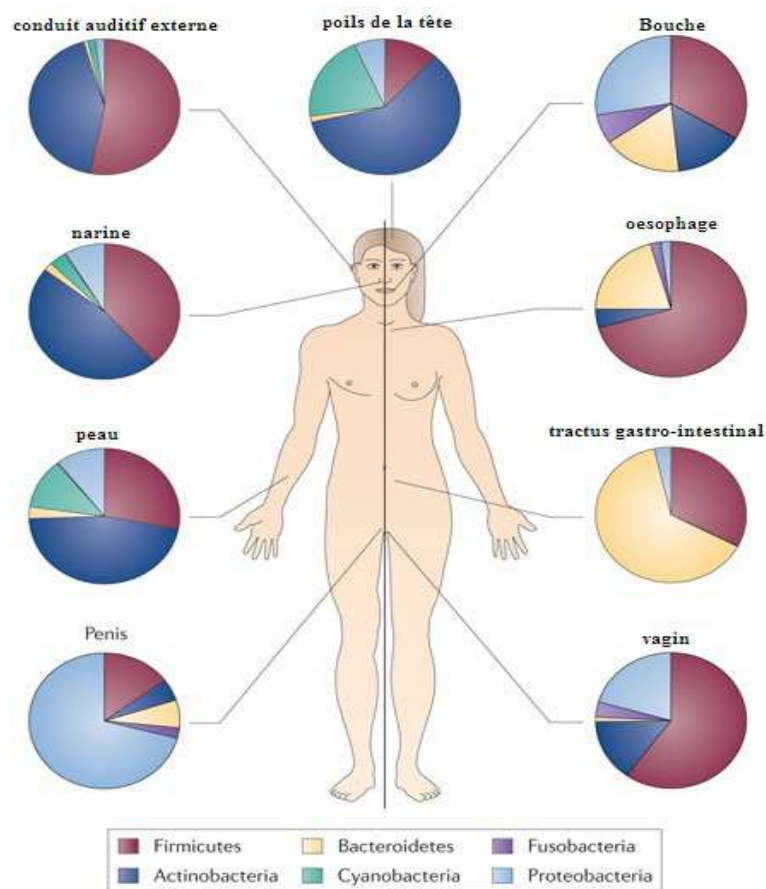


Figure N° 8 : Composition des communautés microbiennes associées au corps humain d'après Spor [38]

Ce microbiote constitue une biomasse très importante, comprenant notamment des centaines d'espèces bactériennes différentes, mais incluant aussi des archées, des virus, des champignons ainsi que des protozoaires. Ces microorganismes colonisent les muqueuses (intestinale, buccale, vaginale) et la peau (fig.8) même si la majorité d'entre eux résident au niveau du tractus gastro-intestinal [39]. Chacun des sites corporels correspond à une niche écologique spécialisée et caractérisée par ses propres phylums microbiens, des dynamiques communautaires différentes et des interactions étroites avec les tissus. Le plus étudié des microbiotes humains est le microbiote intestinal. Il est extrêmement divers (biodiversité taxonomique, génétique et fonctionnelle).

Le tube digestif héberge à l'état naturel de nombreux micro-organismes constituant le microbiote intestinal, qui peut être considéré comme un organe à part entière indispensable à la vie [40] ayant co-évolué avec les humains pour parvenir à une relation symbiotique menant à l'homéostasie physiologique [41]. Il est constitué d'un ensemble important de bactéries réparties le long du tractus intestinal dont la composition globale est variable selon la localisation, les individus, l'âge, les périodes de vie d'un même individu [42,43]...

Cet écosystème est considéré comme équilibré quand l'hôte est sain, on parle d'eubiose (Normobiose), en revanche, la dysbiose, désigne l'état dans les situations pathologiques [44].

B. Installation et développement normal du microbiote intestinal

Le microbiote GI humain est un organe primordial pour la santé. Il est caractérisé par une richesse microbienne, tant par la biodiversité des espèces dominantes qui le composent que par la complexité de leurs interactions, et dont la mise en place débute à la naissance, et évolue tout au long de son développement (fig.9), alors il est important de comprendre comment l'organisme humain est colonisé.

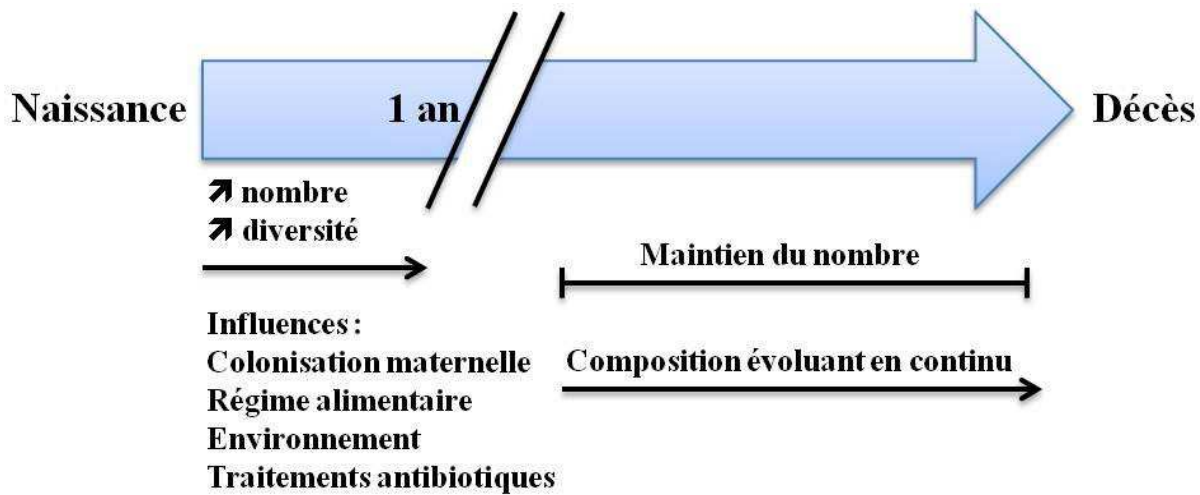


Figure N°9 : Aspects temporaux de l'établissement et du développement du microbiote chez le nouveau-né. D'après Sekirov [45]

Au cours de la grossesse, le fœtus se trouve dans un environnement traditionnellement considéré comme stérile et, à la naissance, le tube digestif du nouveau-né constitue un milieu non contaminé [46]. La primo-colonisation microbienne commence dès les premiers moments de vie extra-utérine durant le processus de la naissance et, quelques heures après, les bactéries commencent à apparaître dans les selles [47]. Cependant, des études récentes apportent des éléments plus probants sur le fait que la colonisation peut débuter in utéro, des analyses en culture ont détecté des microorganismes dans le liquide amniotique, les membranes fœtales, le cordon ombilical et le placenta, même dans les cas où les membranes ne sont pas rompues, et dans les cas de césarienne. En conséquence, les enfants intègrent un microbiome initial avant la naissance et reçoivent ensuite une nouvelle colonisation bénéfique et abondante de microbes maternels par la voie de naissance ainsi que l'allaitement [48].

En revanche, la méthode employée de l'accouchement influe sur les bactéries primo-colonisatrices (fig.10). La population bactérienne évolue jusqu'à l'âge de 2 ans et se diversifie au fur et à mesure afin d'atteindre une composition proche de celle de l'adulte [49].

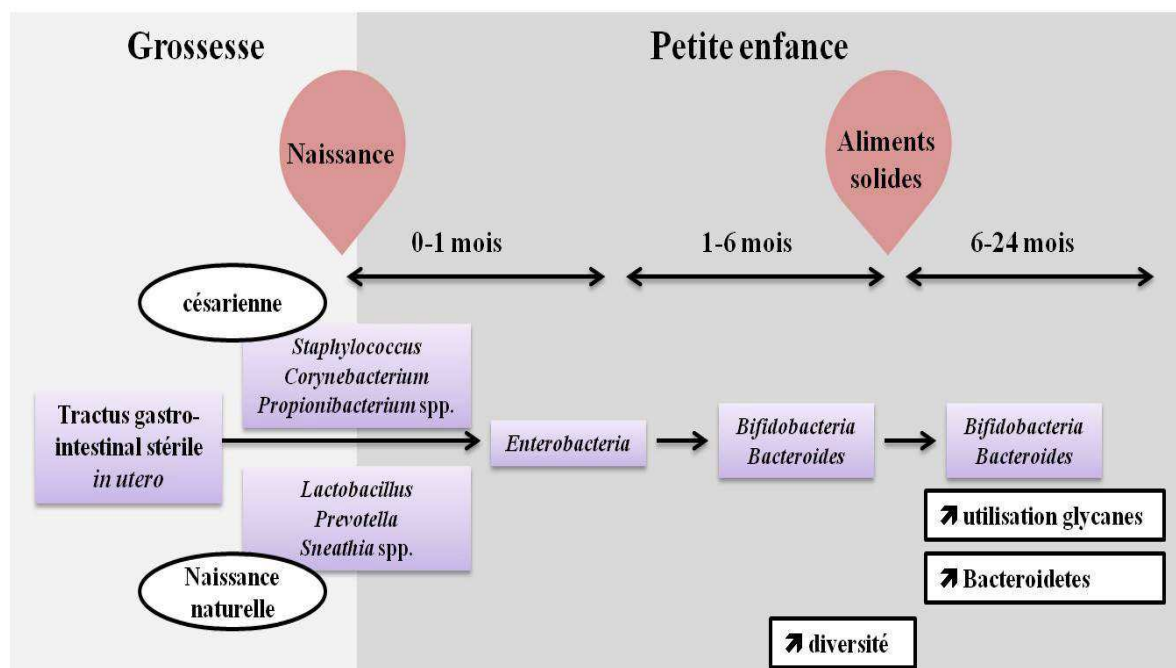


Figure N°10: Évolution du microbiote du tractus gastro-intestinal de la naissance jusqu'à l'âge de 2ans [49]

Le tractus intestinal (TI) du fœtus constitue un environnement particulièrement permissif en l'absence des mécanismes immunitaires sophistiqués de l'adulte : une succession d'espèces prend alors possession de l'intestin. 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. Lors d'une naissance par voie naturelle le profil de colonisation bactérienne intestinale du nouveau-né est assez stéréotypé, et peut être divisé en 4 phases durant la première année chez l'enfant allaité [50]. Au-delà, le profil bactérien du microbiote intestinal se rapproche de celui de l'adulte avec 10^{10-11} Unités formant colonies (UFC) par gramme de contenu colique.

a. Première Phase

Peu de temps après la naissance, des microorganismes « pionniers » colonisent le côlon, cette colonisation débute dès la rupture des membranes à partir de la flore maternelle (voies génitales, intestinale et cutanée).

L'environnement intestinal des nouveau-nés montre un potentiel oxydatif supérieur au pouvoir réducteur, le TI est colonisé en premier par une flore aérobie-anaérobie facultative composée de streptocoques et des entérobactéries (principalement *Escherichia coli*) qui s'installent dans les 24 à 48 heures suivant la naissance. Ensuite des bactéries transitoires appartenant aux genres *Staphylococcus* et *Enterococcus* peuvent prendre leur place [51,52]. Ces microorganismes qui colonisent le TI contribuent activement à son évolution physicochimique créant un environnement anoxique en épuisant l'oxygène [47], ce qui favorise l'établissement subséquent des genres anaérobies stricts, tels que *Bifidobacterium*, *Clostridium* et *Bacteroides* [53,54].

Après 48 heures, le nombre de germes est déjà de l'ordre de 10^4 à 10^6 UFC/ml de contenu intestinal. La flore vaginale et surtout fécale de la mère est le déterminant essentiel de la nature des germes rencontrés [55]. Cette première phase est indépendante du type d'alimentation de l'enfant, mais certains éléments, comme une antibiothérapie maternelle, peuvent l'influencer.

b. Deuxième Phase

La colonisation bactérienne du tractus du nouveau-né se poursuit lors de son alimentation avec le lait maternel [56], et évolue ensuite avec l'introduction d'une alimentation solide [49], la concentration des germes anaérobies stricts (bifidobactéries et lactobacilles) augmente jusqu'à avoisiner 10^9 UFC/ml au dixième jour, par ailleurs, le profil de colonisation se diversifie avec augmentation en nombre d'*Escherichia coli*, *Bacteroides spp*, et pour une moindre part de *Clostridae*. Le groupe des staphylocoques diminue parallèlement. Cette deuxième phase est clairement influencée par l'alimentation [57].

c. Troisième Phase

Le nourrisson est ensuite continuellement exposé à de nouvelles bactéries provenant de l'environnement, de la nourriture et des bactéries cutanées de l'adulte. Il a longtemps été admis que l'alimentation joue un rôle particulièrement crucial dans la composition du microbiote intestinal surtout au cours des premiers mois de la vie [58]. Vers l'âge d'un mois, le microbiote intestinal présente une majorité de bifidobactéries chez tous les enfants, ainsi que la présence d'*E.coli* et *B.fargilis*, la présence de lactobacilles et de *C.difficile* est moins constante [52]. Vers l'âge de 4 à 6 mois, la composition du microbiote intestinal subit généralement une autre modification, avec l'ajout d'aliments autres que le lait et de glucides complexes dans l'alimentation du bébé.

Les variations inter et intra-individuelles semblent être importantes au cours de la première année de vie, Palmer a montré dans une étude moléculaire réalisée sur 14 nouveau-nés que dès la fin de la première année de vie, le microbiote de chaque bébé, bien que toujours distinct, converge vers le profil caractéristique du microbiote des adultes à savoir majoritairement composé de Bacteroides et de Firmicutes [59]. Cette même étude montre que la colonisation du microbiote des bébés par des micro-organismes issus du lait maternel ou des sécrétions vaginales de la mère ne se fait que de manière occasionnelle et ponctuelle durant les premiers mois de vie. Ceci souligne le caractère opportuniste de cette colonisation qui ne serait possible que grâce au caractère permissif du tractus digestif des nouveau-nés.

d. Quatrième Phase

Pendant le sevrage, la fonction intestinale et la capacité de fermentation continuent de se développer. À la fin de la deuxième année, la composition du microbiote intestinal se rapproche de celle de l'adulte [52,60], cette quatrième phase est marquée par la très grande augmentation de la flore anaérobie stricte dans la partie distale du côlon.

Des différences peuvent persister entre enfant et adulte. Si la flore intestinale d'enfants provenant de régions éloignées montre des différences, cela tient probablement aux habitudes alimentaires et à l'hygiène. Les différences observées entre les enfants normaux et allergiques, constantes quelle que soit la région, sont en revanche plus intrigantes [61]. Cela

suggère que la flore anaérobie stricte, surtout composée de bifidobactéries et de lactobacilles, et majoritaire chez les enfants non allergiques, soit la mieux à contrôler la réponse immunitaire innée du chorion sous-muqueux, étape fondamentale de l'initiation ultérieure de l'immunité adaptative.

En résumé, la première année de vie se caractériserait par une variabilité très importante du microbiote, non seulement d'un individu à un autre mais aussi au cours du temps chez le même individu. Puis, après cette période de « chaos » il y aura une certaine stabilisation du microbiote [59]. Il a notamment été montré, via la mesure de la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC) chez 30 bébés, que le microbiote est stable dès l'âge de deux ans [62].

C. Composition du microbiote digestif

Le microbiote gastro-intestinal a été le plus amplement étudié, peut-être parce que ce tractus représente la plus grande surface d'échange de notre corps équivalent à celle de 2 terrains (400m²) de tennis, et qu'il est aussi le plus colonisé, avec à lui seul une population de 10¹⁴ bactéries issues de plusieurs centaines d'espèces différentes.

Dans le microbiote digestif, on peut distinguer une flore endogène résidente ou autochtone et une flore exogène de transit ou allochtone :

La flore autochtone est composée de populations bactériennes qui sont présentes de façon permanente dans le tractus intestinal de chaque individu. Ces espèces ont colonisé un site spécifique et sont capables de s'y multiplier sans entraîner de manifestations pathologiques chez l'hôte : ces souches présentant un tropisme cellulaire et tissulaire spécifique sont isolées de façon répétée dans la flore sur une longue période de temps et sont caractéristiques d'un individu [63]. D'ailleurs des chercheurs de l'École de santé publique d'Harvard ont pu affirmer avoir réussi à identifier des individus uniquement en analysant des échantillons de leurs excréments avec une précision proche des tests ADN ou des empreintes digitales, certes on parle de carte d'identité bactérienne [64].

Cette flore est composée de bactéries prédominantes (> 10⁹UFC/g) et bactéries sous-dominante (entre 10⁶ et 10⁹ UFC/g) [65].

La flore allochtone possède un pouvoir d'implantation transitoire, ces espèces proviennent de l'alimentation et appartiennent à différents genres bactériens, qui ne sont retrouvées que dans un laps de temps court dans le tube digestif. Parmi ces espèces en transit, figurent les probiotiques qui, pour la plupart, ne colonisent pas le tractus digestif mais survivent au cours du transit [65]. Cette flore est non pathogène car elle est régulièrement contrôlée par la flore endogène [66].

a. Spécificité anatomique du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal de l'Homme se compose d'un consortium bactérien qui s'adapte à l'hôte, il est composé de 9 divisions bactériennes, soit environ deux fois moins que le nombre de divisions observées dans les sols [67]. Chaque individu semble unique en termes de diversité d'espèces bactériennes bien qu'il existe des signatures pour un hôte donné.

Dans le tractus intestinal humain, la distribution spatiale du microbiote s'étend selon deux axes, l'un longitudinale (de la cavité orale jusqu'au rectum) et l'autre radiale (de la lumière intestinale jusqu'à la couche du mucus en contact avec les cellules épithéliales). En fonction des niveaux de l'intestin et des conditions physicochimiques différentes, un microbiote différent est retrouvé, correspondant à des habitats différents ou niches écologiques spécifiques (fig.11).

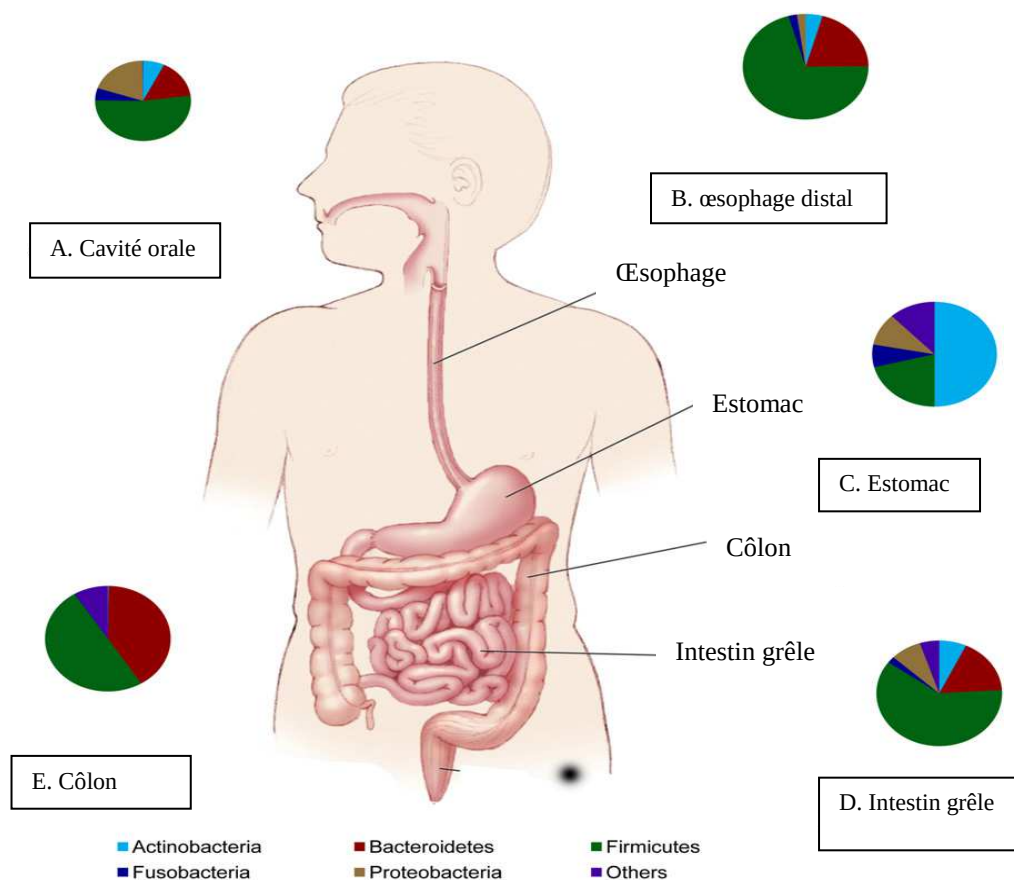


Figure N° 11 : Composition des communautés microbiennes dans le tractus gastro-intestinal humain [68]

1. Axe longitudinale

La cavité orale contient des membres des phylums : *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* et *Fusobacteria*, qui représentent 99% de tous les phylums présents. Les rares phylums appartiennent à SR1, TM7, cyanobactéries, spirochètes, *Tenericutes* et *Synergistetes* [69].

L'œsophage contient un microbiote principalement transitoire, mais une étude de pyroséquençage des échantillons de biopsie a révélé l'existence d'un microbiote résident dans sa partie distale avec une majorité de bactéries appartenant aux phylum *Firmicutes* (*Streptococcus* et *Veillonella*) [70], cette étude a montrée que la communauté microbienne de

l'œsophage était similaire à celle de la cavité orale cependant la majorité des organismes résidents de l'œsophage peut être cultivée, contrairement à la communauté microbienne de la cavité orale.

La densité de bactéries présentes dans la lumière du tractus gastro-intestinal s'accroît au fur et à mesure que l'on progresse de la partie la plus proximale, l'estomac, vers l'extrémité la plus distale, le côlon (fig.12) [71].

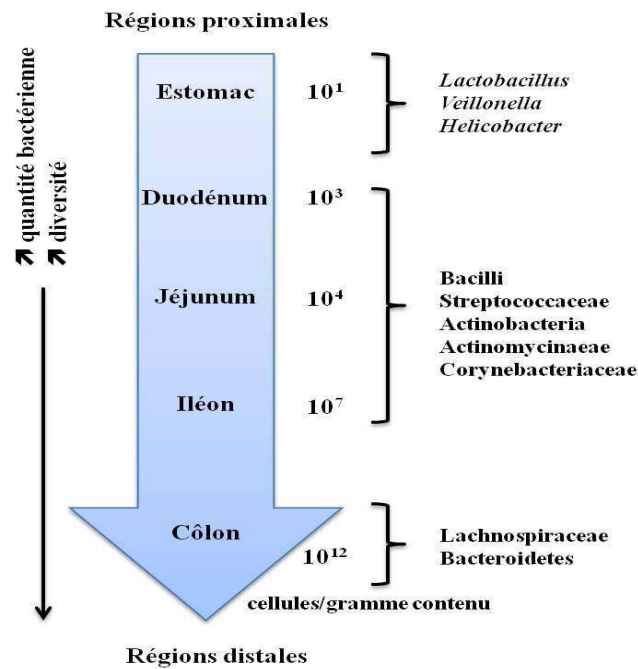


Figure N° 12 : variations qualitatives et quantitatives du microbiote intestinal le long du tractus gastro-intestinal [45]

L'estomac héberge très peu de bactéries endogènes dont la densité bactérienne est de 10 cellules/g. cette densité reste relativement faible car la plupart des micro-organismes ingérés au cours des repas ne résistent pas à l'effet délétère du pH extrêmement acide (pH=2) régnant au sein de l'estomac [68], une analyse des séquences d'ARNr 16S de 23 biopsies gastriques endoscopiques a révélée la présence de 128 phylotypes bactériens différents [72]. Environ 70% des phylotypes étaient constitués de séquences retrouvées dans la cavité orale, notamment des membres des phylums : *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* et *Fusobacteria*. Des séquences correspondant à des phylotypes s'affilient au phylum *Deinococcobacteria*, jusqu'alors uniquement connu pour coloniser des

environnements extrêmes, ont également été retrouvées. En outre, le pathogène *Helicobacter Pylori* (*H.pylori*) résistant à l'acidité gastrique, et capable de se loger dans la couche de mucus a été retrouvé chez 19 des 23 sujets. Un autre élément intéressant caractéristique de cette étude est que la composition bactérienne de la communauté n'a été apparemment pas altérée par la présence de *H.pylori* [68].

Après le passage de l'estomac à pH acide, le pH redevient neutre au niveau de l'intestin grêle (pH variant de 6,5 à 7,5), l'oxygène se raréfie et le microbiote qui a survécu au passage gastrique va augmenter progressivement du duodénum à l'iléon, le duodénum possède 10^{3-4} cellules/g de contenu. Cependant, ce compartiment représente un environnement transitoire pour les bactéries, à cause tout d'abord du péristaltisme intestinal, qui est particulièrement important à ce niveau puis diminue tout au long de l'intestin grêle, mais aussi des bactériocines sécrétées par les cellules de Paneth [73], le suc pancréatique et les acides biliaires qui possèdent un fort pouvoir bactéricide [74], de plus la sécrétion d'immunoglobulines de type (IgA) qui limitent la pénétration des bactéries dans le mucus. Ceux-ci semblent empêcher le maintien des bactéries en grand nombre. Le jéjunum contenant 10^{4-7} cellules/g de contenu [75], puis l'iléon 10^{6-8} cellules/g de contenu.

Les approches par méthodes culturales ont mis en évidence de l'ordre de 400 à 500 espèces microbiennes et n'ont donné qu'une vision restreinte de la diversité du microbiote intestinal humain. Ces dernières années, l'application des techniques moléculaires à l'analyse du microbiote intestinal, a modifié ces données. Trois études majeures utilisant un séquençage et une analyse de masse du gène codant pour l'ARNr 16S et, réalisées à partir de biopsies prélevées au niveau de l'intestin grêle ou à partir de selles, ont permis l'analyse de la diversité du microbiote intestinal humain [76]. L'analyse de l'ensemble des séquences bactériennes d'ARNr 16S, issues de ces trois études, à savoir plus de 45000, a permis de montrer que le microbiote intestinal humain était constitué d'au moins 1800 genres bactériens et d'environ 15000 espèces. Bien que le microbiote intestinal soit spécifique de chaque individu, il apparaît, d'après ces études que 98% des phylotypes appartiennent à seulement quatre phylums bactériens : le phylum des Firmicutes est toujours fortement représenté (64%). Il comprend les espèces appartenant aux genres *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio* [77-80]. Les Bacteroidetes sont représentés par des genres liés à *Bacteroides*. Ils

sont toujours présents et partagent la dominance des groupes indiqués ci-dessus (23%). le phylum des *Proteobacteria* est moins dominant (8%) avec notamment les entérobactéries qui sont plus rarement observées (0,4 à 1%), comme c'est également le cas des lactobacilles et des streptocoques (2%) [81], le phylum des *Actinobacteria* est moins systématiquement détecté comme dominant, et il représente un petit pourcentage des bactéries totales (3%). Il comprend les bifidobactéries (0,7 à 10%) et les bactéries du groupe *Collinsella-Atopobium* (0,3 à 3,7% en moyenne) [79,82].

Une étude japonaise a pu comparer des échantillons prélevés de 3 personnes âgées à l'autopsie, à l'aide des banques de gène ARNr 16S et la technique d'analyse t-RFLP [83], cette étude a montré que le microbiote du jéjunum et de l'iléon était moins complexe de celui du colon, il est composé de communautés microbiennes de streptocoques, lactobacilles, *Gammaproteobacteria*, le groupe *Enterococcus* et le groupe *Bacteroides*, et que la plupart des micro-organismes retrouvés étaient anaérobies facultatifs ou aérobies. Une autre étude sur la composition du microbiote de l'intestin grêle a été réalisée sur les bactéries associées à la muqueuse intestinale par l'analyse moléculaire, a signalée qu'en plus des espèces trouvées dans l'étude japonaise, le microbiote était riche en *Actinomycineae* et *Corynebacteriaceae*, avec une diminution réciproque de *Clostridia* et *Bacteroides* [76].

Au niveau de la partie terminale de l'intestin grêle, le potentiel d'oxydoréduction devient de plus en plus bas menant à une augmentation des populations anaérobies strictes appartenant au genre *Bacteroides* associées à une population anaérobie facultative [83].

A l'inverse, la densité et la diversité du microbiote atteint son maximum dans le côlon et notamment le côlon distal, où sont retrouvées approximativement 10^{11-12} cellules /g de contenu [75]. Dans Le côlon, le transit, très fortement ralenti et associé à un très bas potentiel d'oxydoréduction, est à l'origine de l'augmentation importante de la population anaérobie, également la neutralité du pH et la faible concentration en acides biliaires permettent aussi la prolifération bactérienne, Ceci en fait l'écosystème le plus densément peuplé [84] de façon permanente par la flore résidente du fait que le nombre de gènes microbiens est de 2 ordres de grandeur supérieur au génome humain, deux études récentes réalisées à partir des biopsies du côlon ont révélées la présence des membres de 9 phylums distincts: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*,

Cyanobacteria, Spirochètes et VadinBE97 [4,41]. D'ailleurs, il a été montré que la population est pratiquement identique à celle des selles avec la présence majoritaire des 3 phylums : Firmicutes (principalement *Lachnospiraceae*), *Bacteroidetes* et *Actinobacteria* [85-87] en petite proportion de plus de 1000 espèces différentes [88]. Cette population bactérienne n'est pas capable de remonter jusqu'à l'iléon du fait de la présence de la valve iléocœcal qui limite le reflux [89].

En revanche, dans toute la biosphère il y a jusqu'à 70 phylums bactériens, qui met en évidence le fait que le microbiote gastro-intestinal humain est limité à un petit sous-ensemble de phylums, mais avec un fort degré de richesse et d'abondance des espèces.

2. Axe radial

En plus de l'hétérogénéité longitudinale dévoilée par le microbiote digestif, il y a aussi une grande variation transversale dans la composition du microbiote. Celle-ci varie en fonction non seulement de la région intestinale considérée mais aussi de la localisation luminale ou mucosale (fig.13).

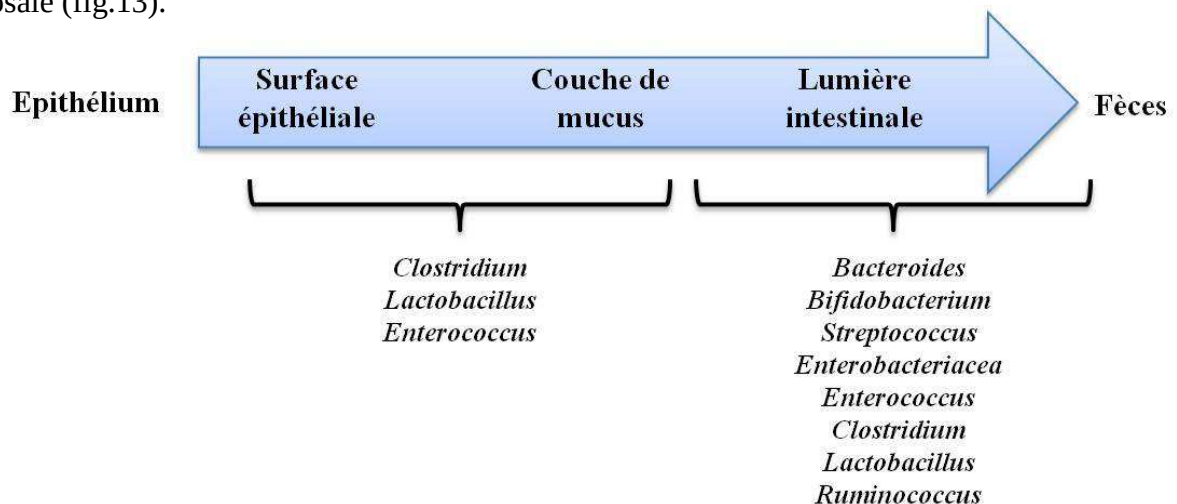


Figure N° 13 : Variation transversale du microbiote intestinal d'après sekirov [45]

Pour des raisons techniques, le microbiote colique a été majoritairement étudié à partir de selles. Or, même si une grande partie du microbiote est fixée aux particules alimentaires en transit, certaines espèces résidentes vivent à l'intérieur de la couche de mucus sécrétée par les

cellules épithéliales intestinales, alors que les espèces transitoires sont localisées dans la lumière intestinale et se retrouvent au niveau des selles. En outre, un nombre croissant de travaux porte ainsi sur la composition du microbiote associé à la muqueuse. Ce dernier présente une composition très variable selon les individus, hormis au niveau de la région colique [90], l'épithélium intestinal est séparé de la lumière par une couche épaisse et physico-chimiquement complexe. Le microbiote présent dans la lumière intestinale diffère de manière significative du microbiote associé et incorporé dans cette couche de mucus ainsi que le microbiote présent à proximité immédiate de l'épithélium [35]. Une étude réalisée à partir des biopsies de l'intestin grêle et du côlon, sur 3 groupes de souris en utilisant une méthode innovante fondée sur l'étude de fluorescence par hybridation in situ (FISH), a montré que de nombreuses espèces bactériennes présentes dans la lumière intestinale n'accèdent pas à la couche de mucus et cryptes épithéliales, par exemple : *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, les membres *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* et *Ruminococcus* ont tous été trouvés dans les selles, alors que seulement *Clostridium*, *Lactobacillus*, et *Enterococcus* ont été détectés dans la couche de mucus et cryptes épithéliales de l'intestin grêle [35].

En 2010, Swidsinski et al a montré dans une étude réalisée sur 20 sujets sains et 20 patients souffrant de diarrhée chronique idiopathique, que la couche de mucus séparatrice était pratiquement dépourvue de bactéries dans sa partie externe (face muqueuse) [35]. Seule une petite fraction des bactéries représentées par l'ensemble des groupes, à l'exception de *Bifidobacteria*, pénétrait le mucus à la face fécale de la couche de mucus. Les groupes bactériens ont pu être divisés en fécomuqueux, mucotropes et mucophobes, en référence à la couche de mucus et à la surface des selles :

- Toutes les bactéries habituelles et la plupart des bactéries occasionnelles étaient fécomuqueuses : *Roseburia*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium cylindroides*, *Clostridium histolyticum* et *Clostridium litusburense* [35,91], leurs concentrations étaient maximales dans la lumière, mais elles pouvaient aussi pénétrer dans la couche de mucus séparatrice à faibles concentrations.

- Les bactéries mucotropes sont représentées par deux groupes : *Enterobacteriaceae* et *Akkermansia muciniphila* appartenant au phylum des *Verrucomicrobia*, et qui sont capables d'adhérer, de coloniser et de dégrader la couche de mucus chez l'homme [35,92]. Les bactéries mucotrpes étaient situées principalement à l'interface entre le mucus et les selles, elles étaient complètement absentes de la zone de fermentation centrale ou elles ne s'y trouvaient qu'à des concentrations considérablement plus faibles (fig.14). *Akkermansia muciniphila*, distribuée de façon diffuse dans les selles, était toujours une extension de la population mucotrope dominante, également distribuée de façon diffuse dans les selles, les *Enterobacteriaceae* étaient présentes indépendamment des *Enterobacteriaceae* mucotropes, ce qui montre que les *Enterobacteriaceae* mucotropes et fécales sont représentées par des groupes bactériens de phénotype différent.

- Les bactéries mucophobes sont représentées par des bifidobactéries ayant la capacité de dégrader le mucus [90]. *Bifidobacterium bifidum* et *Bifidobacterium longum* notamment [93] qui étaient éloignées des régions adjacentes au mucus, suivant les bactéries fécomuqueueuses ou mucophobes à une distance de 2-25µm.

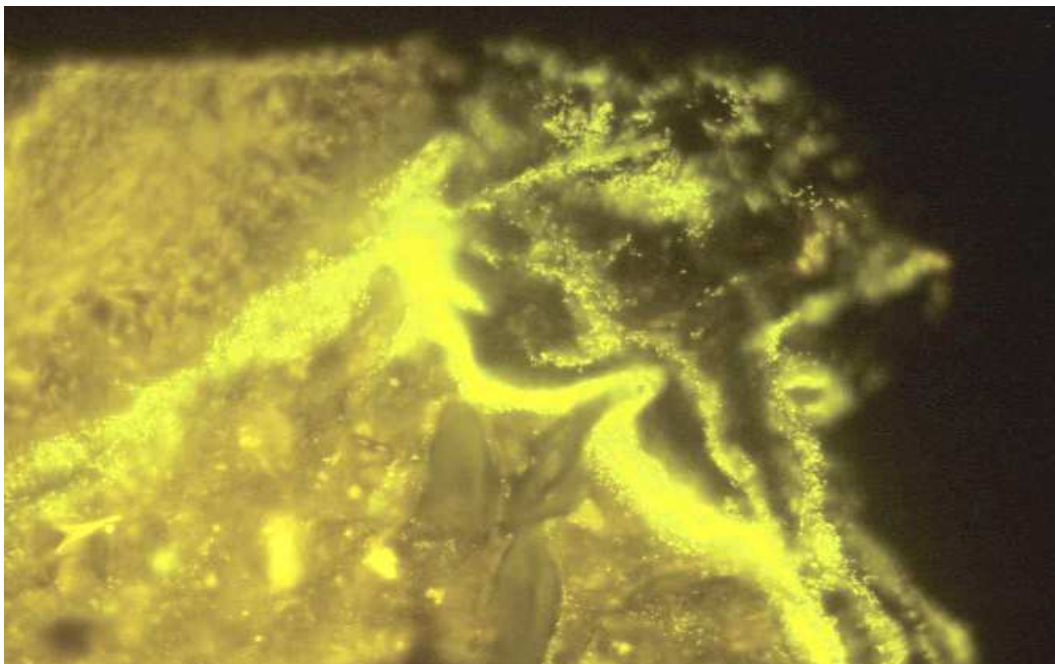


Figure N° 14 : Un exemple de bactérie mucotrope représenté par *Akkermansia muciniphila*.
Grossissement x 400.d'après Swidsinski [35]

Certaines études ont permis de mettre en évidence la présence d'autres genres et espèces au niveau du mucus tel que : les *Lachnospiraceae*, les *Ruminococcaceae* [94], ainsi que des lactobacilles [45]. De plus, des études moléculaires montrent que pour un individu donné, les profils bactériens de biopsies obtenus à différents niveaux coliques sont similaires entre eux, mais sont en revanche différents de ceux d'origine fécale [95,96]. Le séquençage systématique du marqueur ribosomal 16S a été réalisé sur des banques d'ADN provenant de biopsies de différents sites coliques (cæcum, côlon ascendant, transverse, descendant, sigmoïde et rectum) de trois adultes sains. Cette étude réalisée sur un total de 13355 séquences d'ADNr 16S, a révélée une remarquable constance dans les espèces microbiennes associées à la muqueuse colique, et ce, quelle que soit la localisation longitudinale. Ainsi, la paroi intestinale et la couche de mucus permettraient le maintien de conditions plus stables [4].

b. Composition du microbiote humain à partir de l'étude des selles

L'analyse de la composition du microbiote intestinal est souvent basée sur l'étude du microbiote fécal. En effet, la facilité d'acquisition, le coût minimal et L'accès à certaines zones du tractus gastro-intestinal qui reste délicat et peut parfois nécessiter des manipulations invasives comme les coloscopies ou les biopsies, peuvent expliquer pourquoi le microbiote fécal est le plus étudié même si plusieurs études montrent qu'il existe des différences avec la composition du microbiote associé au côlon [21,97]. Des chercheurs ont montré que le microbiote associé aux muqueuses a une distribution inégale et hétérogène à l'intérieur d'un sujet, et que le microbiote associé aux muqueuses est de composition distincte de celle de microbiote fécal quantitativement et qualitativement [97,98], en fait une étude a hypothétisé que le microbiote fécal représente une combinaison des bactéries muqueuses et des bactéries luminales non adhérentes [4].

D'ailleurs, les communautés hautement évolués des biofilms bactériens, et qui sont étroitement associés à l'épithélium intestinal sont biologiquement plus pertinentes que les microbes planctoniques qui existent dans le lumen de l'intestin ou associés à des résidus d'aliments, et, en outre, des échantillons de selles ne peuvent pas représenter avec précision le microbiote des muqueuses, Même dans les selles, il semble y avoir des différences

significatives entre microbiote de la fraction liquide par rapport à celui associé à la phase solide (résidus végétaux insoluble et mucine) [99].

De plus, cette différence est principalement liée à la proportion des bactéries aérobies anaérobies facultatives qui sont pratiquement absentes des fèces par rapport au contenu colique. Cependant la quantité de bactéries pour la plupart anaérobies strictes retrouvée dans les fèces, est similaire à celle retrouvée au niveau du côlon (environ 10^{11} UFC/g de contenu). Les phylums les plus représentés sont *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* et *Verrucomicrobia*. L'étude d'une cohorte comprenant 242 volontaires américains sains, dans le cadre du projet de microbiome humain, montre que la proportion des Firmicutes varie de 90% à moins de 10% selon l'individu, alors que la proportion des *Bacteroidetes* varie en sens inverse [85].

Une étude récente réalisée dans le cadre de projet MetaHit sur les selles de 22 sujets européens (danois, français, italiens et espagnols), 13 japonais et 2 américains tous sains a permis de déterminer les phylums majoritaires des pays et continents indépendants [87]. Cette étude a suggérée que les individus pouvaient se répartir en trois catégories « les entérotypes », caractérisés par une population bactérienne prédominante : *Bacteroides*, *Prevotella* et *Ruminococcus* (fig.15). Il apparait que ces entérotypes sont indépendants de la géographie, du régime alimentaire à court terme ou de la couleur de la peau. La grande majorité des séquences appartiennent aux bactéries (92.76%), puis arrivent les séquences des virus (5.8%), Archea (0.8%), eucaryotes (0.5%) et seulement 0,14% des séquences ont été classées comme contamination humaine.

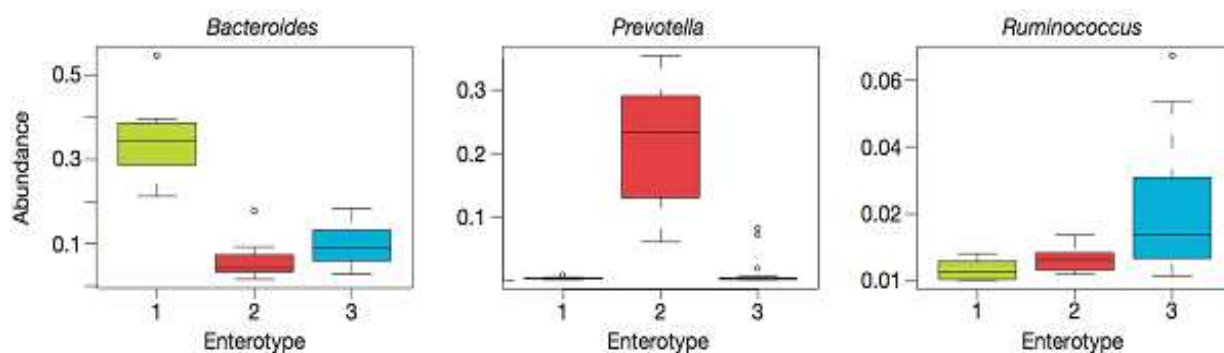


Figure N° 15 : Les 3 entérotypes du microbiote intestinal

1. Flore bactérienne

Tout comme le contenu colique, on considère que les fèces contiennent en moyenne 10^{11} bactéries/g, ce qui correspondrait à environ 40 % de leur poids [100]. L'analyse de la composition en taxa (genres bactériens et/ou grands groupes phylogénétiques) fait ressortir l'existence de composantes récurrentes, retrouvées chez tous les individus. Trois phylums bactériens dominants, les Firmicutes et les Bacteroidetes constituent la majorité (environ 40% pour chacun des phylums) du microbiote intestinal humain [101], le troisième phylum est celui des Actinobactéries qui représente moins de 10% du microbiote.

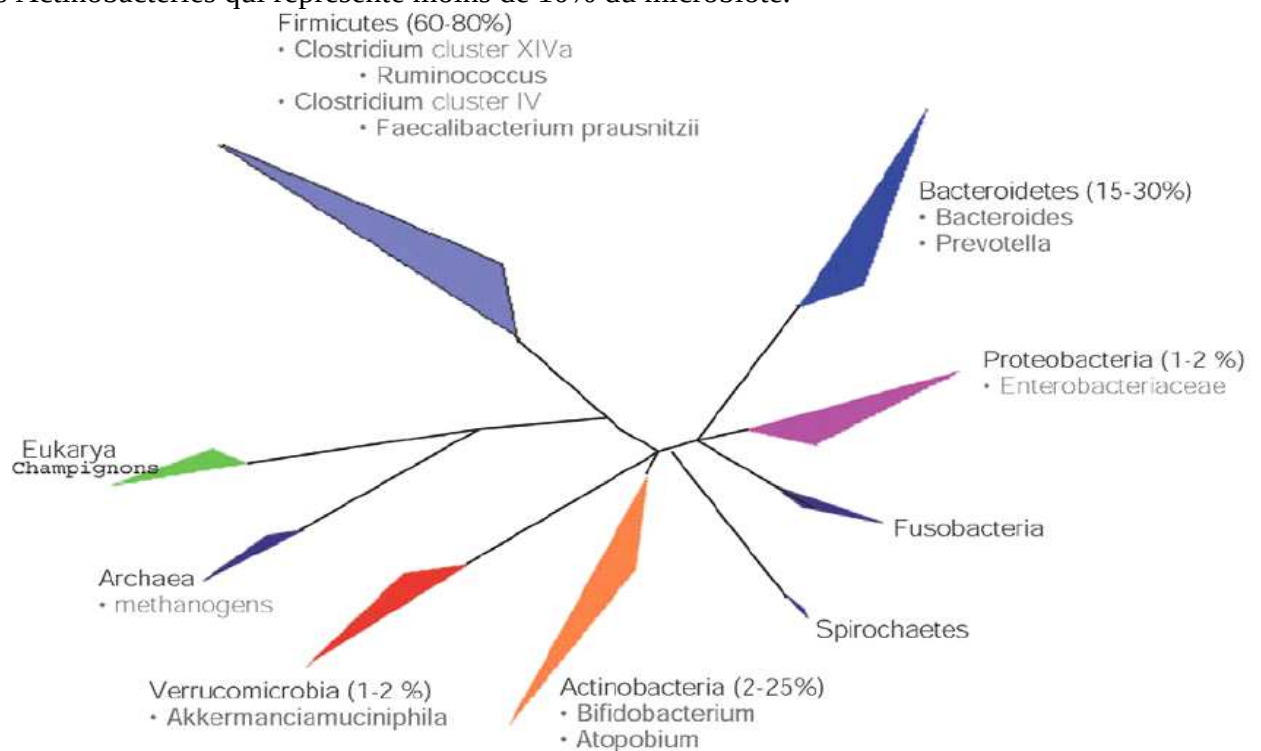


Figure N° 16 : Représentation schématique de l'arbre phylogénétique des bactéries dans les selles

❖ Phylum des Firmicutes :

Le phylum des *Firmicutes* (des bactéries à gram positif) est toujours fortement représenté. Présentant un faible pourcentage de base G+C (moins de 50%), ces bactéries constituent l'un des principaux phylums des bactéries. Leur diversité est très importante que ce soit sur leurs formes (coccoïde, spiralé...), leur métabolisme (aérobie, anaérobie) ou leurs formes de résistances (présence ou absence de spores). Ce phylum est divisé en trois classes majeures :

Clostridia (principalement des groupes IV et XIVa), *Mollicutes* (*Mycoplasma* et *Ureaplasma*) et *Bacilli* (*Bacillales* et *Lactobacillales*) incluant 164 genres. Au niveau des selles, les phylotypes les plus abondants sont représentés dans les 2 principaux groupes des *Clostridia*, le groupe IV et XIVa [54].

Le Groupe IV (anciennement nommé groupe des *Clostridium leptum*) représente environ 20% du microbiote, avec notamment les espèces *Ruminococcus albus* et *R. flavefaciens*, [80,81] dont l'espèce prédominante est *Faecalibacterium prausnitzii* (précédemment classé dans les *Fusobacterium*) qui semble jouer un rôle clé dans la réduction de l'inflammation [102,103], et qui possède un large éventail d'enzymes pouvant métaboliser les carbohydrates pour former du butyrate et du lactate [87,104]. Le groupe XIVa (*Clostridium coccoides*) représente comme le groupe IV environ 20% du microbiote, et est composé d'une collection disparate de genres et d'espèce de bactéries. Les genres les plus abondants retrouvés dans les selles sont : *Roseburia* et *Ruminococcus* ainsi que la famille des *Lachnospiraceae* comprenant les genres (*Eubacterium* et *Clostridium*) [87]. *Anaerostipes* et *Coprococcus* sont aussi retrouvés mais en plus faible quantité.

❖ Phylum des Bacteroidetes :

Anciennement nommé phylum des *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*, il est toujours présent et partage la dominance avec le phylum des Firmicutes (9 à 42% des bactéries totales en moyenne suivant les études). Le phylum des Bacteroidetes regroupe quant à lui la plupart des bactéries à gram négatif. Moins divers en termes d'espèces, il comporte 3 genres prépondérants : *Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas* [54]. Les espèces les plus représentées sont *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides caccae* et *Bacteroides thetaiotaomicron* [26]. Cette dernière bactérie est connue pour être impliquée dans des fonctions bénéfiques pour l'hôte, tel que l'absorption des nutriments, la maturation et la maintenance des cellules épithéliales.

❖ Phylum des Actinobactéria :

Le phylum Actinobacteria est moins systématiquement détecté en dominance, il représente une fraction plus réduite du microbiote et inclut les bifidobactéries (0,7% à 10%), les

propionibactéries et la famille des *Coriobacteriaceae* (groupe *Collinsella-Atopobium*) (0,3% à 3,7%) [79,81,82,87]. Ce phylum est composé d'organismes gram positif ayant un pourcentage de base G+C élevé (plus de 55%). Il est composé de bactéries morphologiquement différentes, des formes coccoïdes (*Micrococcus*), cocco-bacillaire (*Arthrobacter*) et des formes pouvant présenter des hyphes (*Noocardia*) [105].

❖ Autres phylums :

D'autres phylums sont représentés mais en faible quantité, il s'agit du phylum Verrucomicrobia avec comme espèces *Akkermansia mucinophila* [106] et *Vectivallis vadensis* [107], les entérobactéries (*Escherichia*, *Klebsiella*) sont plus rarement détectés dans les fèces, avec une abondance très faible de l'ordre de 0,1% à 1% de la population microbienne [100], de même que les *fusobacteria*, les lactobacilles et les streptocoques (2%) [81].

2. Les archées

Les *Archea* ont été découverts vers la fin des années 70 dans des environnements extrêmes (anaérobies, à forte salinité, très chauds ou à grande profondeur). Ce sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes similaires en taille (0,1 et 15 microns) et en forme aux bactéries. Cependant les analyses génétiques et les méthodes de classification de la phylogénétique ont conduit à les séparer des bactéries, en effet les membranes des *Archea* sont composées de lipides d'éther de glycérol alors que les bactéries et les eucaryotes sont composés principalement de lipides d'ester de glycérol. Cette différence confère à la membrane une plus grande stabilité et donc de pouvoir survivre à des conditions extrêmes.

D'après les données recueillies et compilées au sein du Bergey's Manual of Systematic bacteriology deux phylums majoritaires composent les *Archea* : les *Crenarchaeota* et les *Euryarchaeota*. Actuellement, les *Crenarchaeota* renferment essentiellement des micro-organismes thermophiles et thermoacidophiles tandis que les *Euryarchaeota* sont représentés par une plus grande variété de micro-organismes, incluant l'ensemble des méthanogènes, des halophiles extrêmes, des thermophiles et des thermoacidophiles [108]. D'ailleurs, dans une étude d'extraction et de détection de l'ADN des *Archea* réalisée sur 650 selles humaines en 2011 [109], seules deux *Archea* méthanogènes ont été identifiées comme colonisant le côlon :

Methanobrevibacter smithii d'une prévalence de 95,5% [4] et *Methanosphaera stadmanae* d'une prévalence de 29,4%. Ces procaryotes sont capables de produire du méthane dans des conditions d'anaérobiose. Cette production est importante pour prévenir l'accumulation d'acides et de produits de fin de réaction dans l'intestin.

Un troisième phylum a récemment été proposé : les *Thaumarchaeota*. Ce nouveau phylum est constitué d'un groupe d'Archaea mésophiles précédemment rattaché aux *Crenarchaeota*. L'analyse récente du génome de *Cenarchaeum symbiosum*, premier membre à avoir été séquencé, a montré que ce groupe de micro-organismes formait en fait un troisième phylum au sein des Archaea [110].

3. Les Eucaryotes

En plus des bactéries, des micro-organismes eucaryotes sont également présents dans l'intestin et jouent différents rôles bénéfiques ou néfastes. Certaines espèces peuvent être commensales ou mutualistes, tandis que d'autres peuvent être opportunistes ou parasitaires, l'étude complète du composant eucaryote dans le microbiote intestinal n'en est qu'à son début, loin derrière l'étude des bactéries. Les premières études ont été réalisées sur les parasites présentant une pathogénicité certaine (*Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*). Chez l'adulte sain, ils représentent environ 0,5% de la flore microbienne intestinale. D'ailleurs le règne des Eucaryotes est de nature fongique, les champignons ainsi que le genre *Blastocystis* sont les eucaryotes dominants (et dans de nombreux cas les seuls) [111-113]. Ainsi des levures telles que les *Candida* ont été identifiées comme colonisant le système digestif [114]. D'autres sont plus rarement retrouvés tel que *Pentatrichomonas* et *Entamoeba dispar*. Une étude récente de l'exploration du mycobioïome réalisée sur des selles de 11 nouveau-nés de faible poids, a permis de détecter 13 espèces chez sept nouveau-nés, les espèces dominantes étaient *Candida spp* et *Clasvispora spp* [115].

De plus, la diversité intra-individuelle est faible (moins de dix phylotypes par individus) et leur rôle fonctionnel chez l'Homme demeure inexploré [116,117]. En outre, les communautés eucaryotes sont stables dans le temps.

4. Les virus

Bien qu'il soit reconnu que le microbiote colique est majoritairement composé de bactéries, les virus sont considérés comme l'espèce la plus abondante au niveau intestinal, la première étude réalisée en 2003 a montré la présence de 1200 virus, retrouvés dans la matière fécale [118]. À partir de 2008, les études sur les virus ont suggéré que la plupart des virus à ADN trouvés dans l'intestin étaient des phages et que la plupart des virus à ARN étaient des virus de plantes [119]. On estime le nombre de phages à 10^{12} à 10^{13} particules par microbiote qui sont répartis dans environ une centaine d'espèce dont le taxon prédominant appartient à la famille des Podoviridés [120]. Néanmoins, une étude de métagénomique récente, montre que 80% des génomes viraux identifiés ne correspondent à aucun virus connu dans les bases de données, ce qui suggère que la diversité au sein du virome humain commence à peine à être caractérisée [119,121]. Les virus n'ont aucune activité métabolique, mais sont susceptible d'altérer la composition du microbiote et, de ce fait, pourraient avoir une action indirecte sur cet écosystème.

c. Notion du microbiome bactérien

Bien que les approches moléculaires développées au cours des dernières décennies permettent d'avoir accès à la composition du microbiote intestinal, comme la plupart de ces bactéries ne sont pas cultivables à l'heure actuelle, leurs fonctions ne sont pas décrites et leurs génomes non séquencés. Pourtant, savoir quels microbes sont présents ne suffit pas à comprendre l'écosystème et il est crucial de connaître le potentiel génétique de la fraction bactérienne non-cultivable du microbiote intestinal, mais également les fonctions occupées par ces bactéries dans leur environnement. Les approches de « méta-analyses » visent à répondre à ces questions. La métagénomique, basée sur l'analyse du contenu génomique de l'ensemble des microorganismes, cultivables ou non, présents dans un écosystème permet ainsi de proposer une vision intégrée du microbiome intestinal humain, selon les auteurs et leurs préoccupations écologiques ou génomiques [54], la définition du microbiome est plus controversée. Il s'agit, soit de l'aire de vie du microbiote, soit l'ensemble des génomes ou des gènes constituant un microbiote. Cette dernière définition correspond à l'usage initial proposé

par Josua Lederberg en 2001 pour promouvoir l'étude de nos bactéries résidentes et de leurs gènes comme partie intégrante du génome humain [37,122]. Et puis l'ensemble métagénome, métatranscriptome et métaprotéome étaient connus sous l'appellation microbiome intestinal humain.

Le développement de technologies de séquençage à très haut débit contribue au développement de la métagénomique. En pratique, la communauté bactérienne pourrait être extraite des selles ou des biopsies, puis son ADN analysé pour déterminer sa séquence. Le répertoire génétique complet des organismes dominants cultivables et non cultivables pourrait être obtenu et fournir des informations sur les potentiels fonctionnels de la communauté complète [123]. Récemment, l'étude MetaHit a séquencé le métagénome de 124 individus européens [26], dix-huit espèces bactériennes ont été trouvées chez tous les individus, 57 espèces ont été trouvées chez plus de 90 % des sujets, (fig.17) et 75 dans au moins 50%. Pour les 57 espèces présentes chez plus de 90% des individus, le génome de chaque espèce couvrait au moins 1% de la totalité des génomes. De même, sur les 124 selles, 155 espèces dont la prévalence était supérieure à 1% ont été caractérisées chez au moins un individu. Cette méthode a une nouvelle fois affiné la vision du microbiote, dont la base de données contient 3,3 millions de gènes non redondants, soit 150 fois plus que le génome humain. Ce contenu correspond à près de 1000 espèces bactériennes, représentant probablement la grande majorité des espèces de l'intestin humain [124].

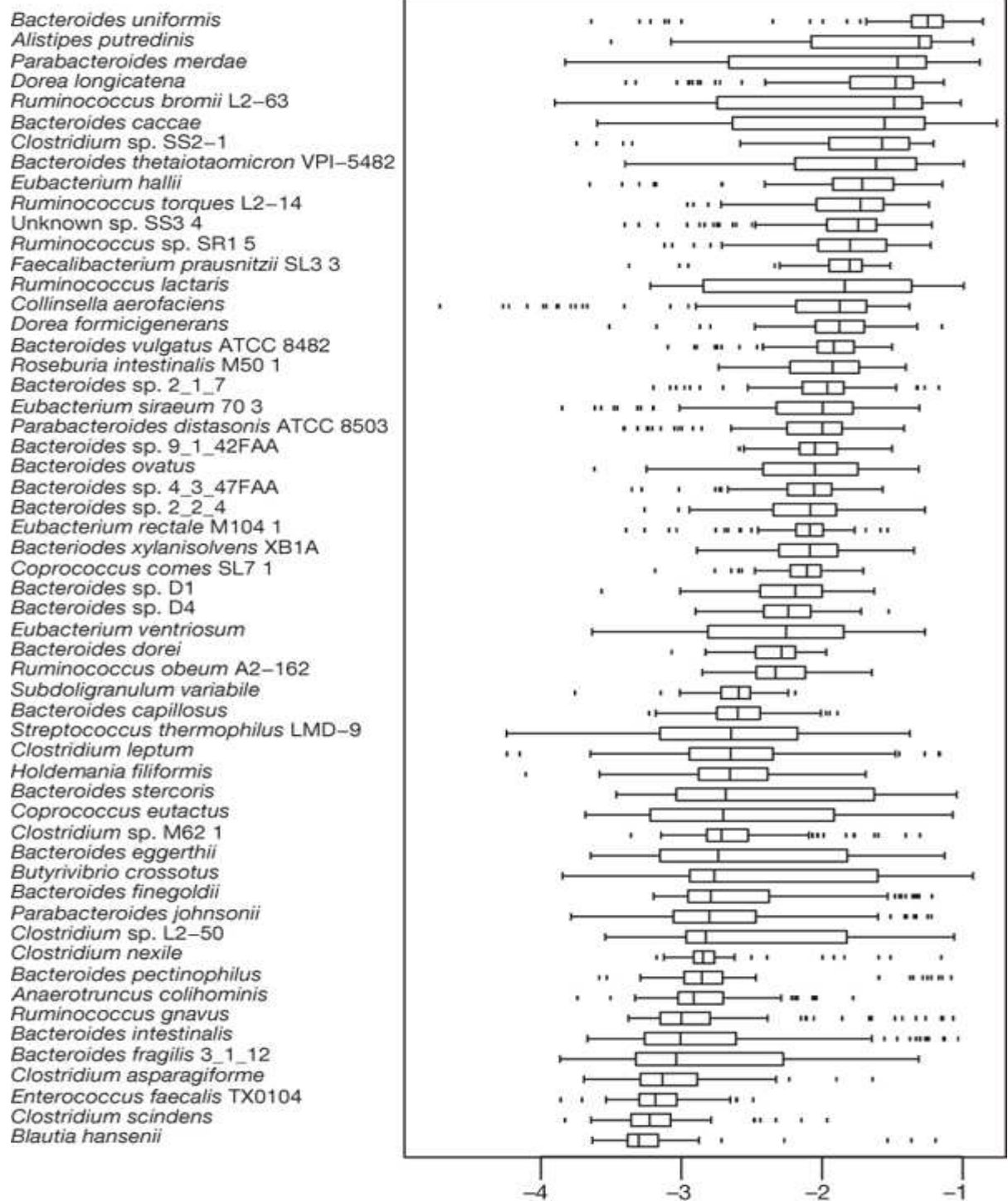


Figure N° 17 : Abondance relative des 57 génomes bactériens les plus fréquents rencontrés chez au moins 90% des individus de la cohorte d'après Qin [26]

Cependant, la métagénomique nous permet aussi d'étudier la présence de fonctions dominantes portées par plusieurs espèces faiblement représentées qui pourrait éclairer leurs stratégies de survie dans l'intestin humain. Par exemple, malgré la faible abondance d'*Escherichia coli* au niveau intestinal, elle contribue à plus de 90% de deux abondantes protéines codant pour des pilis (FimA et papC). Ces pilis possèdent des rôles de fixation spécifique au niveau des cellules épithéliales, mais aussi aident les bactéries à rester plus longtemps au niveau du tractus intestinal. De plus, ils jouent un rôle important dans le transfert de plasmides entre bactéries, transfert nécessaire à des échanges de fonctions telles que la résistance aux antibiotiques.

Dans une revue générale présentée en 2009 lors d'un symposium, les auteurs ont indiqué que l'on pouvait identifier à l'échelon du gène un noyau du microbiome, en dépit de larges variations dans la distribution des communautés à l'échelon du phylum [44]. L'existence même d'un noyau de microbiote et/ou de microbiome humain ouvre des perspectives nouvelles d'applications nutritionnelles ou thérapeutiques pour restaurer l'eubiose et les principales fonctions du microbiote [123].

D'un individu à l'autre, le microbiote possède des caractéristiques très conservées en terme de composition au niveau des Phylums et grands groupes phylogénétiques, l'exploration métagénomique du microbiote intestinal humain est actuellement en cours grâce à des programmes tels que celui du MetaHIT et du Roadmap du NIH « Human microbiome project HMP ». Ces programmes sont structurés au sein de l'IHMC (International Human Microbiome Project). Le HMP a identifié au niveau des 18 sites prélevés, 30 phylums, 51 classes, 125 ordres, 493 familles et 929 genres bactériens. Néanmoins, si l'on y regarde de plus prêt, on peut observer une grande variabilité interindividuelle au niveau des espèces avec la présence de nombreuses espèces sujets-spécifiques [125]. Ces données suggèrent que le microbiote d'un individu lui est propre en termes de composition, avec une forme de redondance fonctionnelle entre les espèces. Les données récentes de métagénomique vont dans ce sens en montrant que les fonctions portées par les gènes du microbiote sont similaires d'un sujet sain à l'autre.

C'est donc à la lumière de ces données que l'on a réellement saisi la diversité et la richesse des fonctions portées par le microbiote. Ainsi la perception même de notre physiologie a changé et il est maintenant généralement admis qu'une compréhension complète de notre physiologie mais doit intégrer cette composante microbienne [126].

D. Homéostasie du microbiote et résilience

a. Homéostasie

La composition globale de la communauté microbienne intestinale dominante apparaît conservée entre les individus et stable dans le temps [127]. La diversité des espèces dominantes semble remarquablement stable dans le temps pour un individu donné sur des échelle de temps allant de quelques jours à plusieurs années [80,128,129], alors qu'une large fraction des espèces dominantes apparaît spécifique de l'individu. De même, les phylums majeurs sont présents chez tous les individus avec des proportions qui varient entre individus mais le plus souvent restent dans les mêmes équivalents logarithmiques. La stabilité du microbiote a longtemps été considérée comme à l'origine de l'effet barrière. En effet, le microbiote protège contre l'installation de microorganismes exogènes par compétition pour l'espace et les substrats [130], cette stabilité ne doit toutefois pas être considérée comme une simple barrière inerte mais plutôt un équilibre dynamique [131,132].

En revanche, en ce qui concerne les souches, la stabilité paraît moins claire et dépendra du sujet ce qui dissimulerait un taux important de renouvellement au niveau des souches [133,134], il est ainsi suspecté que la stabilité observée au niveau des groupes ou des espèces masquerait un « turnover » important au niveau des souches. Cette stabilité de communautés est supérieure au niveau du colon comparativement à l'iléon.

A l'inverse des flores dominantes (ex. *Bacteroides*), la stabilité des phylums faiblement représentés (tels que les *Lactobacillus*) est nettement moins grande dans le temps [129]. Ainsi, la possibilité pour les bactéries lactiques apportées par l'ingestion d'aliments fermentés de survivre pendant le transit doit également être envisagée, conduisant à leur passage transitoire dominant dans l'intestin grêle et le colon.

Le microorganisme qui colonise au début de la vie une niche donnée, persistera et se multipliera sans nécessiter de ré-inoculation. Pour un individu, des modifications du microbiote pourraient venir soit de la colonisation par des microorganismes exogènes, soit d'une modulation des niveaux de population des bactéries commensales. Dans la plupart des cas, elles seront essentiellement la conséquence de relais de dominance en réponse à des facteurs modulant les niches écologiques. Parmi ces facteurs, le temps de transit des contenus, le pH, la qualité et quantité des substrats exogènes et des mucines endogènes [127].

b. Résilience

Bien que les communautés microbiennes intestinales semblent aptes à s'adapter aux évolutions de niches écologiques, il apparaît difficile d'induire des altérations durables des populations dominantes établies. En effet, de nombreuses observations illustrent la capacité du microbiote à résister aux modifications. Par exemple, l'administration d'une souche allochtone, comme un probiotique, ou d'un substrat, comme un prébiotique, ou encore d'un antibiotique modifie de façon transitoire l'équilibre de la flore microbienne, mais le retour à l'équilibre est très rapide (de l'ordre de 2-3 jours) après l'arrêt de l'administration [135]. Cette faculté du microbiote à récupérer sa constitution est appelée résilience. Cette capacité suggère une adaptation très forte du microbiote à l'intestin et même au génotype de l'hôte qui l'héberge.

Ce retour à l'état initial n'est pas toujours complet et des cicatrices écologiques durables après perturbation sont parfois décrites avec des signes cliniques tels que le syndrome de l'intestin irritable qui se poursuit parfois plusieurs mois ou années après une infection digestive aiguë par des bactéries entéropathogènes. De plus, l'impact des perturbations comme l'antibiothérapie lors des vagues successives d'implantation du microbiote peuvent conduire à des perturbations plus profondes sans résilience complète du fait de l'instabilité et l'immaturité du microbiote dans cette période [131,132]. La compréhension des boucles de régulation lors de la dynamique d'implantation et après un stress est essentielle pour pouvoir agir sur la restauration des microbiotes sains. Le rôle des transferts latéraux dans l'établissement de ces boucles régulées est certainement majeur mais reste à explorer.

E. Variation au cours de la vie et des conditions extrêmes

a. Microbiote et ménopause

À l'âge adulte, le microbiote restera stable au cours des années avec des changements minimes [136]. Cependant, des périodes de changement hormonal majeur telles que la puberté et la ménopause peuvent intervenir mais ne sont pas encore bien documentées [137].

La ménopause correspond à une véritable transition hormonale survenant chez les femmes vers l'âge de 50 ans. Elle peut engendrer un déséquilibre de la flore vaginale avec déplétion des *Lactobacillus* entraînant vaginoses et infections de l'arbre urinaire. Encore peu d'études ont été réalisées sur la flore intestinale, mais certaines maladies gastro-intestinales ont tendance à débuter dès les premières années de la ménopause [138]. Une étude suédoise a exploré la relation entre la flore lactique vaginale et rectale et l'imprégnation hormonale chez 20 femmes saines en âge de procréer et 20 femmes saines ménopausées. La découverte principale de cette étude était la présence accrue de *Lactobacillus crispatus* au niveau de la flore vaginale de femmes fertiles en comparaison à la flore de femmes post-ménopausées, par contre au niveau rectal aucune différence n'a été observée [139].

Une étude canadienne a été réalisée sur la flore vaginale pour évaluer le bénéfice d'un traitement hormonal substitutif (THS) associant œstrogène et progestérone. Les *Lactobacillus* ont été retrouvés dans 95 % des femmes dans les deux groupes, mais dans le groupe THS, les *Lactobacillus* étaient plus souvent l'espèce dominante et de rares bactéries pathogènes ont été retrouvées et en quantité peu importante. De plus, l'incidence de la vaginose bactérienne était significativement plus basse dans le groupe THS que dans les femmes sans traitement (5,6% contre 31%) [140]. Cependant, il est difficile d'extrapoler les résultats trouvés sur la flore vaginale à la flore intestinale. Mais, il apparaît néanmoins probable qu'un lien existe entre l'imprégnation hormonale et le microbiote intestinale chez la femme. Cela a été confirmé par une étude canadienne réalisée sur une variété de souris appelée NOD (non-obese diabetic) qui a un risque génétique élevé de développer un diabète de type 1, lorsque ces souris sont élevées dans des conditions normales, environ deux fois plus de femelles que de mâles tombent spontanément malades. Pourtant, les chercheurs ont observé que cette différence disparaissait si les souris étaient élevées dans un milieu sans germes. En outre, ils ont relevé des changements dans les taux de testostérone de ces souris axéniques par rapport aux souris

normales, ce qui indique que le microbiote intestinal influence les taux d'hormones sexuelles de l'hôte. Réciproquement, les chercheurs ont trouvé que les hormones sexuelles modifient la composition du microbiote intestinal : alors qu'il n'y avait pas de différence entre les souches bactériennes constituant le microbiote intestinal des souris mâles et celles constituant le microbiote des femelles à l'âge de 3 semaines (âge de sevrage) [141].

b. Microbiote et âges extrêmes

Comme nous l'avons vu précédemment la communauté du microbiote se stabilise vers l'âge de 2 ans et elle reste stable tout le long de la vie adulte, et ensuite Elle évolue avec le vieillissement. Cependant, des études ont montré qu'il existe une différence notable dans le microbiote des adultes jeunes et âgés sains. De nombreux facteurs entrent en jeu dans la modification du microbiote : le changement du mode de vie, le comportement nutritionnel, la réduction du péristaltisme intestinal, l'augmentation de la perméabilité intestinale et la présence d'une inflammation de bas grade chronique ainsi qu'une baisse de l'immunocompétence et l'exposition aux antibiotiques ou autres médicaments [172].

Le consortium ELDERMET (créé en 2007 pour établir le rôle du microbiote intestinal de personnes âgées irlandaises sur la santé) a mis en évidence une variabilité interindividuelle importante chez les personnes âgées et, est supérieure à celle observée chez des adultes plus jeunes. Par ailleurs, il semble exister des différences frappantes liées au pays, même au sein de pays ayant le même niveau de vie ce qui suggère que les différentes habitudes alimentaires et les modes de vie impactent fortement le microbiote intestinal sur le long terme. De plus, les tranches d'âge des personnes âgées étudiées sont plus ou moins larges en fonction des études. Certaines études portent sur des cohortes de sujet dont l'âge s'étale sur 30 ou 40 ans, alors que d'autres études définissent les personnes âgées à 60 ou 70 ans.

Les 3 phylums principaux (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*) sont conservés mais leurs proportions varient. En effet, le projet ELDERMET a montré une diminution des clostridia XIVa, cela a été décrit au Japon sur des personnes âgées de 74 à 94 ans, sur des italiens âgés de plus de 60 ans ou sur des Finlandais âgés de plus de 70 ans. Également, les mêmes modifications ont été rapportées chez des italiens centenaires. Cependant cette

réduction n'a pas été montrée chez des personnes âgées habitant en Allemagne. Concernant l'autre groupe majeur des Firmicutes, la proportion des *Clostridia* IV, est soit augmentée, soit diminuée, ou inaltérée en fonction des études. Plusieurs études ont constaté une réduction chez les personnes âgées de *F.prausnitzii*, qui appartient aux *Clostridia* du groupe IV et qui est une bactérie très étudiée car elle serait associée à des effets bénéfiques pour la santé. Cette diminution a été décrite sur une population d'italien, en particulier sur des centenaires. En revanche, cette diminution de *F.prasnitzii* n'a pas été trouvée sur les sujets français, allemand ou suédois. De même, le projet ELDERMET a évalué le pourcentage de *Faecalibacterium* chez les personnes âgées, qui peut varier de 16% à moins de 1 à 2% chez certains individus [172].

Les données concernant l'effet du vieillissement sur le phylum des Bacteroidetes sont aussi controversées. Une diminution des Bacteroidetes a été montrée chez des italiens de plus de 60 ans, ou des sujets âgés d'Europe du Nord. Au contraire plusieurs études portant sur des personnes âgées d'origine allemande, autrichienne ou finlandaise ont décrit une augmentation des Bacteroidetes dans ces populations (fig.18).

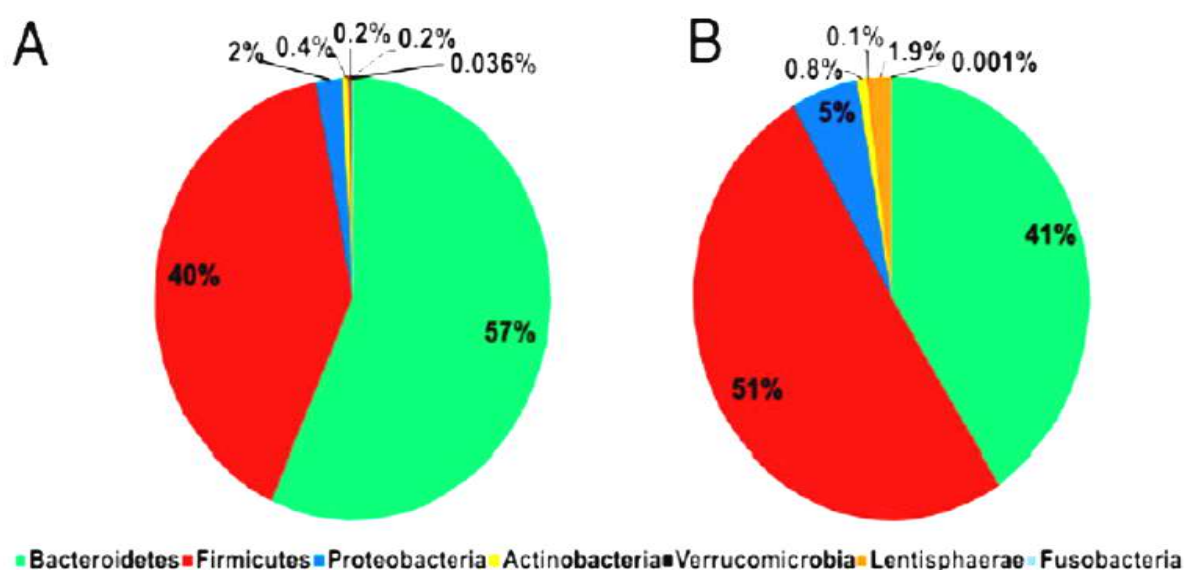


Figure N° 18 : Composition des phylums des microbiotes intestinaux des personnes âgées (A) et jeunes (B)

En outre, il a été rapporté que le rapport Firmicutes/Bacteroidetes est souvent considéré comme un paramètre informant sur l'état général du microbiote intestinal. Le rapport Firmicutes/Bacteroidetes était inférieur chez les personnes âgées par rapport à de jeunes adultes. Au contraire l'étude de Biagi et al n'a pas trouvé de différences significatives concernant les rapports Firmicutes/Bacteroidetes entre centenaires, adultes jeunes ou plus âgés. Dans une autre étude, il a été indiqué que les bactéries anaérobies facultatives, telles que les entérobactéries, les entérocoques, et les streptocoques augmentent au cours du vieillissement. En revanche, les données sur les bifidobactéries restent controversées. En effet, certaines études ont rapporté que la population de bifidobactéries diminue avec l'âge, mais certaines études récentes ne semblent pas confirmer cette réduction alors que l'étude de Biagi et al décrit une diminution significative de la population de Bifidobactéries uniquement chez des centenaires.

**FACTEURS INFLUENÇANT
L'INSTALLATION ET LA STABILITÉ DU
MICROBIOTE**

Le microbiote digestif est la conséquence d'un équilibre très finement contrôlé. Cependant il existe plusieurs éléments pouvant influencer sa cinétique d'installation et sa composition. Ces facteurs peuvent être classés en 2 types, les facteurs physiologiques et les facteurs environnementaux.

A. Facteurs physiologiques

a. Génotype de l'hôte

Malgré le fait que le nouveau-né se retrouve confronté à une multitude de microorganismes à la naissance, que ce soit dans son environnement ou dans son alimentation, mais tous ne colonisent pas ses muqueuses, son tractus gastro-intestinal ne sera colonisé que par certaines bactéries capables d'interagir de façon symbiotique avec l'hôte. Du fait que les interactions bactérie-bactérie et bactérie-hôte interviennent dans l'établissement et le maintien de la composition de notre microbiote.

L'existence d'un effet du terrain génétique sur la modulation de la colonisation bactérienne a été très tôt suggérée par l'observation de l'importante similarité entre des microbiotes provenant de jumeaux [143]. Une étude pilote publiée par Toivanen en 2000 a démontré cette influence. Cette étude a extrapolé la composition du microbiote en déterminant par chromatographie en phase gazeuse le profil en acide gras dans les selles de souris congéniques élevées dans des conditions identiques et présentant ou non un même complexe majeur d'histocompatibilité. Les résultats obtenus ont indiqués que le CMH avait clairement une contribution sur la composition de la communauté microbienne, cependant l'auteur ajoute que d'autres gènes seraient susceptibles de modifier le microbiote [144]. Plus récemment, des études utilisant des techniques indépendantes de la culture ont rapporté que les similarités au niveau de la composition du microbiote intestinal étaient liées au degré de similitude du terrain génétique, d'ailleurs une étude comparative ayant porté sur des jumeaux monozygotes (vrais jumeaux) et dizygotes a montré qu'après l'âge de 25 ans, la composition du microbiote étant toujours plus similaire entre des jumeaux monozygotes qu'entre des personnes génétiquement moins proches (fratrie, parent et enfant), ou des personnes non apparentées mais partagent le même style de vie [145]. Ceci suggère que le génotype de l'hôte pourrait jouer un rôle déterminant dans la mise en place du microbiote intestinal. De même, la composition du microbiote intestinal est presque toujours plus

similaire entre les individus d'une même espèce qu'entre espèces différentes malgré les variations interindividuelles, et davantage corrélée à la phylogénie de l'hôte qu'à son alimentation ou son environnement [146].

De plus, une expérimentation sur des prélèvements caecaux sur souris consanguins a montré que les microbiotes intestinaux étaient plus semblables entre ces animaux qu'entre ceux des animaux non consanguins. Cette étude réalisée en obtenant les profils caecaux par la méthode DGGE confirme le lien entre les gènes et le microbiote. Par contre, deux populations de souris consanguines mais élevées chez deux vendeurs différents, ne présentaient pas le même microbiote, ce qui prouve que les facteurs environnementaux ont aussi un rôle important dans la composition du microbiote [147].

b. L'âge :

Comme nous l'avons précédemment décrit, l'implantation, le développement et le maintien du microbiote s'opèrent graduellement dans les premières années de vie, et la composition du microbiote demeure stable chez les adultes et s'évolue avec le vieillissement (fig.19).

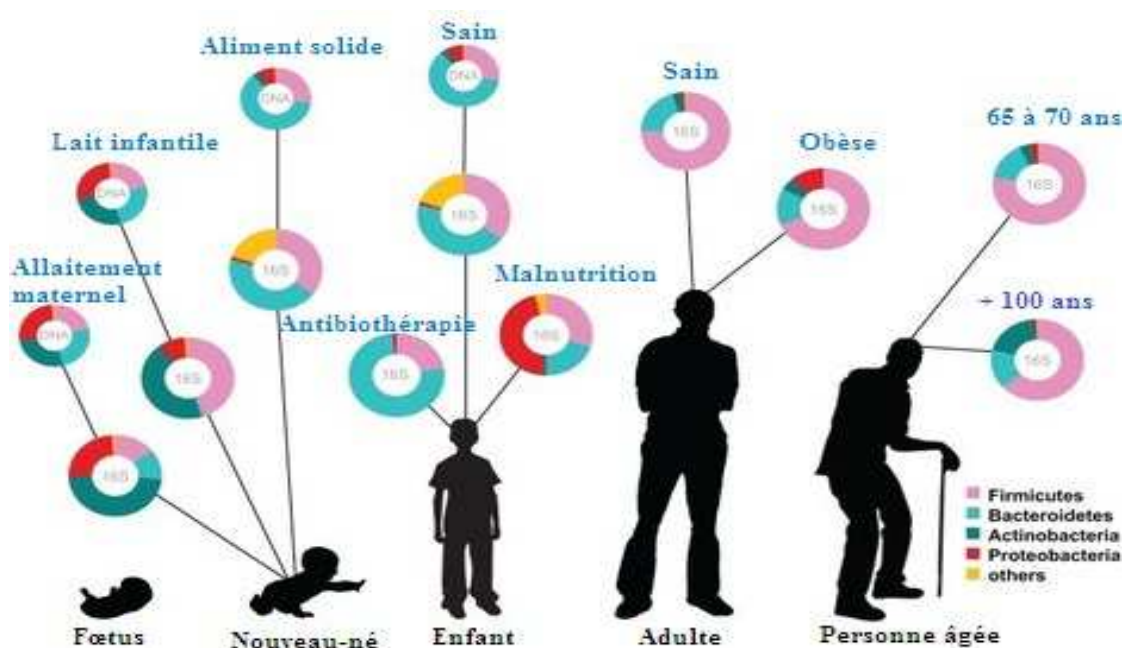


Figure N°19: Évolution du microbiote intestinal selon l'âge et les facteurs environnementaux

Cependant, l'âge seuil à partir duquel le microbiote commence à être touché par le processus de vieillissement reste difficile à définir. Dans ce sens, afin de préciser l'âge seuil et l'effet de l'âge sur le microbiote, une étude a été réalisée sur trois populations d'italiens séparées en gamme d'âge étroites : des adultes jeunes (âgés de 25-40 ans), des personnes âgées (de 63-76 ans) et des centenaires (âgés de 99 à 104 ans) ont été recrutés [142]. Cette étude a souligné que le microbiote fécal des adultes jeunes et celui des personnes âgées de 63-76 ans étaient relativement similaires et que seul le microbiote intestinal provenant de personnes centenaires se démarquait nettement. Ceci peut être expliqué par les modifications physiologiques affectant le microbiote digestif durant le processus de vieillissement : une diminution des perceptions olfactives et gustatives causant un goût fade et sans intérêt aux aliments [148], des problèmes de mastication causés par la perte des dents [149], des problèmes de déglutition, la malabsorption du calcium, du fer ferrique et de la vitamine B12, en raison de l'hypochlorhydrie [150], ainsi que l'augmentation des enzymes de dégradation de l'amidon telles que les glycosidases et les glucane phosphorylases (ce qui pourrait être une réaction à la diminution de l'efficacité de la répartition de l'hôte des glucides) [151], et également la préprotéine translocase secA [87], sont tous des éléments susceptibles d'entraîner une diminution et un déséquilibre de l'alimentation. En outre, le vieillissement est associé à un ralentissement du transit intestinal et à une réduction de poids de la matière fécale [142]. Ceux-ci par la suite réduisent l'excrétion bactérienne, augmentent la production d'endotoxines, en raison de l'accroissement des entérobactéries et augmentent la fermentation bactérienne de protéines et par conséquent, le niveau d'ammoniaque et des phénols sont générés au cours du processus de putréfaction [152].

Plusieurs études ont noté que chez les personnes âgées, la fonctionnalité du système immunitaire décline à la suite d'un processus connu sous le nom « immuno-sénescence ». Par ailleurs, l'ensemble du vieillissement de l'organisme est également caractérisé par un état inflammatoire chronique de bas grade appelé « inflamm-ageing ». Certaines études suggèrent qu'une réponse immunitaire anormale envers certains membres du microbiote intestinal puisse être à l'origine ou aggraver le phénomène d'« inflamm-ageing ». Cela pourrait impliquer une réduction de la tolérance mucoale au microbiote commensal ou des changements même au sein de la communauté microbienne. En fait, il a été noté dans l'étude

de Biagi que l'augmentation des entérobactéries semblait être corrélée positivement à une augmentation de signaux pro-inflammatoires. Or, dans une autre étude les entérobactéries étaient plus abondantes lorsque les personnes âgées présentaient un indice de fragilité important, cet indice a été évalué sur la base d'un questionnaire tenant compte de la capacité de la personne à se mouvoir et de facteurs psychosociaux [142].

c. Le sexe

Les différences entre les hommes et les femmes sont infinies. En effet, on a observé beaucoup de maladies auto-immunes plus fréquentes chez les femmes que chez les hommes (le lupus par exemple). Cependant, les raisons de ce biais lié au sexe ne sont pas très connues et l'influence de celui-ci est toujours controversée. Une étude de diabète publiée en 2013 a utilisé des souris NOD élevées dans des conditions normales et autres souris NOD axéniques, a révélé que le diabète est 2 fois plus fréquent chez la femelle que chez le mâle lorsque ces souris sont élevées dans des conditions normales (fig.20A), cette différence de fréquence de la maladie disparaissait si les souris étaient élevées dans un milieu sans germes (fig.20B) [141]. En testant la composition des microbiotes mâle et femelle, les chercheurs ont conclu que la différence entre les souris mâles et femelles apparaît à la puberté (l'âge de 6 semaines) et s'accroît à l'âge adulte, ensuite ils ont transféré des bactéries intestinales de souris mâles adultes à des souris femelles avant leur puberté (et avant l'apparition de la maladie). Quelques semaines plus tard, le microbiote présent chez ces femelles n'était plus complètement «femelle», mais n'était pas non plus complètement «mâle». Néanmoins le changement était suffisant pour réduire l'incidence du diabète chez ces femelles à microbiote «masculinisé» par rapport à des femelles normales. En outre, les chercheurs ont montré que cet effet dépendait de l'activité de la testostérone. Cette étude met aussi directement en évidence l'existence d'une interaction entre les bactéries commensales, les hormones sexuelles et la susceptibilité à certaines maladies [141].

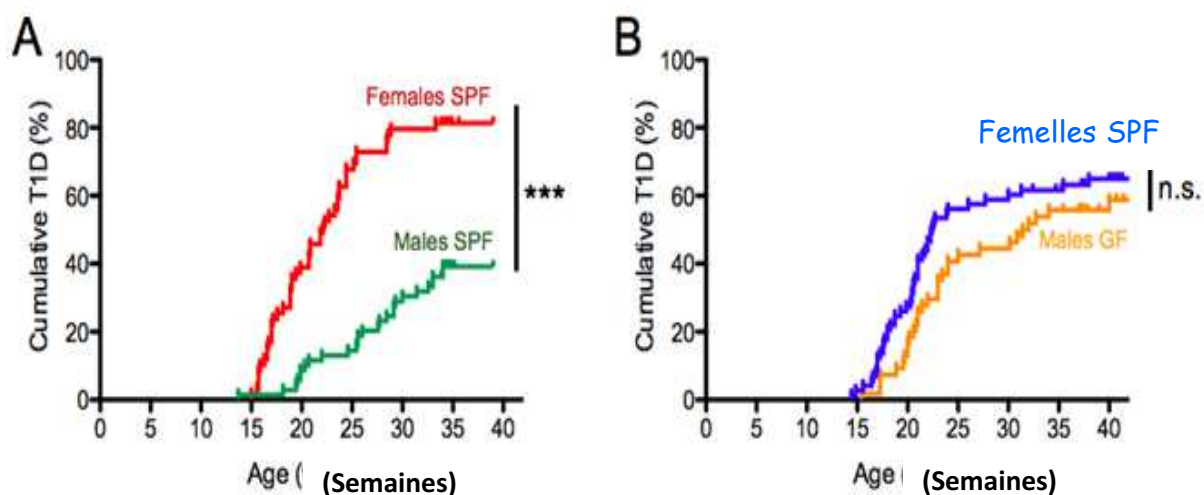


Figure N°20 : Différence de fréquence du diabète entre des souris mâles et femelles

(A): Souris NOD dans des conditions normales SPF (Specific Pathogen Free)

(B): Souris NOD dans des conditions exemptes de germes GF (Germ Free)

Des chercheurs de l'université du Texas ont aussi tenu compte de l'impact du genre et de la nutrition sur le microbiote, et ils ont fait une découverte surprenante : le même régime aurait un effet considérablement différent sur le microbiote intestinal des hommes et des femmes [153]. Dans cette étude, les scientifiques ont exploité le microbiote intestinal de deux espèces de poissons et d'un groupe de souris, et ont analysé à nouveau en profondeur les données d'études précédentes réalisées sur des humains. Ces analyses ont révélé que chez les souris, les variations microbiennes liées au genre étaient moindres (pour une raison encore inconnue), tandis que dans les systèmes digestifs des humains et des poissons, les altérations microbiennes dues à l'alimentation différaient nettement entre mâles et femelles, y compris la diversité des espèces et la population. En fait, les chercheurs ont lié cette différence aux hormones sexuelles en favorisant la présence de certaines souches bactériennes au détriment des autres. Ainsi, le système immunitaire, dont le fonctionnement diffère entre mâle et femelle pourrait déterminer le type de microbes logés dans le microbiote intestinal.

Une plus grande diversité de bactéries intestinales a été liée à un risque moindre de maladies comme le diabète et l'obésité, ainsi que de maladies inflammatoires chroniques de

l'intestin. Voilà ce qui rend ces résultats si intéressants, car ils suggèrent que les thérapies conçues pour améliorer la santé humaine par la manipulation du microbiote intestinal devraient tenir compte du sexe du patient. Par ailleurs, la prévalence de certaines maladies en fonction du genre devrait sans doute être réexaminée pour ces interactions spécifiques entre l'alimentation et le sexe. Malheureusement, pour l'heure, cette étude ne peut pas être traduite en conseils nutritionnels adaptés à chaque sexe.

d. La physiologie du tractus gastro-intestinal

1. Modification anatomique du tractus GI

Il s'est avéré qu'en absence du microbiote intestinal, la physiologie du tube digestif n'atteint pas sa maturité. Réciproquement, des travaux ont montré que les altérations post-natales du côlon sont associées à des changements de composition et d'activité métabolique du microbiote chez les rats RCIU (Retard de Croissance Intra-Utérin). Cependant les mécanismes établissant le lien entre le microbiote et la programmation précoce des fonctions intestinales ou colique sont encore mal connus [154,155].

La chirurgie bariatrique est une technique lourde, réservée uniquement aux personnes souffrant d'obésité sévère, elle est considérée actuellement comme le seul traitement permettant une perte de poids substantielle et durable ainsi que la réduction des comorbidités associées à l'obésité (fig.21). Pourtant, un changement radical a été noté dans la composition microbienne après ce remède. D'ailleurs le bypass gastrique induit une myriade de modifications autre que la perte de masse grasse [156]. Une étude de la composition du microbiote a été réalisée par pyroséquençage sur un très petit effectif composé de 3 patients dans chaque groupe : poids normal, obèse avant et après chirurgie [157], mais les patients avant et après chirurgie n'étaient ni identiques ni explorés aux même temps postopératoires.

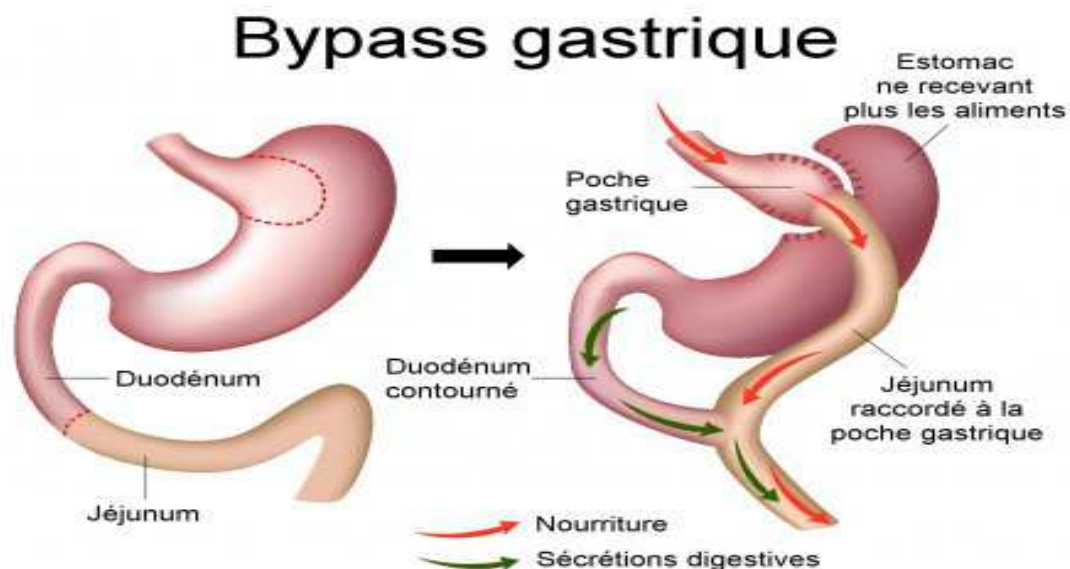


Figure N° 21 : schéma de Bypass gastrique

Également une autre étude a utilisé une approche plus ciblée par RT-qPCR mais sur un plus grand effectif de 30 patients obèses bien phénotypés avant, 3 et 6 mois après l'intervention [158], qui ont été comparés à des patients de poids normal. Cette étude a montré que le phylum des *Firmicutes* domine chez les patients de poids normal et chez les obèses avant la chirurgie et diminue drastiquement après la chirurgie. Ainsi il existe une spécificité bactérienne qui n'existe que chez les obèses : la présence de bactéries des *Prevotellaceae* capables de favoriser le stockage de l'énergie dérivant de la dégradation de polysaccharides non digestibles. D'autre part, la chirurgie est associée à une augmentation des *Gammaproteobacteria* [157].

De plus, le ratio *Bacteroides/Prevotella* est inférieur chez l'obèse comparé aux témoins, augmente 3 mois après la chirurgie puis se stabilise. De manière vraiment intéressante et nouvelle, les chercheurs ont pu relier ces changements à certains paramètres cliniques et biologiques. Ainsi l'augmentation de ce ratio a été corrélée à certains traits de corpulence (IMC, masse grasse et les taux de leptine) mais cette association est très liée aux apports

alimentaires [156]. Par ailleurs, l'augmentation des *Faecalibacterium prausnitzii* après la chirurgie est très associée à la réduction de l'inflammation de bas grade indépendamment des apports caloriques. *Faecalibacterium prausnitzii* est abaissé chez les obèses diabétiques et augmentent après la chirurgie suggérant que les changements observés après chirurgie peuvent être dépendant de certaines caractéristiques préopératoire en particulier les traits métaboliques [158].

Une résection étendue du grêle suite à une insuffisance intestinale, entraîne une malabsorption intestinale grave imposant une nutrition parentérale, ce qui oblige le côlon de s'adapter après une résection du grêle. C'est ce qu'on appelle le syndrome du grêle court (SGC). L'analyse bactériologique fondée sur les méthodes de culture a montré que le microbiote des patients atteints de SGC est principalement composé de lactobacilles [159,160]. D'ailleurs, Une étude récente utilisant l'électrophorèse en gel avec gradient de température (TTGE) et la PCR quantitative, a montré chez des patients adultes atteints de SGC que les groupes fécaux et muqueux dominants étaient principalement composés de lactobacilles et, dans une moindre mesure, de *Bifidobactéria* [161]. Les bactéries qui rendent compte habituellement d'une proportion allant jusqu'à 90% de la communauté microbienne normale, étaient absentes, par exemple *Clostridium leptum* ou *Clostridium coccoides*, ou sous représentées, comme les Bacteroidetes. Une espèce bactérienne, désormais connue sous le nom de *Lactobacillus mucosa*, n'est jamais détectée chez l'Homme sain, mais elle est présente dans le microbiote fécal et dans le microbiote associé aux muqueuses chez les patients atteints de SGC. *L. mucosa* est probablement spécifique du SGC car il n'a jamais été décrit comme faisant partie du microbiote intestinal chez l'homme sain [162].

2. L'acidité gastrique

La sécrétion d'acide gastrique constitue un facteur de défense contre la colonisation du tube digestif d'aval par des pathogènes [163], un déficit en acidité (hypochlorhydrie) a pour conséquence une malabsorption des nutriments, de plus de 20 nutriments essentiels, dont des acides aminés indispensables au renouvellement cellulaire, des minéraux, et des vitamines, en particulier la vitamine B12 (cobalamine) [164]. De plus, une achlorhydrie peut engendrer une prolifération bactérienne, du fait qu'en absence d'acidité gastrique, le bol alimentaire arrive

non stérilisée dans l'intestin grêle, qui n'est pas adapté à cette situation. Il est important de noter que le nombre de bactéries nécessaires pour déclencher une infection est réduit [165]. En outre, le suc gastrique stimule le mouvement de l'intestin grêle (péristaltisme) et lance la production des sucs pancréatiques et de la bile. Alors, sans acidité gastrique, le foie ne reçoit pas ce signal, entraînant une production biliaire déficitaire.

3. Péristaltisme

Quand la quasi-totalité du repas a été absorbée, le complexe moteur migrant remplace la segmentation qui était la principale modalité de motilité pendant la digestion du repas. Ce complexe est fait d'une succession de faibles contractions péristaltiques qui progressent sur une courte distance le long de l'intestin avant de mourir. Elles commencent à l'estomac et migrent le long de l'intestin. Chaque onde péristaltique nettoie l'intestin grêle en poussant vers le côlon les restes du repas précédent, les débris de muqueuse et les germes [31]. Et ensuite le côlon prend le relais, les segments du côlon ascendant et du côlon transverse se contractent simultanément, ce qui propulse les selles un tiers à trois-quarts de la longueur du côlon. Ceci pousse le contenu du côlon vers la partie distale du gros intestin où il est stocké jusqu'à défécation [31]. Certes, la motricité soit intestinale ou colique joue le rôle d'«housekeeper», alors une diminution du péristaltisme entraînera une riche colonisation bactérienne [166].

4. Les sécrétions digestives

Une fois admis dans l'intestin, le contenu gastrique est mélangé non seulement au suc sécrété par la muqueuse de l'intestin grêle mais aussi aux sécrétions biliaire et pancréatique déversée dans le duodénum [167]. En fait, il a été montré que les acides biliaires aient des propriétés antimicrobiennes. Des variations assez faibles de ces acides dans l'intestin peuvent influencer, par exemple, significativement la survie de lactobacilles ou bifidobactéries ingérés [168]. De plus, des résultats expérimentaux ont suggéré que le suc pancréatique puisse aussi exercer un effet antimicrobien. D'autre part, l'influence des sécrétions intestinales, en particulier le mucus et les défensines, n'est que partiellement connue. Le mucus non seulement forme une barrière physique entre la lumière et les cellules épithéliales de l'estomac, de l'intestin grêle et du côlon. Mais aussi concentre dans son réseau de mailles de

nombreuses substances antimicrobiennes comme les immunoglobulines A (IgA) sécrétoires, la lactoferrine, la lactoperoxydase et le lysozyme. Il a aussi la capacité de fixer divers micro-organismes grâce à ses sucres qui miment les récepteurs bactériens. Les défensines sont des peptides antimicrobiens sécrétés dans les cryptes intestinales par les cellules de Paneth qui en colonisent la partie basale [169]. Ils agissent par destruction de la membrane bactérienne et sont actifs notamment contre *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* et *Candida albicans* [170]. Alors, la diminution de la sécrétion de ces antimicrobiens, soit par le jeûne ou par une alimentation parentérale totale, entraînera une prolifération microbienne.

5. Système immunitaire intestinal

En dépit de la nature symbiotique de la relation hôte-microbiote, la forte charge microbienne sur la muqueuse intestinale représente sans aucun doute une menace persistante pour l'hôte. Pour faire face à ce risque, le système immunitaire gastro-intestinal a été forgé pour tolérer le microbiote intestinal en limitant les réactions inflammatoires [171]. Mais, comme nous l'avons vu précédemment, cette fonctionnalité décline chez les sujets âgés à la suite de l'immuno-sénescence.

L'impact du système immunitaire pourrait être étayé par la constatation de perturbations du microbiote. Du fait qu'au cours des déficits immunitaires, déficit sélectif en IgA ou des hypogammaglobulinémies communes variables, il a été noté un risque accru d'infections intestinales récurrentes, particulièrement la giardiase. Ainsi, en fonction de la profondeur du déficit immunitaire au cours du syndrome d'immunodéficience acquise (sida) non traité, il a été constaté un risque accru des colites bactériennes (*Campylobacter jejuni* et *coli*, *Salmonelles*, *Clostridium difficile*) puis d'infections à cytomégalovirus, à divers protozoaires, à mycobactéries ou à champignons [169].

B. Facteurs environnementaux

a. Avant, pendant et après l'accouchement

1. L'exposition microbienne prénatale

La plupart des bactéries du microbiote intestinal ne se multiplient pas dans l'environnement et sont transmises par des contacts de personnes à personnes. Il s'est avéré que les nouveau-nés « héritent » des bactéries du microbiote intestinal de leur mère bien avant leur délivrance. En se basant sur l'hypothèse des origines développementales de la maladie de

l'adulte, l'environnement prénatal a été impliqué dans le développement tardif de la maladie, le faible poids de naissance ou dénutrition prénatale étant liée à son poids d'adulte, le diabète type 2, l'hypertension et la maladie coronarienne. L'exposition microbienne maternelle pendant la gestation peut avoir des effets directs sur le fœtus, le développement de son système immunitaire [172] et son état de santé à long terme [173].

Plusieurs travaux ont suggéré l'existence d'une colonisation très précoce in utero par la présence d'un microbiote placentaire et dans le méconium [48]. D'ailleurs, une étude récente transversale a été réalisée sur 195 patientes, a démontrée l'existence des bactéries intracellulaires Gram positif et Gram négatif dans près d'un tiers des échantillons placentaires, avec une prévalence élevée parmi les accouchements prématurés <28 semaines de gestation, mais indépendamment de la preuve clinique ou pathologique de chorioamniotite [174]. D'autre part, le microbiome placentaire n'a pas été fortement interrogé, malgré les manifestations récentes de bactéries intracellulaires avec les fonctions métaboliques et immunitaires. Une étude cas-cohorte comparative de la technique à base d'ADNr 16S et la technique Whole-genome shotgun (WGS) de spécimens placentaires recueillis dans des conditions stériles de 320 femmes enceintes avec grossesse saines, a démontré l'existence d'un microbiome placentaire unique dont la composition est semblable à celle de la cavité buccale, composée de microbiote commensal non pathogène contenant les phylums des *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroides* et *Fusobacterium* [175]. Par ailleurs, l'exposition bactérienne directe du fœtus par le liquide amniotique, qui est généralement stérile, peut avoir des effets délétères. Les chercheurs ont identifiés l'ADN ribosomique bactérien, des bactéries de *Leptotrichia spp* et d'autres espèces apparentées dans le liquide amniotique des femmes après accouchement prématuré [173]. En fait, des études suggèrent que la prématurité est positivement associée à la charge bactérienne, même en l'absence de rupture des membranes [173]. De plus, la signification clinique de l'identification microbienne dans le liquide amniotique n'a pas été totalement identifiée, les chercheurs ont suggéré que les microbes dans le liquide amniotique avalés par le fœtus pourraient inciter des translocations bactériennes à travers l'épithélium intestinal, provoquer l'inflammation et potentiellement stimuler la contraction utérine et puis un accouchement prématuré [176].

D'autre part, l'exposition maternelle aux microbes pendant la grossesse semble jouer un rôle dans le fonctionnement immunitaire postnatal, en particulier en ce qui concerne l'allergie [177-179]. En effet, l'exposition prénatale maternelle aux animaux domestiques (chats et chiens) a été associée à une faible concentration d'IgE détecté dans le sang de cordon [180], une augmentation du nombre et de fonction des cellules T régulatrices, ainsi une diminution d'incidence des allergies infantiles [179,180]. D'ailleurs, les femmes enceintes exposées aux fermes et aux animaux de la ferme, étaient moins susceptibles d'avoir des enfants allergiques et asthmatiques [177,181], ainsi le degré et la diversité de l'exposition maternelle aux microbes peuvent également avoir un impact. Les chercheurs ont détecté des niveaux plus élevés des composants de l'immunité innée, les récepteurs Toll-like (TLR2, TLR4, et CD14), chez les enfants nés des mères qui ont été exposées à des écuries pendant la période prénatale. Les travaux ont montré le potentiel des fragments allergènes de traverser le placenta et les cellules T naïves fœtales résultant une forme d'immunité naturelle pendant la gestation. Ces petits immunogènes avec les réponses immunologiques maternelles à l'exposition microbienne semblent façonner l'environnement immunologique du fœtus, ce qui par la suite peut affecter la prédisposition aux maladies postnatales [182].

2. Le mode d'accouchement

Alors qu'un accouchement par voie naturelle favorise le contact du nouveau-né avec la flore de sa mère (flore vaginale et fécale) [59], la naissance par césarienne favorise les interactions avec les bactéries de l'environnement, le mode d'accouchement influence fortement les conditions de la colonisation du tractus gastro-intestinal du nouveau-né. D'ailleurs, des études rapportent que les enfants nés par césarienne présentent une composition du microbiote différente de celle des enfants nés par voie basse [56,183]. Après accouchement par voie naturelle, les nouveau-nés acquièrent des communautés bactériennes proches du microbiote vaginal de leur propre mère [55], dominées par *Lactobacillus*, *Prevotella* ou *Sneathia spp.* Les enfants nés par césarienne ont des communautés bactériennes similaires à celles trouvées sur la surface de la peau, dominées par *Staphylococcus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium* [49,56,184]. Par ailleurs, une naissance par césarienne s'accompagne également le plus souvent de l'acquisition retardée des groupes dominants

usuels *Bifidobacterium*, *Bacteroides* et *Lactobacilles* un mois plus tard que dans le cas de naissances par voie basse [52,184,185]. Ainsi, l'établissement de *Clostridium perfringens* est favorisé lors de la naissance par césarienne : tandis que le taux de colonisation de ces bactéries chez un nouveau-né venu au monde par césarienne est de 57%, il est estimé à 17% pour une naissance par voie vaginale [184].

Une naissance par césarienne constitue un facteur de risque indépendant dans le développement de plusieurs maladies, y compris l'allergie, l'asthme et la gastro-entérite [186,187], une méta-analyse de 23 études liant le mode de naissance et l'allergie a montré une augmentation de 20% dans le développement de l'asthme chez les enfants nés par césarienne par rapport aux enfants nés par voie naturelle [187]. Le risque d'allergie augmente de plus de 7 fois si les enfants nés de mères ayant des antécédents d'allergie et qui étaient également délivrés par césarienne. Ces relations demeurent significatives après ajustement des variables confondantes, y compris l'allaitement à courte durée [188]. De plus, un accouchement par césarienne a été identifié comme facteur de risque de diabète type 1. En effet, une méta-analyse récente a montré une augmentation de 20% de risque de diabète type 1 débutant dans l'enfance associé à l'accouchement par césarienne, ce qui n'a pas été expliqué par les facteurs confondants connus [189].

Dans une grande étude rétrospective, cas-témoin, multicentrique, la naissance par césarienne a été associée à la maladie cœliaque, des enfants atteints de cette maladie étaient nés par césarienne par rapport aux sujets témoins. Pourtant, aucune relation n'a été trouvée avec la maladie de Crohn ou la colite ulcéreuse [190]. En plus, des études récentes suggèrent que l'obésité et le syndrome métabolique peuvent être associés à des changements dans le microbiote [191,192]. Une étude de cohorte prospective a montré qu'à l'âge de 3 ans, le risque d'obésité est 2 fois plus chez les nourrissons nés par césarienne, même après ajustement du poids de naissance, l'indice de masse corporelle de la mère. Bien que les mécanismes de causalité et potentiel restent à élucider, plusieurs preuves montrent une relation entre l'établissement du microbiote en début de vie et les manifestations phénotypiques ultérieures de l'hôte, y compris les changements dans l'adiposité et les altérations métaboliques [193].

L'influence du mode d'accouchement sur la colonisation bactérienne du nouveau-né doit interpellier les obstétriciens et les pédiatres. L'augmentation des naissances par césarienne dans les pays occidentaux est préoccupante et répond à des causes multiples [194]. Elle ne peut en aucun cas être considérée comme une amélioration de la qualité de la médecine périnatale. Surtout que cette méthode d'accouchement est considérée comme un facteur de risque pour les maladies chroniques qui se manifestent bien au-delà de la période périnatale. Cette reconnaissance devrait encourager une prise de conscience de ces risques accrus, et servir comme argument supplémentaire contre la non-indication médicale de la césarienne.

3. La date du terme de la grossesse

L'implantation du microbiote intestinal diffère entre les nouveau-nés prématurés et à terme [52]. Ceci est lié aux particularités physiologiques du nouveau-né prématuré et aux multiples facteurs externes produits par le milieu hospitalier : mode de naissance, type d'alimentation, antibiothérapies, réanimation.... La colonisation par les lactobacilles et les bifidobactéries prend place de façon plus tardive [185]. Cela peut être lié au fait que les prématurés naissent souvent par césarienne et sont mis dans un environnement aseptique après la naissance, donc ne sont pas tout de suite en contact avec leurs mères. De plus, en fonction du terme de naissance, le mucus de l'intestin du nouveau-né présente des variations du degré de maturité [195], ce qui peut moduler la colonisation bactérienne.

Cette implantation différente est corrélée à des complications de la prématurité telles que l'entérocolite ulcéro-nécrosante ou les bactériémies à staphylocoques à coagulase négative. *Staphylococcus*, *Enterococcus* et entérobactéries dominent successivement le microbiote intestinal des nouveau-nés très prématurés (fig. 22) [37].

Pourcentage de nouveau-nés colonisés

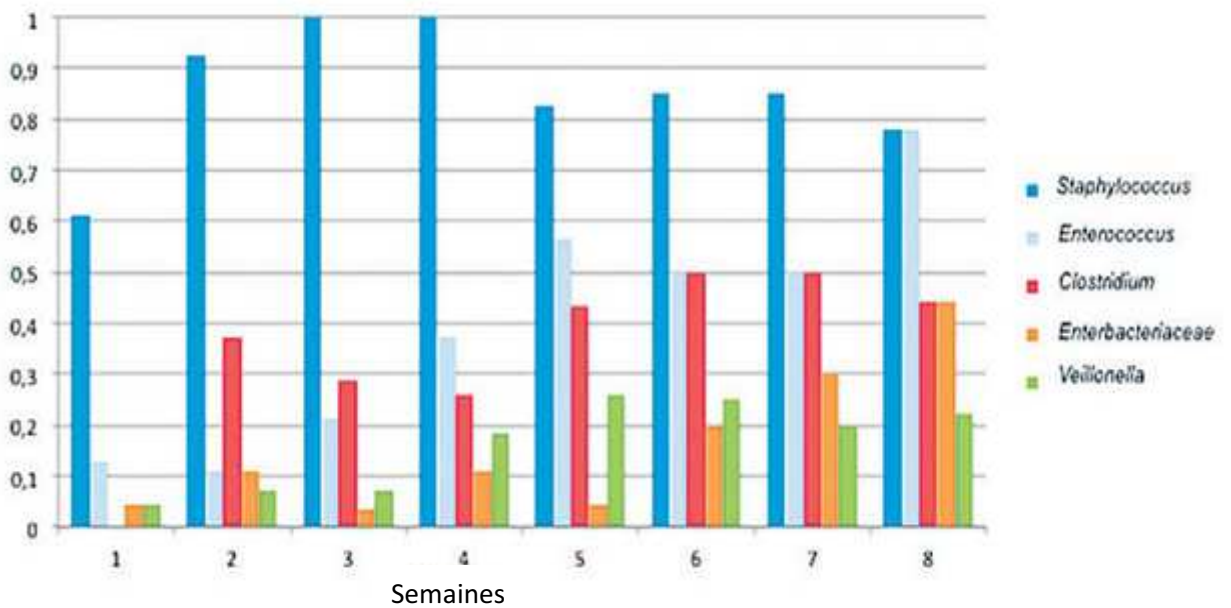


Figure N° 22: Évolution des 5 principaux groupes bactériens du microbiote intestinal des nouveau-nés prématurés durant les 8 semaines de vie : pourcentage de nouveau-nés colonisés en fonction du temps.

Les SCN, principalement *S.epidermidis*, sont détectés chez tous les nouveau-nés et sont les plus représentés dès les premiers jours de vie. Le pourcentage d'enfants colonisés par les entérocoques, Clostridium et entérobactéries augmente nettement vers la 5^e semaine de vie lorsque le pourcentage de nouveau-nés porteurs de staphylocoques commence à diminuer. Les entérocoques, présents chez 60% des nourrissons, sont dès le début, très représentés et colonisateurs persistants de l'intestin des nouveau-nés prématurés. Plus tard les espèces de la famille des Enterobacteriaceae et le genre Clostridium apparaissent et sont isolés chez respectivement 1/3 et 2/3 des nouveau-nés. Veillonella a une forte représentation (un quart des nourrissons colonisés) et, est capable de coloniser l'intestin des prématurés de façon persistante. Les genres *Anaerococcus*, *Aquabacterium*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Oceanobacillus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rothia*, *Sarcina*, *Sneathia* et *Streptococcus* sont observés comme colonisateurs transitoires ou persistants, chaque genre étant trouvé chez une minorité de nourrissons [37].

4. Stress pré et néonatal

La barrière intestinale est en contact constant avec des éléments extérieurs contenus dans la lumière intestinale. Cette interface évolue et, est sensible à de nombreux facteurs environnementaux, y compris des éléments psychologiques comme le stress ou l'anxiété. Le stress se définit comme étant une menace, aiguë ou chronique vis-à-vis de l'homéostasie de l'individu, il induit une réponse adaptative de l'organisme, nécessaire pour la stabilité de l'individu, afin d'assurer sa survie. Toutefois, il se transforme en un problème majeur en cas de rupture entre la capacité d'adaptation et les éléments extérieurs qui influent l'individu et particulièrement la femme enceinte.

De nombreuses études scientifiques ont déjà associé le stress chez les femmes enceintes aux naissances prématurées, le faible poids de naissance, certaines maladies de la peau, l'asthme, ou même l'anxiété et le trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité (TDAH). En revanche, le mécanisme sous-jacent demeure encore confus. Une étude très récente publiée en Janvier 2015 a apporté quelques éclaircissements au sujet de ce lien entre le stress des femmes enceintes et le microbiote de leurs bébés. Selon les auteurs de l'étude, les bébés de mères ayant subi des niveaux de stress élevés pendant de longues périodes au cours de leur grossesse ont davantage de probabilités d'être atteints de troubles intestinaux et de réactions allergiques. Les scientifiques ont recruté 56 femmes enceintes et ont évalué le niveau de stress de la mère au moyen d'un questionnaire et de l'analyse de leur salive pour mesurer la concentration en cortisol (hormone de stress), par la suite, les chercheurs ont prélevé des échantillons de selles des nourrissons de 7 jours à 4 mois après leur naissance, afin d'examiner leur microbiote. Ils ont constaté qu'une corrélation existe entre les mères soumises à un niveau élevé de stress et la composition du microbiote dans l'intestin des nouveau-nés. En effet, ces enfants avaient des concentrations relativement plus élevées de bactéries du groupe des *Proteobacteria*, famille qui, selon les auteurs, contiendrait davantage d'agents pathogènes (*Escherichia*, *Serratia* et *Enterobacter*) et moins de *Lactobacillus*, *Aerococcus* et *Bifidobacterium* [196]. Bien qu'il ne s'agisse encore que d'une théorie, les experts spéculent d'ores et déjà sur le fait que le cortisol pourrait interférer avec la production de bile, ce qui à son tour influencerait sur les bactéries intestinales. Ils soulignent aussi que cette hormone de stress pourrait traverser le placenta et augmenter les niveaux de cortisol du fœtus,

affectant ainsi le développement du tractus GI. Cependant, le mécanisme par lequel le stress maternel prénatal influencerait le développement du fœtus demeure inconnu à ce jour et sa compréhension nécessiterait de recherches plus poussées.

D'autre part, le stress néonatal résultant d'une séparation de la mère, peur de l'eau ou manipulation répétée des animaux induit des altérations à long terme dans les fonctions coliques et affecte également la colonisation bactérienne du tube digestif [197]. En effet, les individus séparés précocement de leur mère présentent une densité de bactéries adhérentes à la muqueuse colique et une concentration de bactéries dans la rate, 10 à 100 fois plus élevées que chez les congénères non séparés [198]. À l'inverse, les concentrations coliques de lactobacilles sont réduites d'un facteur de dix [199]. Les troubles fonctionnels coliques incluent une augmentation de la sécrétion d'ions et de mucus et des perméabilités trans et paracellulaires épithéliales, conduisant finalement à une inflammation intestinale. Ces dysfonctionnements trouvent leur source dans le système nerveux, central et périphérique, aux niveaux de la régulation cholinergique, du CRF (*corticotropin-releasing factor*) et de facteurs de croissance des nerfs (par exemple le NGF). Le mastocyte apparaît être une cellule immunitaire centrale à ces altérations fonctionnelles; il est stimulé par les terminaisons nerveuses locales et il contrôle les échanges ioniques et la perméabilité épithéliale intestinale en libérant des médiateurs de manière dépendante des facteurs cités ci-dessus (le CRF et le NGF notamment). Ces régulations neuro-immunes des fonctions coliques sont également rapportées chez l'homme. Le CRF, les neurokines (via les récepteurs NK1) et les mastocytes sont aussi impliqués dans l'hyperalgésie intestinale à long terme induite par une séparation maternelle [200,201]. Ce stress précoce augmente la densité tissulaire des nerfs et réduit la distance entre terminaisons nerveuses et mastocytes dans la muqueuse colique du rat adulte [201]. Elle perturbe la distribution tissulaire des cellules à mucus et des cellules de Paneth dans le jéjunum, de manière dépendante du CRF. Elle réduit également l'expression du facteur de transcription Klf4 (kruppel-like factor 4) [202], ce qui suggère la sensibilité de ce facteur à une programmation précoce en réponse au stress.

Les troubles fonctionnels coliques associés (Hyperperméabilité par exemple) peuvent être résolus dans ces modèles expérimentaux, par consommation de lactobacilles par les petits pendant la phase de séparation de la mère.

5. L'environnement du lieu de naissance

L'environnement immédiat en début de vie peut également affecter la composition du microbiote. Le microbiote intestinal des enfants nés en milieu rural est différent de celui des enfants nés en milieu urbain. Cette différence se retrouve lorsqu'on compare les enfants nés à domicile à ceux nés à l'hôpital. L'étude du microbiote des enfants nés prématurément en milieu hospitalier confirme que la colonisation bactérienne néonatale peut être influencée par les soins périnataux [269, 271], les traitements antibiotiques ou les soins en couveuse ont été corrélés à une colonisation insuffisante en bifidobactéries et en lactobacilles [185,203], ainsi qu'à une colonisation plus importante avec des germes pathogènes anaérobies, notamment *Clostridia* spp [204], qui est associé à une morbidité néonatale accrue. Par ailleurs, ces modes de traitement augmentent le risque de colonisation par des germes pathogènes anaérobies facultatifs, parfois multirésistants aux antibiotiques (*Klebsiella* spp, *Citobacter* spp, *Enterobacter* spp, etc). Le risque d'infections nosocomiales et d'entérocolite nécrosante en rapport avec ce type de germes est bien connu [57].

D'autre part, selon l'hypothèse hygiéniste formulée au début des années 1990 [205], la maladie allergique pourrait résulter d'une diminution de l'exposition aux bactéries dans les premiers mois de vie. Du fait que les nouveau-nés aient une immunité de type Th2 en période périnatale, nécessaire au maintien de la grossesse in utero, mais aussi propice à la survenue d'une allergie. L'exposition précoce à certaines bactéries de la flore intestinale serait essentielle pour rétablir un équilibre en stimulant la réponse Th1 et permettrait la mise en place de cellules régulatrices, afin de contrôler la réponse immunitaire et induire la tolérance aux antigènes étrangers. De plus, la supplémentation précoce en probiotiques semblerait réduire le risque ultérieur de manifestations atopiques [206], augmentant l'hypothèse que le développement postnatal et l'homéostasie du système immunitaire intestinal dépend de la mise en place d'un microbiote commensal riche et complexe.

6. Pays de naissance

L'établissement du microbiote intestinal dépend du degré d'exposition aux bactéries. Les conditions d'hygiène entourant un accouchement influencent directement l'implantation du microbiote. Cela explique pourquoi en général, le microbiote intestinal est différent entre des

enfants nés dans les pays en voie de développement par rapport aux pays industrialisés [207]. Au cours des dernières décennies, la colonisation précoce par les entérobactéries (*E. coli*) semble avoir fortement diminuée dans les pays industrialisés, par rapport au passé (de quelques jours à 6 mois) et par rapport aux pays en voie de développement [208,209], apparemment du fait des procédures d'obstétrique et d'hygiène strictes appliquées aujourd'hui dans les maternités au moment de la naissance semblent être à l'origine de la réduction de l'exposition aux microorganismes provenant de la mère et de l'environnement [210]. Des bactéries habituellement associées à la peau (*Staphylococcus spp*) apparaissent alors dans la flore dominante précoce [211].

D'autre part, des études ont indiqué qu'il existe un impact du pays de naissance en Europe et qu'il existe notamment un gradient Nord-Sud tel que le microbiote fécal des enfants à 6 semaines de vie est plus fortement colonisé par *Bifidobacterium* dans les pays du Nord (Suède, Écosse). Alors que le genre *Bacteroides* domine plus précocement un microbiote plus diversifié dans les pays du sud (Italie, Espagne) (fig.23) [212].

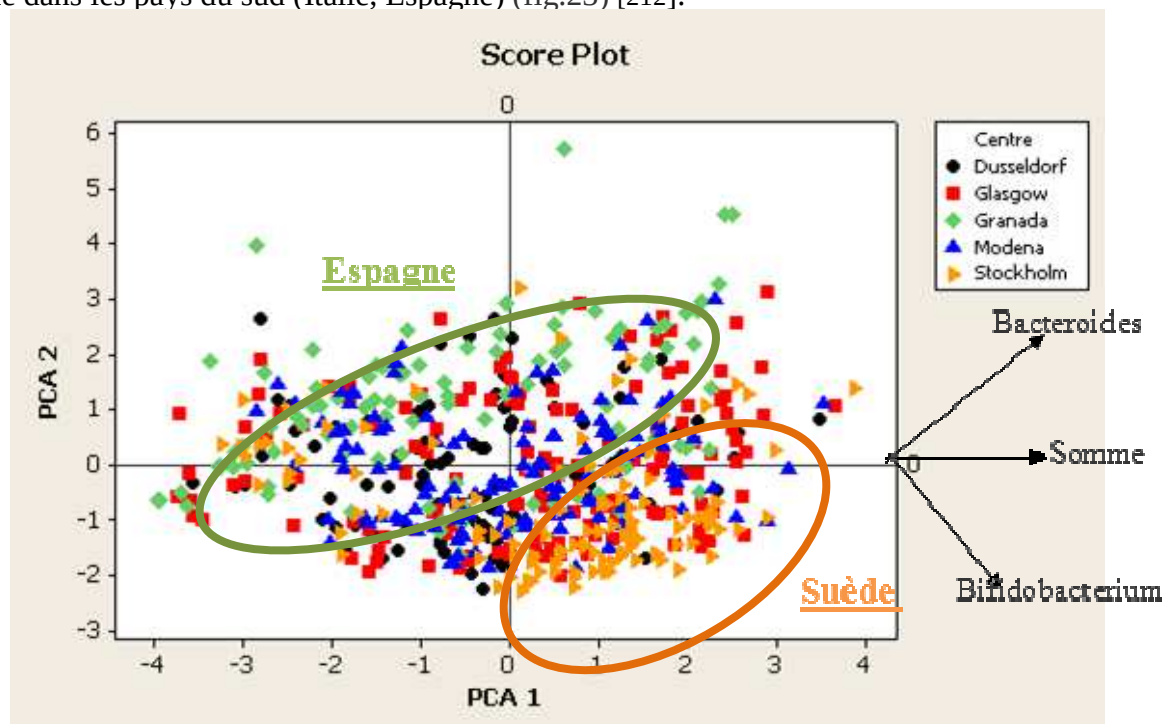


Figure N°23: Gradient Nord-Sud : de la Suède à l'Espagne : plus de *Bifidobacterium* au Nord ; une diversification plus précoce au Sud

7. Le type d'allaitement

Il a longtemps été admis que le lait maternel pourrait être le vecteur de microorganismes de la mère vers l'enfant. Ainsi, même collecté aseptiquement, le lait de femme n'est pas stérile [213]. En effet, une étude réalisée sur des échantillons de lait maternel de 20 femmes et des échantillons fécaux de leurs nourrissons exclusivement nourris au sein a révélée la présence d'ADN de *Staphylococcus*, *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* dans tous les échantillons à l'exception de 3 échantillons de lait maternel, en d'autre terme le lait maternel et le microbiote fécal des nourrissons partagent les même souches des bactéries [214-216], on retrouve aussi des streptocoques, microcoques et entérocoques qui en constituent le microbiote naturel. Si certaines de ces bactéries proviennent de l'aréole mammaire et des canaux galactophores, certains lactobacilles sont issus du tractus gastro-intestinal de la mère via un cycle entéromammaire [217,218]. Enfin ces bactéries vont être transmises à l'enfant via l'allaitement.

Jusqu'à trois jours après la naissance, le microbiote intestinal des bébés allaités est comparable à celui des bébés nourris avec une préparation pour nourrisson. Cependant, des différences importantes apparaissent au fil du temps [219]. En comparant la cinétique du microbiote intestinal de nouveau-nés nourris au lait maternel et au lait industriel, il a été montré qu'au 7^e jour, chez les enfants nourris au sein, la population bactérienne est plus uniforme, plus stable et moins diversifiée que celle des enfants recevant des formules infantiles [220]. La différence la plus notable est la colonisation dominante avec le genre *Bifidobacterium* chez le nouveau-né allaité, il constitue plus de 60% des bactéries fécales [221,222]. Parallèlement, l'implantation des entérobactéries, mais surtout des *Clostridium* et des *Bacteroides* est retardée et/ou se fait à un niveau moins élevé. Tandis que chez les bébés nourris avec une préparation pour nourrisson, ce sont plutôt les genres *Bacteroides*, *Clostridium* et *Eubactérium* qui deviennent dominants. Ces derniers sont des marqueurs prédictifs de l'absence de lait maternel dans l'alimentation du nouveau-né. Enfin, le lait maternel semble retarder l'apparition en dominance d'un microbiote diversifié et composé des genres *Bacteroides*, *Clostridium* et apparentés [47] (Tableau I).

Tableau I : Pourcentage d'ARN ribosomal de différents groupes microbiens dans les selles de bébé d'une semaine nourris au lait maternel ou avec une formule infantile [223]

	<i>Bacteroides</i>	Entérique	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Cl. coccoides</i>	<i>Cl. leptum</i>	Autres
Lait maternel	1	34	22	12	1	0	30
Formule infantile	35	11	1	2	7	9	35

Le lait maternel contient un ensemble impressionnant de facteurs bioactifs qui font de lui la source la plus riche de protection et d'immunomodulation. Le thymus des enfants allaités est d'ailleurs deux fois plus large que celui de ceux qui reçoivent du lait artificiel et une relation dose-réponse a été observé entre la taille du thymus et la quantité de lait maternel reçue [224]. De nombreux travaux ont recherché les composants du lait maternel responsables de cette colonisation dominante du genre *Bifidobacterium*, mais ce n'est que tardivement que l'on s'est intéressé aux facteurs dits « bifidogènes » qui stimulent la croissance de bifidobactéries. Parmi les protéines, la lactoferrine et les caséines jouent un rôle particulier. L'hydrolyse de la caséine β conduit à des peptides à propriétés opioïdes (caséomorphines), alors que la caséine kappa est une protéine hautement glycosylée, dont la fraction C-terminale a des effets bifidogènes [225,57]. Et surtout les produits de protéolyse, constituant des facteurs très bifidogènes. Ainsi, le lait maternel contient une grande quantité d'oligosaccharides particulièrement de monooligosaccharides, de galacto-oligosaccharides de fucose et d'autres unités glucidiques plus complexes associées au lactose présent en grande concentration, ces oligosaccharides peu réabsorbés, arrivent intacts dans le côlon où ils sont métabolisés par le microbiote intestinal. La fermentation de ces sucres libère des acides gras à courte chaîne (AGCC) et permet l'acidification de la lumière intestinale, propice au développement des bifidobactéries [226-228]. C'est l'ensemble de ces facteurs, complémentaires, qui fait la force bifidogène du lait maternel. Sa haute concentration en lactose ainsi que sa faible teneur en protéines et en phosphates sont probablement les éléments bifidogènes les plus déterminants. Ils concourent au maintien d'un pouvoir tampon faible favorable à la croissance des bifidobactéries. Grâce à leur métabolisme anaérobie strict qui entraîne la formation d'acides

lactique et acétique, ces bactéries maintiennent un pH luminal acide, favorisant leur propre développement aux dépens des germes anaérobies facultatifs potentiellement pathogènes [57]. Paradoxalement, des résultats contradictoires ont été publiés quant au pouvoir bifidogène du lait maternel. Cela est lié à des différences de méthodologies, parfois inadéquates, à l'hétérogénéité des populations étudiées et surtout aux différences de facteurs environnementaux, comme le mode de naissance ou l'hygiène locale. D'autre part et étrangement, *Clostridium difficile* colonise plus fréquemment et en plus grand nombre les enfants nourris par du lait maternel [204], mais ce portage dans la petite enfance reste dans la majorité des cas asymptomatique. De plus, une étude clinique a montré que le lait maternel a un effet protecteur contre la diarrhée infantile plus marqué dans les pays en voie de développement [229].

La variabilité du microbiote en fonction du mode d'allaitement s'accompagne aussi d'une différence au niveau des activités enzymatiques fécales. L'analyse comparative des activités uréase et β -glucuronidase révèle que le niveau de ces deux activités enzymatiques est supérieur dans les selles des enfants nourris avec une préparation pour nourrisson [230]. Ceci peut être associé à la diversité plus importante du microbiote chez ces enfants. L'activité enzymatique augmente fortement après le passage aux aliments solides [47]. Ainsi, la période de sevrage a également un impact sur la dynamique de développement du microbiote intestinal. C'est un moment de perturbation majeure où le microbiote se complexifie et devient très variable jusqu'à ce qu'il s'adapte à la dégradation des fibres alimentaires qui arrivent intactes dans le côlon et sont une source de substrats fermentescibles. De façon générale, dès l'âge de deux ans, la composition et le métabolisme du microbiote chez les enfants sont proches de ceux de l'adulte.

b. L'alimentation et mode de vie

1. Alimentation normale

Le microbiote digestif est sensible à la composition du régime alimentaire. Durant les premiers mois de vie où l'alimentation lactée est prédominante, des bactéries telles que les Bifidobactéries peuvent être abondantes, en particulier chez les enfants nourris au lait maternel. L'introduction des aliments solides entraîne une modification du microbiote, dont la

composition va progressivement se rapprocher de celle des adultes et à partir de 2 ans le microbiote intestinal des enfants est similaire, en termes de variété à celui des adultes. Diverses études ont décrit l'existence de différences considérables dans la composition du microbiote entre les populations de différents pays. Par exemple, les algues rouges marines *Porphyra spp* constituent un ingrédient important traditionnellement utilisé dans la préparation des sushis au Japon, il a été décrit que la consommation de ces algues enrichit le microbiote digestif en *Zobellia galactanivorans* membre du groupe Bacteroidetes marin [231]. Ainsi, dans l'autre côté du monde en Afrique, une étude a été réalisée sur un groupe d'enfants du Burkina Faso (BF), dont le but est de comparer un régime alimentaire rural en Afrique riche en cellulose de Sorgho avec un régime occidental moderne en Europe, ces enfants de BF ont montré un enrichissement significatif de *Bacteroidetes* et un appauvrissement en *Firmicutes*, avec une abondance unique de bactéries du genre *Prevotella* et *Xylanibacter*, connu pour la digestion de la cellulose et l'hydrolyse du xylane, complètement absent chez les enfants d'Europe [232]. Ainsi, ces dissemblances sont parfois observées dans des pays proches autant géographiquement qu'en termes de développement industriel et de normes d'hygiène appliquées, et semblent donc être consécutives à des différences d'habitudes alimentaires. Par exemple il a été décrit que le microbiote fécal des adultes serait dominé par le groupe *Clostridium coccoides- Eubactérium rectale* en Italie, en France et en Allemagne, mais pas en Suède [142]. Le groupe *Faecalibacterium prausnitzii* est celui qui prédominait chez les Suédois, ce qui serait corrélé à une consommation plus importante de poissons et de viandes. L'espèce *Faecalibacterium prausnitzii* semble d'ailleurs absente du microbiote intestinal des individus végétariens [233]. L'autre caractéristique du microbiote des végétariens est une abondance relative du groupe *Clostridium ramosum* très importante alors qu'il n'est pas habituellement retrouvé dans le microbiote. Une étude récente s'est intéressée à l'impact d'un régime sans gluten, régime suivi à vie par les personnes souffrant de maladie cœliaque, après un mois de régime les sujets montraient un microbiote enrichi en entérobactéries, notamment en *Escherichia coli*, mais avec une diminution singulière de l'abondance en lactobacilles, en bifidobactéries, particulièrement *Bifidobacterium longum*, et en *Clostridium lituseburense* et *Faecalibacterium prausnitzii* [234].

Un exemple particulièrement parlant de l'impact de l'alimentation sur le microbiote est né de la comparaison entre le microbiote de personnes minces et celui de personnes obèses ou en surpoids. Cette approche a montré que l'obésité et le surpoids (index masse corporelle $IMC > 25 \text{ kg/m}^2$) étaient caractérisés par une augmentation importante du ratio *Firmicutes/Bacteroidetes*, il a aussi été mis en évidence sur cette même population que la réduction des apports caloriques (soit pauvre en graisses, soit pauvre en glucides) induisant une perte de poids, avait pour conséquence la diminution de ce ratio jusqu'à atteindre une valeur proche de celle observée chez les sujets de poids normal [235]. Une autre étude a montré que la perte de poids de sujets obèses suite à une restriction calorique progressive est corrélée à une diminution du taux de bactéries du sous-groupe *Roseburia-Eubacterium rectale* sans affecter les taux de *Clostridium* ou de *Bacteroides* [236]. L'enquête diététique préalable montrait que les sujets obèses avaient surtout une alimentation plus riche en lipides que les sujets de poids normal. Les études animales montrent que chez les souris, l'ingestion d'une diète hyperlipidique augmente la concentration en lipopolysaccharide (LPS) circulant, qui accompagne des altérations métaboliques classiques liées à l'obésité, puis, l'analyse du microbiote a révélé une diminution drastique du nombre de *Bifidobacterium spp*, mais aussi des bactéries du groupe *Eubactérium/Clostridium Coccoides* et des bactéries intestinales associées aux *Bacteroides*. Or, il existe une corrélation négative et hautement significative entre le nombre de Bifidobactéries et l'endotoxémie [237]. Au cours de ces études, il a été démontré que le microbiote intestinal était clairement impliqué dans le développement d'un diabète de type 2 et d'une obésité [237-239], du fait qu'une modification du microbiote intestinal induite par une alimentation riche en graisse pouvait induire une augmentation de la perméabilité intestinale, en induisant une diminution de l'expression des gènes codant pour deux gènes clés de protéines de jonctions ZO-1 (*zonula occludens*) et Occludine [238]. D'autre part, il a été montré que, chez des souris en régime gras, la substitution d'un régime hyperlipidique à un régime riche en fibres fermentables conduisait à une normalisation du contenu intestinal en bifidobactéries, ce qui par la suite réduit le développement de l'endotoxémie métabolique, l'inflammation de faible intensité et ses désordres associés [239,240]. En outre, des interactions entre le régime maternel et le microbiote sur l'architecture et les fonctions intestinales des descendants ont été rapportées récemment. Ainsi, un régime

maternel riche en matières grasses a conduit à une réduction des activités de la maltase et de la saccharase intestinales dans la progéniture. De plus, l'addition d'*Escherichia coli* au régime gras des mères pendant la gestation et la lactation a généré une perméabilité, une inflammation et une obésité, accrues chez les descendants [241]. L'administration d'*E.coli* aux mères a également eu des effets à long terme sur la croissance et sur le microbiote intestinal chez les descendants [242]. Ainsi, le lieu de résidence des personnes âgées : à domicile, hospitalisés ou en maison médicalisée en court ou long séjour, peut également modifier la composition du microbiote intestinal. D'ailleurs, les personnes en maison médicalisée « long séjour » ont une alimentation riche en graisse et pauvre en fibres alimentaires alors que les personnes résidant à domicile tendent à avoir un régime équilibré, riche en fibres alimentaires et pauvre en graisse. Ceci montre que le microbiote intestinal est distinct entre ces deux populations de personnes âgées qui ont un régime différent [142].

D'autres études mettent en évidence les effets du lactose sur la composition du microbiote intestinal, il a été observé dans une étude comparant des enfants allergiques au lait de vache ayant reçu un hydrolysate sans lactose pendant deux mois, puis les deux mois suivants, le même hydrolysate supplémenté en lactose. Les résultats révèlent que l'addition de lactose à une formule d'hydrolysate est capable de moduler la composition du microbiote intestinal en augmentant le taux de lactobacilles et de bifidobactéries et en diminuant le taux de *Bacteroidetes*, *Prevotella* et *Clostridium* [243].

Certainement, il y avait un jour où on a choisi de consommer des aliments light, diet ou zéro, en particulier les sodas et les desserts, dont le but est de profiter d'aliments au goût sucré sans pour autant absorber trop de calories, et supposément de prévenir des pathologies. Cependant, il a été suggéré que les édulcorants artificiel non caloriques (NAS : Non-caloric Artificial Sweeteners), les faux sucres, pourraient directement contribuer à augmenter l'épidémie d'obésité et de diabète de type 2 alors que leur objectif est de les combattre. Selon une étude très récente publiée en 2014, menée chez des souris et des hommes. Les chercheurs ont administré à trois groupes de souris l'un des trois édulcorants les plus fréquents, à savoir le sucralose, la saccharine et l'aspartame, comparés à des rongeurs n'ayant reçu que du glucose et du sucre, ces trois groupes présentaient des intolérances au glucose, signe

précurseur du diabète. Dans cette étude les chercheurs ont bien montré l'importance du microbiote intestinal, du fait que, l'effet des édulcorants disparaît lorsque le microbiote était éliminé avant l'expérience par traitement antibiotique, de plus les souris nourries sans édulcorant développaient une intolérance au glucose après une greffe fécale à partir de souris nourries de cette manière. Par ailleurs, l'impact de la saccharine à forte dose sur le microbiote intestinal a été le plus remarquable (la dose journalière admissible (DJA) de 5 milligrammes par kilo de poids corporel), à savoir une augmentation des bactéries du genre *Bacteroidetes* et une baisse des *Firmicutes*, profil bactérien caractéristiques des personnes diabétiques [244].

Au vu de ces diverses données montrant l'influence de l'alimentation sur la flore, on peut imaginer qu'il soit possible de moduler en partie la composition de notre microbiote selon notre bon vouloir, en adaptant simplement notre régime alimentaire. Cette idée a donné naissance au concept de prébiotique et ouvre de nouvelles perspectives quant au traitement des pathologies liées à des dysbioses telles que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Les modifications du microbiote induites par des régimes alimentaires sont résumées dans **le tableau II**.

Tableau II : Résumé des régimes inducteurs de dysbiose

Régime	Bactéries altérées	Effets sur les bactéries
Riche en graisse	<i>Bifidobacteria</i>	↓
Riche en graisse et sucres	- <i>Clostridium innocum</i> - <i>Catenibacterium mitsuokai</i> - <i>Enterococcus spp.</i> <i>Bacteroides</i>	↑ ↓
Pauvre en carbohydrates	<i>Bacteroides</i>	↑
Hypocalorique	<i>Clostridium coccoides</i> <i>Lactobacillus spp</i> <i>Bifidobacteria spp</i>	↓
Carbohydrates complexes	<i>Mycobacterium avium</i> <i>Subspecies paratuberculosis</i> <i>Enterobacteriaceae</i> - <i>Bifidobacterium longum</i>	↓ ↑

	<i>-Bifidobacterium breve</i> <i>-Bacteroides thetaiotaomicron</i>	
Sucres raffinés	<i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium difficile</i>	↑
Végétarien	<i>Escherichia coli</i>	↓
Riche en oméga 6	<i>Bacteroides</i> <i>-Firmicutes</i> <i>-Actinobacteria</i> <i>-δ-Proteobacteria</i>	↓ ↑
Graisse saturés (graisse du lait animal)	<i>δ-Proteobacteria</i>	↑

2. Nutrition entérale

La nutrition entérale (NE) est un traitement nutritionnel fondé sur la fourniture directe de nutriments au tube digestif estomac ou duodénum, via une sonde d'alimentation, utilisé chez les patients hospitalisés, jusque chez 10% d'entre eux. Dans une étude récente, le microbiote fécal de 20 patients alimentés par NE a été analysé [245], les auteurs ont réalisé des mesures des groupes bactériens au début, au milieu et à la fin d'une période de 14 jours d'alimentation entérale. Ils ont rapporté une modification brutale du microbiote suivie d'une pullulation microbienne significative et enfin une diarrhée, cette modification est caractérisée par une diminution des bactéries intestinales dominantes, une augmentation des micro-organismes potentiellement pathogènes comme *E.coli* [246] et une réduction du nombre de souches bactériennes individuelles.

c. Influence des traitements médicamenteux

❖ **L'antibiothérapie** : Qu'elle soit administrée par voie orale ou intraveineuse, en particulier aux phases cruciales d'implantation et de développement d'une flore bifide dominante, toute antibiothérapie doit être parfaitement indiquée et adaptée à la situation, tout particulièrement chez le nouveau-né et le nourrisson, elle constitue le principal facteur de risque associé à l'altération du microbiote intestinal. Le manque de spécificité attribué à certains antibiotiques peut être responsable de divers désordres notamment au niveau des différents microbiotes d'un organisme.

Les nouveau-nés s'exposent aux antibiotiques bien avant leur naissance. Or, la période périnatale constitue une période très particulière où l'incidence des infections est plus grande et le pronostic beaucoup plus sévère qu'au cours du reste de la vie, d'où l'efficacité d'une antibioprophylaxie préventive. Il a été montré dans une étude que, dans le contexte de prévention des formes précoces d'infections à streptocoques du groupe B, 10 à 20 femmes ont reçues deux doses d'amoxicilline, pénicilline G ou clindamycine en cas d'allergie qui diffusent par voie transplacentaire au fœtus [247,248]. En plus, l'absence de symptomatologie évocatrice a permis de prescrire précocement et dans le doute d'un grand nombre d'antibiothérapies probabilistes (à large spectre) à l'épidémiologie sus décrite. Ainsi, les nouveau-nés suspects d'infection maternofoetale sont traités par amoxicilline, céfotaxime et ou aminosides (gentamicine, amikacine) [249]. En cas de suspicion d'infection nosocomiale, le traitement consiste en une association de vancomycine et céphalosporine (ceftazidime) ou uréidopénicilline (pipéracilline) ou carboxypénicilline (ticarcilline + acide clavulanique). Par ailleurs, il a été constaté que 83% des prématurés étaient exposés aux antibiotiques, les extrêmes prématurés (moins de 28 semaines d'aménorrhée) l'étant pour 100% d'entre eux [51], le microbiote fécal de ces enfants apparaît considérablement perturbé par la prise d'antibiotiques, notamment par voie orale avec une augmentation des entérobactéries alors que les espèces *Bacteroides*, bifidobactéries et lactobacilles étaient souvent indétectables [240]. De plus, il a été rapporté dans une étude en utilisant RT-PCR quantitatives parmi une cohorte de 1032 nouveau-nés aux Pays Bas des modifications du microbiote fécal à l'âge d'un mois chez les enfants exposés à une antibiothérapie (amoxicilline). Ces modifications concernaient une diminution des genres *Bifidobacterium* et *Bacteroides*, par opposition à *Clostridium difficile* et *Escherichia coli* [204]. Ainsi, l'administration précoce de l'amoxicilline conduit à des altérations de l'expression de nombreux gènes impliqués dans le développement intestinal et dans la barrière. Ces effets étant dus à l'altération du microbiote intestinal peuvent être annulés par la supplémentation des régimes des mères et des petits par des lactobacilles (*L.plantarum*) [251,252] mais à condition que le probiotique soit administré entre trois et dix jours de vie [253]. De plus, l'exposition précoce aux antibiotiques au cours de la première année de vie a été identifiée comme un facteur de risque indépendant de respiration sifflante et d'asthme chez l'enfant [254-256]. Ainsi, elle a été associée à un risque accru d'atopie [257].

Par ailleurs, L'analyse de l'impact d'un traitement antibiotique couramment prescrit chez l'adulte notamment en cas d'infections urinaires, la ciprofloxacine, décrit comme étant à faible impact sur les bactéries du compartiment intestinal, a fait l'objet d'une étude récente. Les profils du microbiote fécal de trois individus avant, pendant et après un traitement oral de cinq jours à la ciprofloxacine, montrent l'altération qualitative et quantitative d'un tiers des espèces bactériennes chez les trois sujets, les espèces affectées par le traitement variant d'un individu à l'autre [258]. D'autre part, les auteurs observent la forte capacité de résilience du microbiote intestinal, dont la composition semble se rétablir quatre semaines après la fin du traitement. Néanmoins, après six mois de suivi, certaines espèces restent indétectables. Les différents mécanismes qui permettent le retour à l'équilibre microbien après de telles altérations ne sont pas encore bien établis et la question de l'impact de traitements itératifs est plus préoccupante. Dans une autre étude, la ciprofloxacine a été administrée en 2 épisodes (5 jours chacun avec 6 mois d'intervalle). L'analyse des selles a indiquée une diminution profonde de la diversité du microbiote fécal dans les 3 à 4 jours de l'administration [259]. À l'arrêt d'antibiotique, le microbiote fécal revient en grande partie à l'état avant antibiotique, mais à long terme, la reprise est incomplète. Les chercheurs ont conclu que même une brève perturbation d'antibiotique provoque un décalage dans la communauté microbienne à un état stable alternatif. En effet, certaines diarrhées chez l'adulte sont causées par les traitements antibiotiques répétés et dans 25% des cas, les patients développent une infection récurrente à *Clostridium difficile* [260]. Une autre étude a confirmé l'impact de la prise d'antibiotique sur le microbiote digestif, en administrant pendant 7 jours la clindamycine et, a montré une altération persistante dans le microbiote fécal jusqu'à 2 ans plus tard [261].

D'autre part, 50% des antibiotiques fabriqués dans le monde sont destinés aux élevages. Les antibiotiques ont trois usages : curatif, préventif et additif. Ils servent tout d'abord à soigner les animaux malades, une vache souffrant d'une mammite doit être traitée avec un antibiotique, prescrit par un vétérinaire. Ensuite, les antibiotiques sont utilisés de façon préventive, lorsque dans un élevage quelques individus meurent d'une infection bactérienne contagieuse, le vétérinaire traite tous les autres animaux aux antibiotiques. Enfin, et c'est là le nœud du problème, des antibiotiques sont ajoutés en doses très faibles aux animaux sains. Ce sont des additifs alimentaires qui possèdent la propriété étonnante d'accélérer la croissance et

ainsi accroître le rendement en viande tout en limitant l'alimentation des animaux, les animaux qui en reçoivent ont besoin de manger moins pour produire autant : l'indice de consommation s'améliore de 3 à 12%. Cette économie d'aliment représente à peu près le revenu de l'éleveur. De plus, les animaux croissent un peu plus vite, le gain moyen quotidien augmente de 3 à 9%, et les lots d'animaux sont plus homogènes [262]. Cependant, un grand nombre d'arguments étaye l'hypothèse selon laquelle le microbiote intestinal serait impliqué dans ces effets. En effet, il a été démontré que les antibiotiques n'améliorent pas la croissance des poulets axéniques, Une molécule antibiotique modifiée ne conserve son activité de promoteur de croissance que quand elle conserve aussi son activité antibiotique. Ainsi, il semble que les petites doses d'antibiotiques inhibent le métabolisme du microbiote intestinal des animaux. Ces bactéries consomment moins de nutriments et produisent moins de molécules toxiques (ammoniaque et amines). En d'autres termes, Les antibiotiques à faible dose inhibent fortement le catabolisme de l'urée et des acides aminés via les bactéries intestinales, ils augmentent la disponibilité des nutriments et de l'énergie pour l'animal, aussi ils diminuent la concentration en molécules toxiques. Ceci diminue en retour le taux de renouvellement de l'épithélium intestinal, épargnant des nutriments. Chez les bovins, certains antibiotiques orientent les fermentations du microbiote du rumen vers la production d'acide propionique, lequel favorise l'anabolisme protéique. Par ailleurs, concernant la composition du microbiote des animaux traités, aucun changement n'a été détecté. Cependant, certaines études ont montré que les animaux antibio-supplémentés hébergeaient moins de lactobacilles dans leur microbiote. En outre, les antibiotiques à faible doses peuvent aussi inhiber dans l'intestin la fermentation des glucides, notamment la production d'acide lactique à partir du glucose. En plus, ils peuvent modifier le métabolisme des sels biliaires via les entérocoques. Enfin, le problème majeur de l'addition des antibiotiques aux animaux d'élevage est le développement des résistances. Soit par l'ingestion des bactéries résistantes ou par l'ingestion des résidus d'antibiotiques dans la viande ou le lait [262].

❖ **Antiacide, IPP et AINS** : D'autres médicaments comme les antiacides, les inhibiteurs des pompes à protons, ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens peuvent modifier l'environnement intestinal et donc perturber l'équilibre au sein du microbiote [263].

L'utilisation des IPP entraîne une alcalinisation gastrique ce qui par la suite supprime l'une des principales barrières à la colonisation par des bactéries de l'environnement, éventuellement pathogènes. Ainsi, il a été montré que les traitements antiacides augmentent le risque de diarrhée infectieuse et de pneumonie [264].

❖ **Chimiothérapie** : La chimiothérapie s'est également révélée capable de modifier et détruire en partie plus ou moins importante le microbiote intestinal, ce qui provoque des problèmes d'assimilation des nutriments particulièrement les minéraux, qui sont très importants pour le fonctionnement du système immunitaire. Pour passer la barrière intestinale, ces minéraux doivent être ionisés. Et c'est le microbiote intestinal qui fait ce travail. Rétablir ce microbiote permet non seulement de restaurer ses capacités d'assimilation, mais également d'améliorer le confort digestif et de stimuler le système immunitaire [265].

d. Décalage horaire et cycle circadien

Un changement de fuseau horaire cause un décalage de nos activités biologiques. En effet, nos microbes intestinaux ont eux aussi une horloge interne (appelée horloge circadienne). Toute perturbation dans cette horloge peut déséquilibrer les bactéries de l'intestin et provoquer des troubles de métabolismes pouvant aller jusqu'à l'obésité. De nombreuses études révélaient déjà que les travailleurs de nuit et les personnes qui voyagent fréquemment ont tendance à développer les problèmes de santé comme des maladies cardiovasculaires, le diabète ou encore le cancer. Mais jusqu'à présent, le lien n'était pas très clair entre les deux. Selon une étude récente et surprenante, analysant les matières fécales des humains et souris, les bactéries intestinales suivent un profil rythmique tout au long de la journée [266]. Le cycle dépend des habitudes alimentaires et du cycle circadien de l'homme ou de la souris, dans cette étude, les chercheurs ont analysé les bactéries trouvées dans les échantillons fécaux prélevés chez des souris et des humains à différents moments de la journée. Ils ont observé des fluctuations rythmiques dans l'abondance des bactéries intestinales et dans leurs activités biologiques : des oscillations qui sont contrôlées par l'horloge circadienne et les habitudes alimentaires (fig.24). Chez les souris en bonne santé qui ont été maintenues dans des cycles normaux (d'une durée de 12 heures) d'alternance lumière-obscurité, les échantillons ont été prélevés toutes les six heures pendant deux jours. Durant les phases d'obscurité, les bactéries

étaient occupées à digérer les nutriments et réparer leur ADN. Lorsque la souris était éclairée, les bactéries faisaient leur ménage (la détoxification) et construisaient les cils qui les aident à se déplacer. Les bactéries intestinales des souris dont les cycles ont été perturbés ne présentent pas les mêmes fluctuations en réponse à la lumière ou à l'obscurité. Mais quand ces bactéries ont été transplantées dans des souris dont les cycles ont été conservés, elles ont retrouvé un rythme normal au bout d'une semaine. Cela suggère que l'horloge de la souris contrôle celle des bactéries. Mais comment les bactéries qui vivent dans l'intestin savent-elles s'il fait jour ou nuit ? En effet, les scientifiques ont exposé des souris à des horaires variables de lumière-obscurité et 24 heures de régime alimentaire anormal, et leurs communautés microbiennes ont perdu leurs fluctuations rythmiques. Un régime riche en matière grasse a causé un fort gain de poids chez les souris en décalage horaire, et elles ont également développé des problèmes métaboliques associés au diabète. De même, deux personnes qui ont voyagé des États-Unis à Israël ont modifié la composition de leurs microbiotes intestinaux favorisant la croissance des bactéries liées à l'obésité et les maladies métaboliques. Lorsque ces bactéries ont été transplantées dans des souris saines, les rongeurs ont pris du poids. Heureusement ces niveaux reviennent vite à la normale lorsque les rythmes normaux sont remis en place. Ces résultats surprenants peuvent nous permettre de mettre au point des traitements préventifs pour les personnes dont les cycles jour-nuit sont perturbés afin de réduire le risque de complications [266].

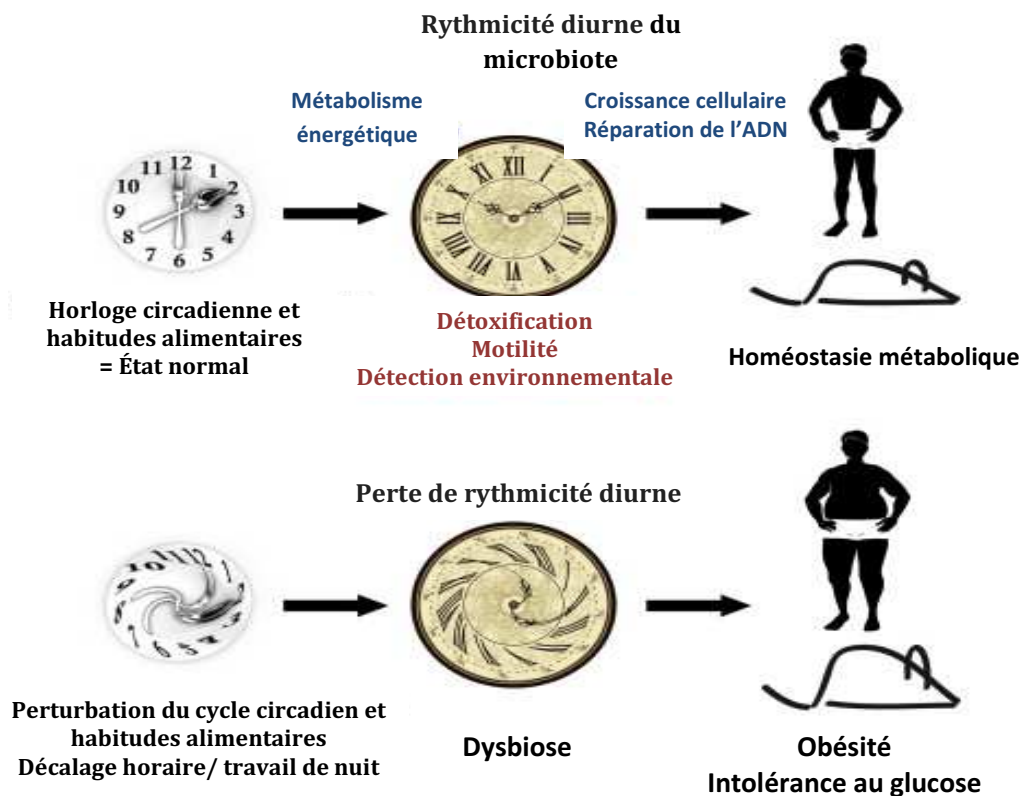


Figure N°24: L'impact du cycle circadien et habitudes alimentaires sur l'horloge biologique des bactéries intestinales

e. Autre facteurs environnementaux

1. les polluants minéraux

Les polluants environnementaux et alimentaires peuvent être à l'origine d'un déséquilibre de l'homéostasie intestinale avec des conséquences non négligeables pour la santé. Parmi ceux-ci figurent les métaux lourds notamment le plomb et le cadmium, qui peuvent être à l'origine d'un déséquilibre du microbiote avec toutes les conséquences qui en découlent notamment l'inflammation et les modifications cellulaires intestinales. Des expériences ont indiqué que la sensibilité des bactéries soit variable. Il a été montré que *Lactobacillus plantarum* est sensible au Chlorure de cadmium CdCl_2 , mais résistant au Chlorure de plomb PbCl_2 [267]. Cependant, la biodiversité des espèces bactériennes caecales et fécales paraît respectée. Toutefois, au niveau des genres bactériens, il existe des différences significatives

après traitement au plomb et au cadmium, notamment une moins grande diversité de genres avec une plus grande abondance du genre *Turicibacter* *Blautia*, *Barneselia* et *Allistipes*.

2. Le niveau socioéconomique

L'impact du niveau socioéconomique et les cultures régionales et familiales sur l'alimentation et la détermination du microbiote semble prépondérant [268]. En effet, les pratiques d'alimentation dans la première année de vie sont choisies par les parents, et que leur choix est lui-même très variable selon leurs préférences et habitudes personnelles, leur style de vie et l'accessibilité des produits [269]. Par exemple, dans les pays industrialisés, l'allaitement maternel est en effet très lié au contexte social : les mères qui choisissent d'allaiter sont souvent plus âgées et plus éduquées que les autres [270].

Par ailleurs, les êtres humains vivant dans des conditions sociales similaires peuvent héberger des écosystèmes bactériens présentant entre eux plus de similarité que ceux des membres d'une même famille. Ainsi, la susceptibilité au développement du cancer du côlon serait accrue dans des communautés de membres vivants ensemble et où certains sont atteints par cette affection.

3. Le stress

Des stress psychologiques répétés (séparation, deuil, surmenage, agressions diverses, harcèlement, l'école pour l'enfant, la crèche pour le bébé ...) entraînent la libération d'adrénaline et noradrénaline responsable d'une vasoconstriction, avec un débit sanguin augmenté au niveau du cerveau et du cœur au détriment de l'intestin. Au relâchement, on observe une redistribution intense du flux sanguin, au niveau des organes digestifs notamment, provoquant une ischémie dite de reperfusion, et l'énergie utilisée pour les organes nobles (cerveau et cœur) fait défaut pour la sécrétion d'enzymes digestives donc les aliments sont moins bien dégradés. Il a été démontré qu'un stress peut altérer l'intégrité du microbiote intestinal pendant plusieurs jours [271]. Des personnes en réponse à la colère ou à des situations effrayantes présentent une augmentation de 20 à 30% de la proportion de *Bacteroides thetaiotaomicron* dans leurs selles. Lorsque ces situations sont résolues, la concentration de ces microorganismes dans les fèces revient à des niveaux normaux. Le stress peut induire à une diminution significative des bactéries bénéfiques comme les lactobacilles et les

bifidobactéries et à une augmentation des *E. coli*. Ces changements sont causés par la production en situation de stress de la noradrénaline qui favorise la croissance des microorganismes gram négatifs ou par des changements dans la motilité de l'intestin et de ses sécrétions [272].

4. Le sport intensif

L'activité physique a toujours été considérée comme essentielle pour une bonne santé physique et mentale. Elle a des effets bénéfiques sur le cœur ainsi que sur le poids et pourrait contribuer à enrayer certains types de cancers, voire nous mettre de meilleure humeur et stimuler notre créativité et notre capacité d'apprentissage. Mais, selon une nouvelle étude récemment publiée, les bénéfices du sport ne s'arrêteraient pas là : une pratique régulière pourrait aussi jouer un rôle majeur dans notre état de santé général (de façon directe ou indirecte) en contribuant à diversifier notre microbiote intestinal. Dans cette étude, les scientifiques ont analysé des échantillons de selles et de sang de 40 joueurs professionnels masculin de rugby durant le programme d'entraînement précédant le championnat, ainsi que ceux de deux autres groupes témoins d'hommes adultes, sains et athlètes, avec groupe 1 (n=23) ayant un $IMC \leq 25$ et le groupe 2 (n=23) ayant un $IMC > 28$ [273]. Les chercheurs ont découvert que le microbiote des athlètes était plus diversifié que celui des hommes des groupes témoins, notamment ceux ayant des problèmes de surpoids. L'étude a détecté 22 phylums, 68 familles et 113 genres dans des échantillons fécaux des athlètes. En revanche, seulement 11 phylums, 33 familles et 65 genres ont été détectés dans les échantillons du groupe 1 (IMC faible), et 9 phylums, 33 familles et 61 genres dans les échantillons du groupe 2 (IMC élevé). L'étude a aussi révélé que la bactérie *Akkermansia* était plus présente chez les athlètes de rugby [273].

5. Le tabagisme

Lorsqu'une personne arrête de fumer, la prise de poids est un phénomène habituel. La nicotine joue un rôle de coupe-faim et sa privation peut donc modifier l'appétit. Pourtant, même à régime alimentaire constant, le fumeur risque de prendre du poids après avoir abandonné la cigarette. Très récemment, quelques études se sont penchées sur l'impact du

tabagisme sur le microbiote intestinal, et l'un des éléments les plus remarquables porte sur la composition du microbiote qui est proche de celle observée chez des personnes obèses, ainsi le rythme de la prise de poids est rapide durant les deux premiers mois du sevrage (3,7 kilos, en moyenne), mais ralentit considérablement par la suite. Une étude suisse a creusé le sujet, en s'intéressant aux caractéristiques des bactéries intestinales de trois groupes de sujets : des non fumeurs, des fumeurs et des ex-fumeurs récents. Ils ont été suivis durant trois mois. L'analyse montre que l'arrêt du tabac entraîne une profonde modification de la composition du microbiote intestinal caractérisée par une augmentation du nombre de Firmicutes et d'Actinobactérie et une diminution du nombre de Protéobactérie et de Bacteroides (fig.25) [274,275]. En outre, le tabagisme actif a été associé à l'évolution de la maladie de Crohn (MC), il a été indiqué que le risque de poussée de la MC est augmenté de 50% chez les fumeurs, qui développent davantage de complications perforantes sévères de types abcès ou fistules. Les mécanismes des effets du tabagisme restent obscurs, mais le tabac affecte à la fois l'immunité des muqueuses et l'immunité systémique, altérant les fonctions de l'immunité innée et adaptative. Par exemple, des macrophages isolés de fumeurs présentent une activité bactéricide réduite lors d'infection à *Listeria monocytogenes*. De plus, le tabac augmente la perméabilité intestinale ainsi que la production de mucus au niveau du côlon [276]. Une étude a analysé des échantillons de selles de 101 patients atteints de MC (dont 29% de fumeurs) et de 58 patients contrôles (dont 14% de fumeurs) par hybridation in situ de sondes d'ARN ribosomal 16s de différentes espèces bactériennes (*Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium coccoides*-*Eubacterium rectale*, *Escherichia coli*, et *Faecalibacterium prausnitzii*). Après une analyse multi variée, les résultats mettent en évidence un effet significatif et indépendant du tabagisme sur le microbiote chez les patients atteints de MC. Les patients fumeurs présentent significativement plus de bactéries des groupes *Bacteroides* et *Prevotella* que les patients non fumeurs du groupe contrôle. Les patients fumeurs atteints de MC présentent plus de bifidobactéries, de *Bacteroides* et de *Prevotella* et moins de *F. prausnitzii* que les contrôles sains. La fumée de cigarette a donc un impact important sur le microbiote intestinal qui pourrait être à l'origine des effets néfastes du tabac chez les patients atteints de MC [277].

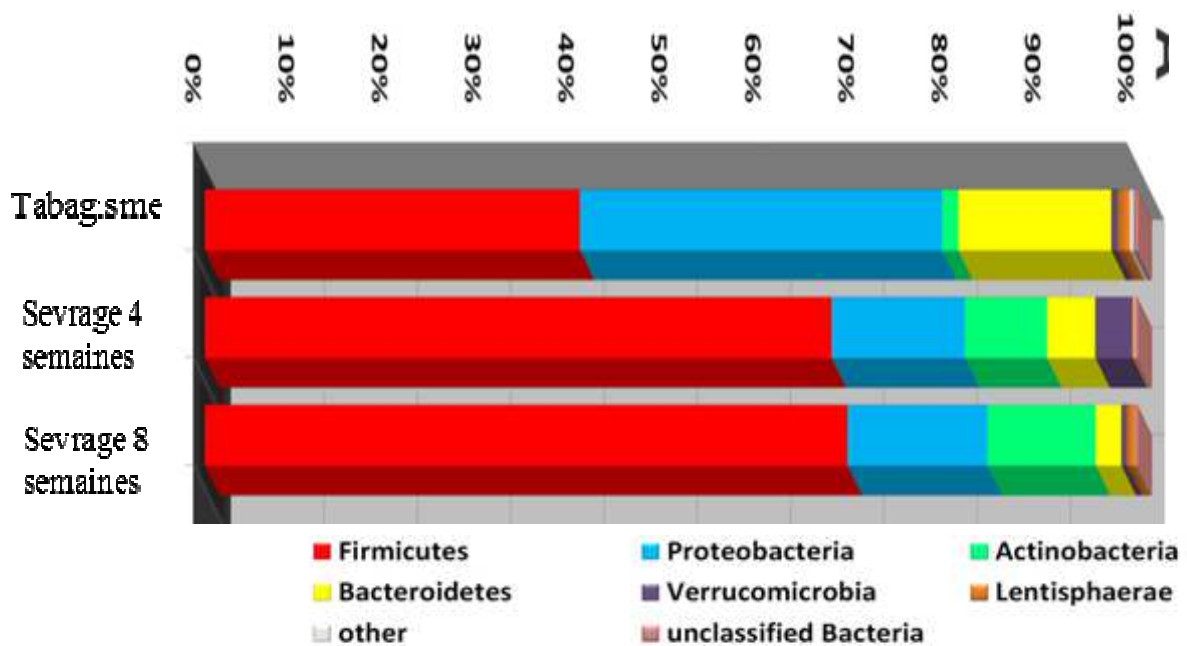


Figure N°25: Comparaison des principaux phylums du microbiote intestinal avant et après la cessation du tabagisme

6. L'alcool

La consommation chronique d'alcool s'accompagne d'une altération des jonctions serrées assurant l'intégrité de la barrière intestinale [278]. Il en résulte une translocation bactérienne accrue. De plus, la cirrhose et l'hypertension portale peuvent s'accompagner d'une pullulation bactérienne, d'une dysmotilité intestinale et d'une réponse intestinale mucoale altérée. Beaucoup d'études s'intéressant au microbiote des malades alcooliques ont démontré qu'il existait des différences quantitatives et qualitatives au niveau du microbiote intestinal par rapport aux sujets sains. Les personnes alcooliques peuvent présenter une dysbiose caractérisée par une réduction de *Bacteroides* et par une augmentation de *Proteobacteria* [279]. Les *Proteobacteria* sont des bactéries Gram négatif exprimant le lipopolysaccharide (LPS) au niveau de leurs parois. Le LPS arrive au foie par la veine porte et se lie au *Toll-like receptor 4* (TLR4) des cellules de *Kupffer*, induisant une activation en cascade de nombreux médiateurs pro-inflammatoires [280], notamment les cytokines inflammatoires qui communiquent avec le cerveau pour influencer certaines fonctions cérébrales et induire des symptômes psychologiques négatifs comme la dépression et l'anxiété mais aussi l'irrésistible envie de boire. Ainsi, plus les "accros à la boisson" consomment d'alcool, plus ils

entretiennent l'inflammation induite par des toxines provenant du microbiote. Il s'établit alors un cercle vicieux : l'alcool provoque la rupture de la barrière intestinale, qui laisse alors passer les toxines bactériennes dans le sang. Celles-ci entraînent une réaction inflammatoire chronique dont les médiateurs, à leur tour, provoquent des troubles cognitifs et émotionnels, dont la dépression et l'incontrôlable envie d'alcool [281]. Différentes données indiquent que l'excès d'endotoxines induit par la dysbiose liée à la consommation d'alcool semble jouer un rôle important dans le développement des lésions inflammatoires et de la fibrose, ainsi que dans la carcinogenèse [278].

En revanche, des investigations menées en Espagne par un groupe de scientifiques ont indiqué qu'une consommation modérée de vin rouge pourrait s'avérer bénéfique pour le microbiote intestinal. D'ailleurs, une étude récente a démontré que les polyphénols présents dans le vin rouge peuvent avoir un effet prébiotique. L'ingestion quotidienne d'un verre de vin rouge (environ 25 centilitres) pendant 4 semaines modifie la composition du microbiote intestinal, en augmentant le nombre de : *Enterococcus*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides uniformis*, *Eggerthella Lenta*, et *Blautia coccoides-Eubacterium* groupes rectale. En parallèle, il a été démontré dans cette étude, que la consommation régulière et modérée de vin rouge « polyphénols », diminue de manière significative : la pression artérielle, le taux des triglycérides, le taux de cholestérol HDL, et la concentration en protéine C-réactive. Ces changements ont été liés au nombre des bifidobactéries [282].

C. Facteurs n'influençant pas la colonisation intestinale

D'autres facteurs ont été étudiés, mais aucune corrélation n'a pu être trouvée avec la colonisation bactérienne dans la rupture des membranes amniotiques arrivant plus de 24 heures avant la délivrance, la saison de l'accouchement, la prise ou non d'antibiothérapie par la mère pendant la grossesse à l'exception du traitement avant l'accouchement chez les femmes porteuses de *Streptococcus agalactiae* (streptocoques B) et la survenue d'une fièvre chez l'enfant [204].

**MÉTHODES D'EXPLORATION DU
MICROBIOTE INTÉSTINAL**

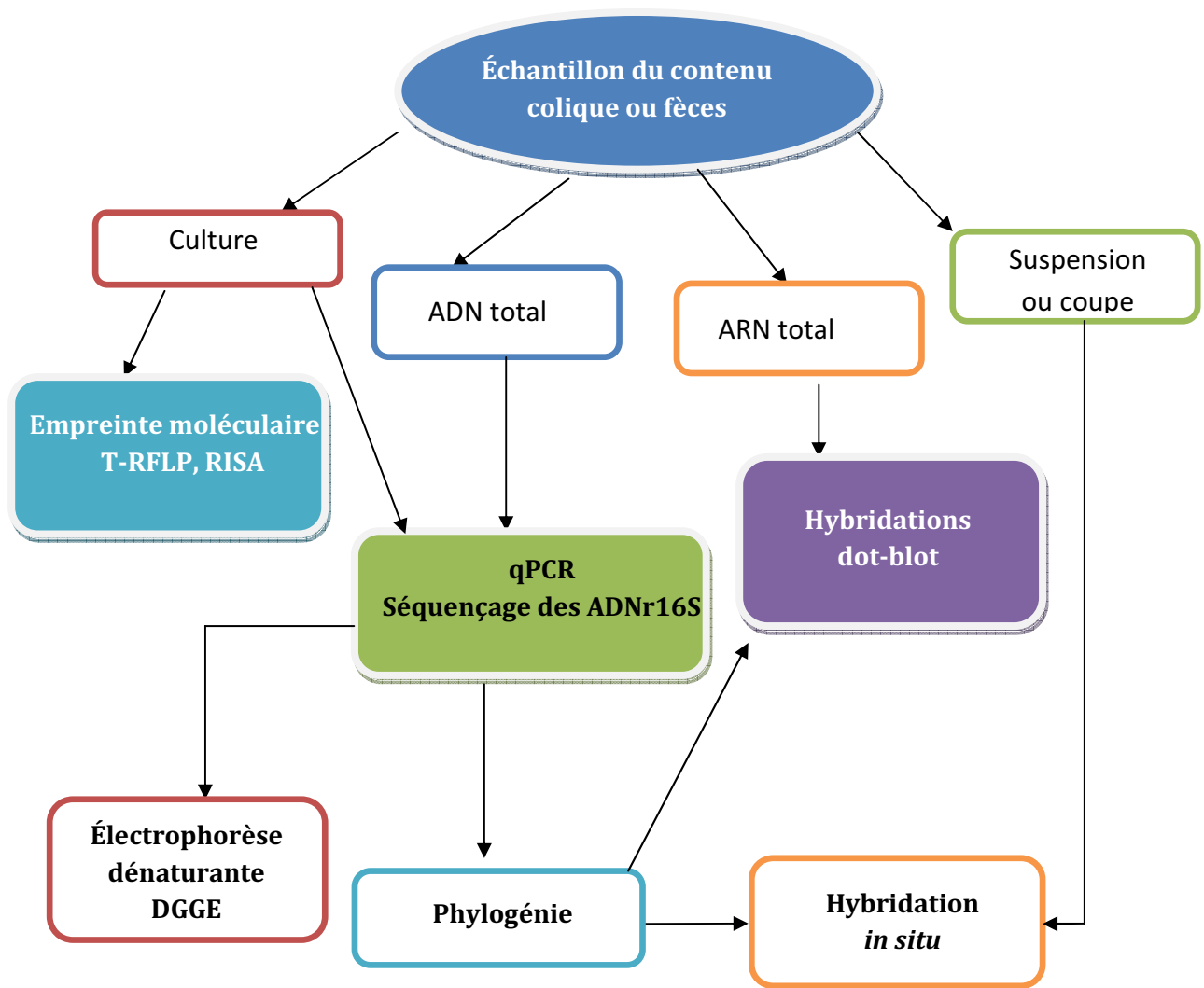


Figure N°26: Techniques utilisées pour étudier le microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est un écosystème complexe qui exerce une influence considérable sur l'état physiologique, immunologique et nutritionnel de son hôte. Une connaissance approfondie du consortium microbien intestinal par la caractérisation de cet écosystème permet de mieux comprendre les relations existantes entre le microbiote intestinal et son hôte. Un certain nombre d'approches utilisées afin d'analyser le microbiote intestinal sont résumées dans la figure 26. Ces techniques d'analyses peuvent être qualitatives et/ou quantitatives, leur objectif ainsi que leurs avantages et inconvénients sont présentés dans le tableau III.

Tableau III : Les différentes approches d'étude du microbiote intestinal

Techniques	Objectif	Avantages	Inconvénients/ Limitations	Résultats
Méthodes culturelles	dénombrement, identification taxonomique	-prix	-micro-organismes uniquement cultivables, -manipulation fastidieuse pour un grand nombre d'échantillons -sélectivité	Quantitatif
Pyro-séquençage	identification taxonomique profil de la communauté	-haut débit -sensibilité	-prix -biais d'extraction d'ADN -outils d'analyse sophistiqués	Qualitatif Quantitatif
DGGE	profil de la communauté, identification taxonomique possible	-résolutif	-pour un grand nombre d'échantillons -variabilité gel à gel -sensibilité limitée pour des communautés très complexes -biais d'extraction et d'amplification d'ADN	Qualitatif
T-RFLP	profil de la communauté identification taxonomique possible	-haut débit -sensibilité importante -reproductible	-optimisation nécessaire, digestion incomplète par les enzymes -manipulation fastidieuse pour un grand nombre d'échantillons -biais d'extraction et d'amplification d'ADN -sélectivité, même longueur de fragment pour plusieurs espèces	Qualitatif
Puces à ADN	Identification taxonomique profil de la communauté	-puces commercialisées -analyses simultanées de plusieurs échantillons -rapidité, facilité	-réactions croisées -prix	Qualitatif Quantitatif
FISH	identification taxonomique	-utilisation in situ	-pas de profils des communautés trop complexes -design des sondes -sélectivité, réactions croisées -sensibilité dépendante du nombre de ribosomes et de l'accessibilité	Qualitatif Quantitatif (couplage à la cytométrie de flux)
qPCR	identification taxonomique dénombrement	-haut débit -sensibilité, limite de quantification la plus basse -sélectivité -rapidité -prix	-biais d'extraction et d'amplification d'ADN -design des amorces et des sondes	Quantitatif
Méta-génomique	identification taxonomique profil de la communauté et de ses fonctions potentielles	-haut débit -sensible	-prix -biais d'extraction d'ADN -outils d'analyse sophistiqués	Qualitatif

A. Méthodes culturales :

Le microbiote intestinal, et en particulier le microbiote fécal, a d'abord été étudié à l'aide de techniques de cultures *in vitro* notamment grâce au développement de techniques permettant l'anaérobiose (culture en absence d'oxygène). D'autres progrès permettant l'amélioration des conditions de cultures ont permis d'isoler et de répertorier de nombreuses espèces dominantes du microbiote fécal selon les règles de la taxonomie classique [101] englobant la classification, la nomenclature et l'identification.

Bien que les méthodes culturales soient peu chères, elles sont limitées dans leur capacité à distinguer de différents groupes phylogénétiques. Une autre difficulté réside dans le fait que la majorité des bactéries du microbiote appartiennent à des espèces anaérobies strictes. Plus de 80% des bactéries du microbiote ne peuvent être cultivée en laboratoire [4]. Le manque de données sur les conditions de croissance de certaines bactéries, la sélectivité des milieux utilisés ainsi que le stress dû aux conditions de cultures sont d'autres limites qui s'ajoutent aux difficultés liés à la simulation des interactions entre les bactéries et les autres microorganismes ou les cellules de l'hôte [283]. Ces limites ont poussé les microbiologistes à se tourner vers des méthodes d'analyse indépendantes de la culture, notamment la biologie moléculaire qui, a offert la possibilité de découvrir des groupes bactériens sans isolement au préalable sur des milieux de culture spécifiques.

B. Techniques indépendantes de la culture :

Les techniques moléculaires ont tout d'abord été utilisées en écologie microbienne dans le but de caractériser des bactéries appartenant à des communautés complexes (milieu marin, sol) [45]. Woese et ses collaborateurs ont décrit en 1977 une technique indépendante de la culture utilisant l'ARN ribosomal 16S bactérien (ARNr 16S) en tant que marqueur de la diversité génétique [19]. En effet, le gène codant l'ARNr 16S (ADNr 16S) présente différentes caractéristiques intéressantes. En plus de sa petite taille (environ 1,5kb), il est présent chez toutes les bactéries et comporte des séquences très conservées qui permettent d'identifier des bactéries appartenant aux mêmes groupes phylogénétiques et aussi des séquences variables qui permettent de distinguer des espèces et des souches bactériennes (fig.27). La plupart des

méthodes indépendantes de la culture sont basées sur l'analyse comparative de l'ARNr 16S. Parmi ces méthodes on retrouve entre autres, les méthodes de séquençage, les méthodes d'empreintes (électrophorèse en milieu dénaturant), les puces à ADN, la PCR quantitative et l'hybridation in-situ couplée à la cytométrie en flux (FISH : Fluorescent In-Situ Hybridization).

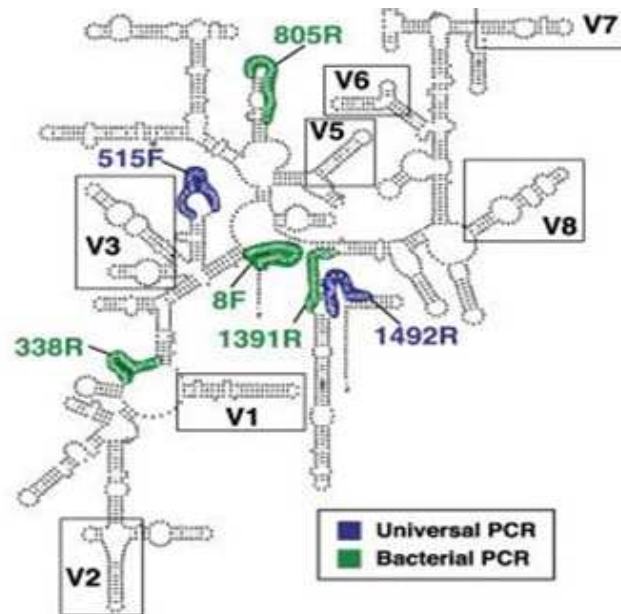


Figure N°27: Représentation de la structure du gène codant l'ARN ribosomal 16S bactérien

a. Méthodes de séquençage :

Ces méthodes permettent une analyse globale du microbiote intestinal. Elles sont cependant coûteuses et l'exploitation des données requièrent une longue analyse bioinformatique.

1. Technique de séquençage complet :

La technique de séquençage complet (*Full-length 16S rRNA sequencing*) est la méthode de référence la plus répandue pour analyser la diversité des bactéries en classant les séquences d'ARNr 16S obtenues en unités taxonomiques opérationnelles (OTU) selon le pourcentage d'identité de séquences. Les OTU sont des indicateurs des différents niveaux de résolution taxonomique. Ainsi, les OTU rassemblent des séquences comportant 99% de similarité

désignent une souche bactérienne. Des pourcentages supérieurs ou égaux à 97%, 95% et 90% indiquent respectivement, une espèce, un genre et une famille [284].

2. Pyroséquençage

Le pyroséquençage consiste en un séquençage partiel (100 à 400 paires de bases) à haut débit d'amplicons de l'ARNr 16S fixés sur des supports solides. L'avantage de cette technique est la capacité de séquencer rapidement en 4 heures environ 25 millions de bases avec 99% d'exactitude. En ajoutant des codes-barres spécifiques lors de l'amplification de l'ARNr 16S, plusieurs échantillons différents peuvent être séquencés en même temps [285]. L'identification phylogénétique, la détection et/ou l'identification de bactéries inconnues sont d'autres atouts de cette technique. Le pyroséquençage a permis de mettre en évidence la modification de la composition du microbiote intestinal après la pose d'un anneau gastrique chez une personne en surpoids [157]. Néanmoins le coût encore élevé du pyroséquençage pour les études du microbiote reste une contrainte majeure à son utilisation.

Les principales technologies disponibles dans le commerce comprennent les systèmes : *454 Pyrosequencing®* de *Roche Diagnostics*, *Illumina®* d'*Illumina* et *SOLiD™* de *Life Technologies* [286].

b. Méthodes d'empreintes moléculaires :

Ces méthodes regroupent des techniques qui permettent d'obtenir le profil des séquences d'ADN de la communauté bactérienne contenue dans un échantillon. Elles permettent donc de comparer des échantillons en fonction des différences de profils observés.

1. Électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE/TGGE) :

La DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) est basée sur la différence de migration entre les nucléotides (ADNr 16S) en fonction de leur composition en nucléotides ou sur les propriétés de renaturation des différents brins d'ADN. Elle nécessite au préalable une étape d'amplification du gène d'intérêt (ADNr 16S) par la technique de PCR. Les séquences ainsi amplifiées sont ensuite séparées sur un gel d'acrylamide en conditions dénaturantes en fonction de leur composition en bases G+C. Le résultat de la migration sur gel permet

d'observer des bandes distinctes correspondant à chaque séquence ce qui permet de visualiser la diversité bactérienne. La dénaturation peut être effectuée par un gradient chimique (DGGE) ou un gradient thermique (TTGE). Des outils statistiques peuvent être utilisés pour calculer les différences entre les profils et donc repérer des changements en fonction des conditions. Elles sont d'ailleurs utilisées de façon courante pour comparer la diversité bactérienne au sein de différents échantillons et suivre les variations en fonction de certaines conditions (temps, traitement). Cette méthode est rapide et relativement peu coûteuse. Cependant, elle est limitée dans l'apport d'informations phylogénétiques [21].

2. Polymorphisme de longueur des fragments de restriction terminaux (T-RFLP) :

La technique de polymorphisme de longueur des fragments de restriction terminaux (T-RFLP) est une technique RFLP automatisée grâce à des produits de PCR marqués par des amorces fluorescentes et à la migration des fragments capillaires. Les fragments terminaux fluorescents d'ADN restreints possèdent une taille variable en fonction de leur séquence [287] et donc, des pics de fluorescence sont enregistrés à différents moments. Elle est aussi couplée à une étape préalable d'amplification dont le gène le plus utilisé est l'ADNr 16S. La taille des pics de fluorescence est un bon outil de quantification. En effet, les pics les plus élevés sont les séquences les plus souvent mises en évidence lors de clonage. Or, les profils obtenus par T-RFLP peuvent être enregistrés dans des bases de données, comme par exemple : *Ribosomal Database Project*, ce qui permet aujourd'hui d'identifier une espèce présente sur un profil de T-RFLP sans passer par un séquençage. De part sa rapidité, sa sensibilité et sa reproductibilité, la T-RFLP peut être un outil de diagnostic efficace.

Récemment, un outil informatique permettant une aide au choix de l'enzyme lors de T-RFLP a été mis en place [288].

3. L'analyse de l'espace intergénique de l'ADN ribosomal (RISA) :

Les espaces intergéniques de l'ADN ribosomal (ITS) sont des séquences très variables en taille et en composition dans l'opéron des trois ARNr (16S, 23S, 5S). Le premier et le plus utilisé, est présent entre l'extrémité 3' du 16SrDNA et l'extrémité 5' du 23SrDNA. Sa taille varie de 400 à 1600 pb, il peut contenir des séquences codantes pour des ARN de transfert ou

aucune séquence codante. Les régions conservées du gène 16S et 23S l'entourant permettent l'appariement des amorces universelles ou plus spécifiques et donc l'amplification de l'ITS. L'analyse de l'espace intergénique de l'ADN ribosomal (RISA) est la technique où l'ITS est amplifié par PCR en ajoutant un marqueur de fluorescence aux amorces. Les amplicons sont ensuite séparés par électrophorèse capillaire et les pics de fluorescence sont enregistrés. Tout comme la T-RFLP, la RISA a une très bonne répétabilité pourtant l'inconvénient principal est toujours lié au nombre de copies différentes de l'ITS, 85% des espèces produisent deux voire trois pics [45].

c. Les puces à ADN

Le principe de la puce à ADN est basé sur la technique d'hybridation. La puce phylogénétique est constituée de fragments d'ADN immobilisés (spot) sur un support solide (matrice) selon une disposition ordonnée. En parallèle, les échantillons d'ADN à analyser sont marqués avec un fluorochrome. Après hybridation de l'échantillon biologique marqué sur la puce, chaque spot excité par un laser est analysé individuellement par un scanner à très haute résolution. Une analyse bio-informatique du signal va permettre d'estimer l'intensité de la fluorescence qui est proportionnelle à l'intensité d'expression des gènes (fig.28).

Les puces phylogénétiques offrent la possibilité d'évaluer la structure, l'identité phylogénétique et l'activité métabolique d'un certain nombre de bactéries ou communautés bactériennes cibles appartenant au microbiote intestinal [289,290]. Certaines de ces puces à ADN sont disponibles dans le commerce, comme par exemple : HITChip™ (Agilent Technologies Inc) et la PhyloChip™ (Affymetrix) [291-293]. Elles présentent une stratégie intéressante pour l'étude à haut débit des communautés microbiennes complexes. Cette technique est rapide, qualitative et/ou quantitative et plusieurs échantillons peuvent être testés simultanément.

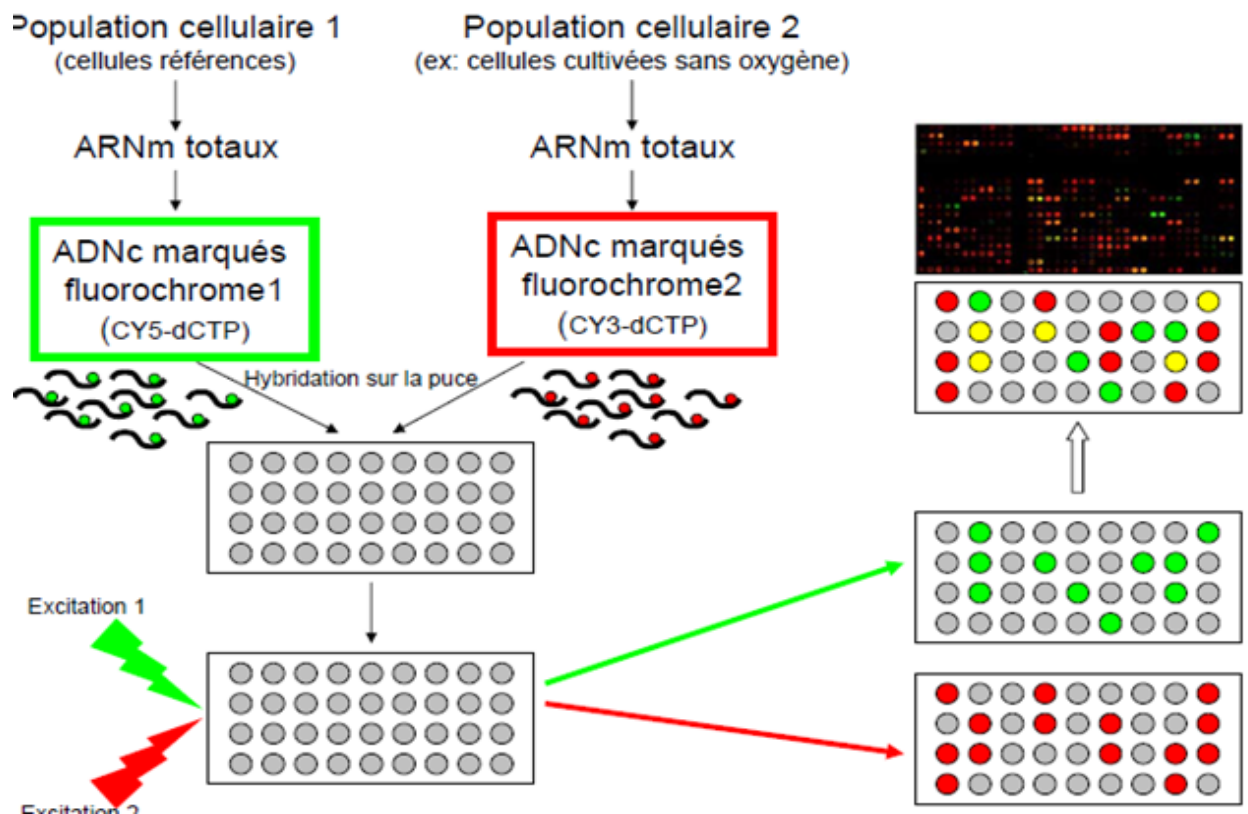


Figure N°28: Analyse des résultats sur une lame de microarray

d. FISH et qPCR

1. L'hybridation fluorescente in situ (FISH) :

La détection de séquences nucléotidiques s'effectue indirectement par hybridation des sondes (ADN recherchées) sur une molécule d'ADN cible. La révélation du complexe sonde-ADN cible consiste à faire reconnaître les sondes par des anticorps flanqués de molécules fluorescentes. L'observation des séquences hybridées s'effectue à l'aide d'un microscope à épifluorescence, qui éclaire l'échantillon avec une lumière de longueur d'onde assez spécifique, et récupère la lumière émise par les sites fluorescents, en général de longueur d'onde supérieure, ce qui permet de n'observer que les sites hybridés. Une étude rapporte qu'un ensemble de 15 sondes permettrait de caractériser environ 90% des bactéries d'un microbiote intestinal normal [294].

Un avantage de cette technique est la possibilité de l'utiliser directement sur l'échantillon de fèces. De plus, en combinaison avec la cytométrie en flux, elle devient une méthode quantitative à haut débit pour l'analyse du microbiote intestinal [79]. En recherche clinique, la technique de FISH est principalement utilisée pour comparer le microbiote intestinal de patients sains et de patients malades par exemple. Cette technique permet également de distinguer l'abondance relative d'un nombre restreint d'espèces ou de familles. Cette technique est rapide et quantitative mais avec une limite de quantification plus élevée que la qPCR.

2. Polymerase Chain Reaction qPCR

La qPCR (PCR quantitative) est une application de la PCR, peut être utilisée seule ou en combinaison avec d'autres techniques. Elle utilise des amorces spécifiques qui ciblent des groupes de bactéries pour l'amplification par PCR de l'ADNr 16S extrait de l'échantillon. Cela permet d'évaluer la quantité des bactéries recherchées par rapport au total. Par exemple, des études sur le microbiote intestinal utilisant uniquement la qPCR ont permis de montrer des changements dans la composition du microbiote liés à l'âge du patient, à l'administration d'antibiotiques ou encore à un état physiologique. La qPCR couplée à d'autres techniques moléculaires (empreintes moléculaires, puces à ADN) permet de fournir des informations plus détaillées sur la diversité et l'abondance du microbiote intestinal [295-297]. Comme la FISH, cette technique permet l'identification de bactéries recherchées à l'aide de sondes spécifiques et pose donc des limites dans le cas de l'identification de nouvelles espèces bactériennes.

C. Les Méthodes de La Méta-analyse :

La plupart des méthodes indépendantes de la culture sont basées sur l'analyse comparative de l'ARNr 16S. Elles permettent d'évaluer la composition mais ne donnent pas d'informations concernant les fonctions de ce microbiote. La compréhension de ce réseau complexe a nécessité le développement de nouvelles approches basées sur la métagénomique, se référant à l'étude des génomes de l'ensemble des organismes présents dans un échantillon. En complément, il existe d'autres approches, notamment la métatranscriptomique qui étudie l'ARN, la métabolomique pour les protéines enfin la métabolomique pour les métabolites (fig.29).

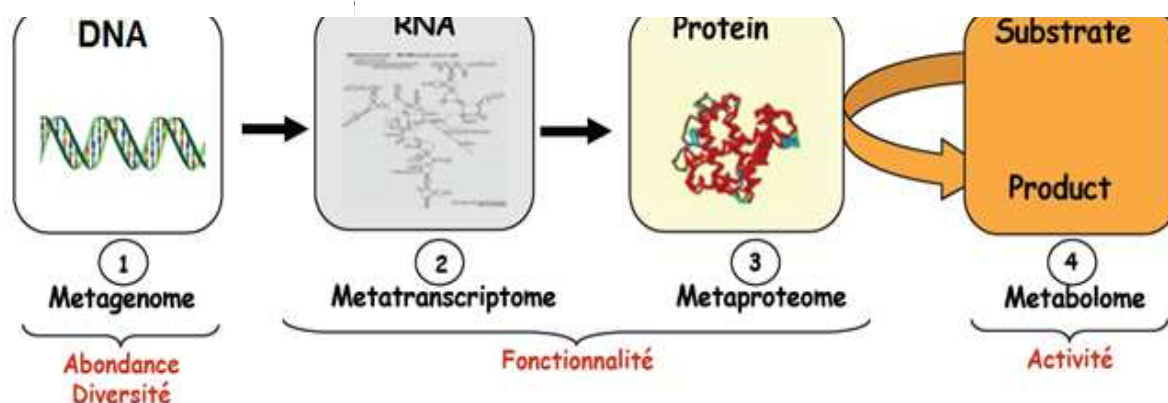


Figure N°29: Cibles et approches « Méta-analyses » associées pour l'étude des communautés microbiennes.

a. Métagénomiques

La métagénomique a été initialement décrite en 1998 par Handelsman et Rodon [299,300]. Fournie une vision quasi exhaustive des populations microbiennes présentes au sein d'un échantillon. Elle est définie comme étant l'analyse sans a priori de tous les génomes des microorganismes présents dans un environnement défini ou dans un écosystème donnant ainsi un aperçu des fonctions de toutes les bactéries présentes, même non cultivées. Cette technique implique le séquençage de l'ensemble des séquences d'ADN contenus dans l'échantillon.

Après extraction de l'ADN total, celui-ci est scindé en fragments de 40 kilobases (environ 40 gènes bactériens) insérés dans un vecteur et transformé dans une bactérie aisément cultivable (généralement *E.coli*). L'expression des gènes bactériens insérés permet ainsi à la bactérie hôte de sécréter les protéines correspondantes, dont les fonctions peuvent alors être analysées. Des techniques de criblage permettent, entre autres, d'étudier l'impact de ces protéines bactériennes sur l'hôte et de distinguer les caractéristiques fonctionnelles et le rôle biologique du microbiote intestinal dans des conditions normales ou pathologiques (fig.30).

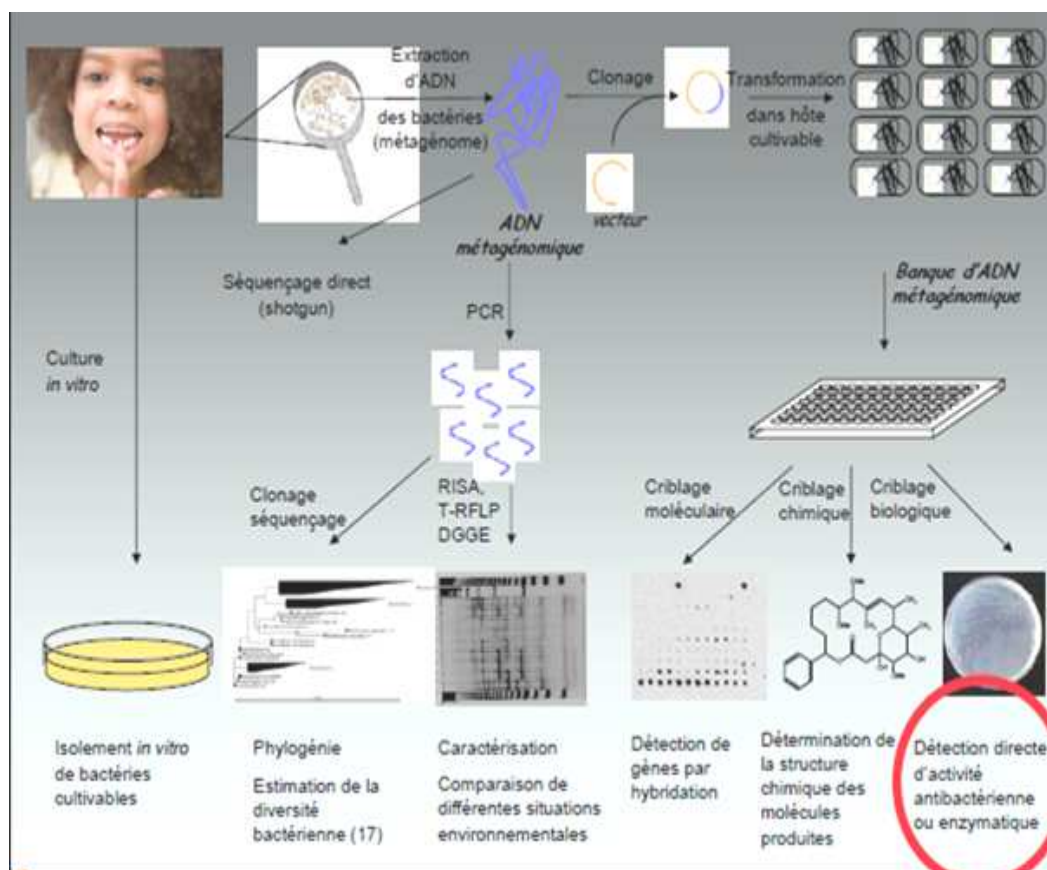


Figure N°30: Schéma général de l'approche métagénomique

La métagénomique a permis de constituer par ailleurs un catalogue de référence très étendu de l'ensemble des gènes (des ARN ribosomique, des protéines, des petits ARN régulateurs...), établi grâce au séquençage de microbiotes provenant d'un nombre d'individus représentatifs de la variabilité de l'espèce considérée, suivi de l'annotation des gènes identifiés. Le catalogue de gène du microbiote intestinal a été caractérisé chez l'Homme dans le cadre du vaste projet européen MetaHit, selon une étude menée chez 124 européens, il a été rapporté entre 1000 et 1150 espèce bactériennes différentes dans le microbiote, chaque individu en hébergerait environ 160 [26], le séquençage de l'ADN total a généré 576,7 Go de séquence, près de 200 fois plus que dans toutes les études précédentes, réunis en contigs et prédit 3,3 millions uniques cadres ouverts de lecture (ORF). Et puis, la complexité du génome associé au microbiote intestinal (microbiome) a été montrée par différentes études et cela a conduit à l'établissement du concept de « super-organe ».

La métagénomique évite d'une part, la nécessité d'isoler les bactéries par des étapes de culture et d'autre part, la connaissance à priori des séquences ADN des membres de la communauté bactérienne. Cependant, elle est limitée par le nombre de séquences génomiques disponibles dans des banques de donnée.

b. Métatranscriptomiques :

Savoir quelles sont les fonctions exprimées par les communautés microbiennes est un enjeu majeur pour comprendre le fonctionnement des écosystèmes et dans quelles mesures les microorganismes peuvent y jouer un rôle. Au-delà des génomes, il est donc essentiel de savoir quelles séquences d'ADN sont transcrites en ARN puis traduites en protéines. L'étude des transcriptomes passe par l'établissement de profils d'expression d'ARN messagers. Les outils de métatranscriptomique sont généralement utilisés pour identifier les activités métaboliques exprimées par l'ensemble des microorganismes cohabitant dans un même environnement. Un métatranscriptome peut aussi être considéré comme une ressource génétique dont l'exploration permet d'identifier de nouveaux processus et fonctions biologiques [45]. Ainsi, la métatranscriptomique peut être utilisée pour détecter des changements dans les profils d'expression génique à l'échelle communautaire en réponse à différents stimuli environnementaux. Pourtant, l'inconvénient principal est toujours lié à l'ARN puisqu'il est rapidement dégradé, ce qui pourrait causer la perte des informations.

c. Métaprotéomiques :

Le protéome et le métabolome représentent respectivement l'ensemble des protéines produites par un organisme ou une communauté à un moment donné. La métabolomique est une approche récemment utilisée pour identifier les protéines fonctionnelles présentes, cette méthode peut être utilisée pour comparer les communautés dans un contexte fonctionnel, ainsi elle permet d'identifier les protéines de l'hôte associées au microbiote intestinal, elle est utile parce que les étapes de séparation de la protéine peuvent être modifiées de manière à sélectionner pour les protéines de l'hôte qui interagissent avec les protéines microbiennes spécifiques. La métabolomique utilise la spectrométrie de masse (non-targeted shotgun) pour évaluer la diversité et l'abondance des protéines contenues dans le métabolome de

l'intestin, méthode récemment utilisée pour analyser le protéome complexe du microbiote intestinal humain [301].

Cependant, étant donné le nombre très important de protéines existantes, leur fonction n'est pas forcément connue et ces outils, bien que prometteurs, ne permettent d'obtenir qu'une image partielle de l'activité communautaire. Ainsi, l'application récente de la métaprotéomique appelle à des étapes importantes d'optimisation, notamment l'amélioration de la purification des protéines et de la capacité de détection, afin de faciliter la reconnaissance des membres des communautés microbiennes présentes à faible abondance.

d. Métabolomiques :

La métabolomique est une autre technique utilisée pour étudier la fonction des populations microbiennes complexes. En fait, l'identité et la quantité des différents métabolites dépendent de plusieurs facteurs tels que les nutriments disponibles, les stimuli environnementaux, ou l'état physiologique. L'ensemble de ces métabolites est nommé métabolome. L'analyse du métabolome permet à la fois d'identifier et quantifier des métabolites qui présentent un intérêt intrinsèque, ou qui sont le reflet d'une activité biologique d'intérêt, dans un court laps de temps [302]. La comparaison des métabolomes de deux individus permet de faire le lien entre génotypes et phénotypes, la comparaison des métabolomes d'un même individu dans des conditions différentes permet d'élucider l'influence du milieu sur le phénotype exprimé. La métabolomique permet une meilleure compréhension de la biologie des systèmes en mettant en évidence des interactions métaboliques qui n'auraient pas pu être détectées avec des approches biochimiques traditionnelles. C'est une méthode puissante qui va certainement aider à identifier et caractériser de façon systématique tous les métabolites produits par le microbiote intestinal, à partir des contenus digestifs, ce qui va donner une idée précise sur l'activité du microbiote et de ses effets potentiels sur l'hôte.

**INFLUENCE DU MICROBIOTE INTESTINAL
SUR LA PHYSIOLOGIE DE L'HÔTE :
FONCTIONS ET RÔLES**



Figure N°31: Le microbiote intestinal et ses rôles multiples chez son hôte

Le microbiote intestinal humain est composé de plusieurs centaines d'espèces bactériennes représentant, si l'on met bout à bout leurs génomes, un pool de gènes 100 à 150 fois supérieur à celui du génome humain, soit un nombre considérables de fonctions physiologiques qui ont des répercussions importantes sur l'hôte. Parmi les grandes fonctions du microbiote, la fermentation des substrats disponibles au niveau du côlon, le rôle de barrière à la colonisation par les microorganismes pathogènes, le développement et la maturation du système immunitaire intestinal et les interactions avec les cellules épithéliales. Ces bactéries ont des rôles essentiels pour le maintien de la santé de l'hôte (fig.31).

A. Les fonctions métaboliques et nutritionnelles

Les bactéries du microbiote intestinal peuvent participer au métabolisme de l'hôte en consommant des éléments non digérés par l'hôte comme les carbohydrates (pectine, cellulose...), fournissant ainsi des nutriments à l'hôte ou à d'autres bactéries du microbiote. De plus, l'impact du microbiote intestinal pourrait aussi contrôler les préférences individuelles comme celle pour le chocolat par exemple.

L'influence principale du microbiote sur le métabolisme de l'hôte provient du métabolisme bactérien des composés présents dans le côlon (qui contient le plus grand nombre de bactéries) et en particulier du métabolisme des sucres, des gaz et des protéines. Ainsi, les besoins énergétiques des animaux axéniques sont 20 à 30% supérieurs à ceux de leurs homologues conventionnels, colonisés naturellement à la naissance [18].

a. Métabolisme des glucides :

La quantité de glucides fermentescibles (présents dans les céréales, les fruits et les légumes) arrivant au côlon varie de 10 à 60 g/jour selon les individus et leur régime alimentaire. Différents groupes bactériens du microbiote colique humain participent à la dégradation anaérobie de ces substrats. Les groupes bactériens ont des activités complémentaires leur permettant de former une chaîne trophique conduisant à la transformation des polysides en métabolites fermentaires.

1. Dégradation des polysides

Les bactéries fibrolytiques « hydrolytiques » assurent la première étape d'hydrolyse des polymères glucidiques en fragments de petite taille (oses, oligosides...) grâce à des hydrolases (polysaccharidases, glycosidases...), enzymes non produites par les cellules eucaryotes humaines. Les bactéries glycolytiques prennent ensuite le relais en transformant les glucides produits, majoritairement par la glycolyse. Les principales espèces bactériennes, pour lesquelles une activité hydrolytique à l'égard des polymères glucidiques a été démontrée, appartiennent aux genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia* ainsi qu'aux *Clostridium*, *Eubacterium* et *Enterococcus* [303]. De plus, une même fonction

hydrolytique peut être assurée par des espèces bactériennes phylogénétiquement très éloignées, par exemple l'amidon peut-être hydrolysé par des bactéries du genre *Bacteroides* mais aussi par des *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia*. La majorité des espèces utilisent ensuite la glycolyse pour convertir les glucides en pyruvate qui, sera lui-même transformé en produits finaux de la fermentation, les AGCC (acétate, propionate, butyrate) (fig.32).

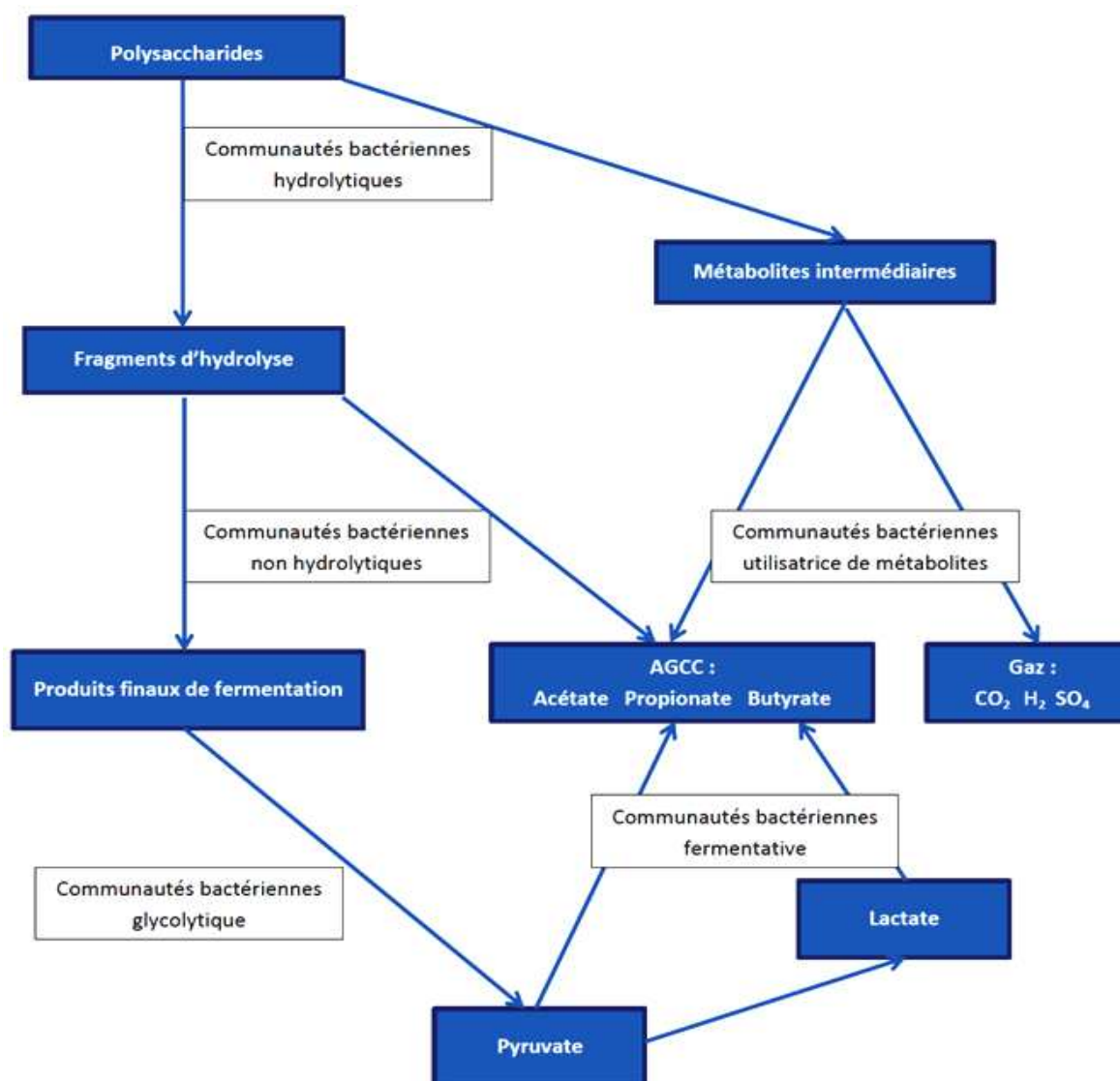


Figure N°32: Chaîne trophique de dégradation et fermentation des polysaccharides dans le côlon humain

2. Fermentation des glucides :

La fermentation des glucides par le microbiote intestinal est associée à une production et une absorption importante d'AGCC, rapidement absorbés au niveau de l'épithélium intestinal et métabolisés dans différents organes (épithélium colique, foie, muscle, cœur...). Toutefois, un certain nombre d'espèces produisent également des métabolites intermédiaires comme le succinate, le lactate, l'éthanol, le formate qui ne s'accumulent pas dans l'écosystème, mais sont métabolisés par d'autres espèces bactériennes.

La plupart des espèces présentes dans le côlon se caractérisent *in vitro* par une fermentation de type acide-mixte et produisent donc plusieurs métabolites lors de l'utilisation d'un substrat. L'acétate est synthétisé lors de la fermentation des glucides par la majorité des espèces prédominantes du côlon (*Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*...). La voie majeure de biosynthèse de ce métabolite est la décarboxylation oxydative du pyruvate, qui conduit à la synthèse d'une molécule d'ATP.

Le propionate est principalement synthétisé par les espèces du genre dominant *Bacteroides* ainsi que par les *Propionibacterium* et *Veillonella*. Dans le côlon humain, les deux voies possibles de biosynthèse du propionate (voie du succinate et voie d'acrylate) pourrait exister. Alors pour la synthèse de butyrate, seules quelques espèces appartenant aux genres *Clostridium*, *Eubactérium*, *Fusobacterium*, *Butyrivibrio* ainsi que *Coprococcus*, *Roseburia* et *Faecalibacterium* s'avéraient capable de produire ce métabolite par fermentation des glucides dans le côlon. La voie principale de biosynthèse du butyrate passe par la condensation de 2 molécules d'acétyl-S-CoA et s'accompagne de la synthèse d'une molécule d'ATP.

Le lactate est produit par fermentation des oses par des bactéries appelées lactiques appartiennent principalement aux genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* ainsi que *Streptococcus* et *Enterococcus*. Le lactate produit par fermentation dans le côlon est, pour une large part, réutilisé, *in situ*, par des espèces utilisatrice de ce composé. Ce groupe fonctionnel, dont la structure a été récemment étudiée [304], métabolise le lactate en propionate ou en butyrate, selon l'espèce et/ou les conditions environnementales considérées.

Ces AGCC jouent un rôle important dans la physiologie de l'intestin, en contrôlant la prolifération et la différenciation des cellules épithéliales au niveau du côlon [305], notamment

le butyrate qui est consommé en grande partie par les côlonocytes. Également, les AGCC participent au maintien de l'homéostasie intestinale en stimulant les lymphocytes T régulateurs dans la muqueuse intestinale. Ainsi, il a été montré que l'acétate contribue à la fourniture d'énergie au tissu musculaire et sert de substrat à la synthèse du cholestérol. Le propionate est quant à lui essentiellement utilisé par le foie pour la néoglucogenèse, la lipogenèse ou la synthèse protéique. Enfin, le butyrate est directement utilisé par l'épithélium colique qui tire 60 à 70% de son énergie des produits de la fermentation bactérienne [306], il exerce des propriétés d'immunomodulation locale [125]. Au final, la fermentation colique des glucides fournit entre 3 et 11% des besoins énergétiques d'entretien d'un européen consommant un régime pauvre en résidus végétaux non digestibles [307].

b. Métabolisme des gaz :

Le microbiote intestinal est impliqué dans la production, le maintien et l'homéostasie des gaz dans le côlon de manière quotidienne. L'hydrogène, formé par la fermentation, est produit en grandes quantités (environ 300 ml/g de substrat fermenté). L'hydrogène est ensuite, en partie, excrété par voies pulmonaire et anale, la majeure partie de l'hydrogène est transformée *in situ* par les bactéries du microbiote colique. Trois principaux types de transformation sont possibles : une transformation en méthane par les archaeaméthanogènes, en acétate par les bactéries acétogènes (synthèse d'acétate à partir de H_2 et CO_2) les espèces acétogènes hydrogénotrophes appartiennent à divers genres bactériens : *Ruminococcus*, *Clostridium* et *Streptococcus* [308], et enfin en sulfures par les bactéries sulfato-réductrices (dont le genre prédominant est *Desulfovibrio*), la réduction du sulfate par l' H_2 conduit à la formation de sulfure, composés potentiellement toxiques pour le côlonocyte.

c. Métabolisme des protéines :

Le métabolisme des protéines est quantitativement moins important que celui des polysaccharides mais est fondamental dans le côlon. Les protéines représentent en effet la principale source d'azote pour les bactéries coliques. On estime de 6 à 18 g/jour, la quantité totale de composés azotés présents dans le côlon dont 1 à 2 g venant de l'iléon.

1. Protéolyse :

Dans un premier temps, l'hydrolyse des protéines par les enzymes protéolytiques (protéases) aboutit à la libération dans le côlon de peptides utilisables par les bactéries

intestinales, puis à des acides aminés (fig.33). Ces protéases possèdent un pH optimal voisin de la neutralité, et la production d'acides lors de la fermentation des glucides peut influencer le pH colique et donc susceptible de moduler l'activité protéolytique, cette activité est supportée par un nombre important de bactéries coliques : *Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus* [309]. Les protéases sont soit extracellulaires (*Clostridium* ou *Propionibacterium*) soit associées à la cellule (*Lactobacillus*).

2. Métabolisme des peptides et acides aminés :

Les peptides issus de la protéolyse peuvent ensuite être directement métabolisés par certaines espèces bactériennes permettant la libération d'acides aminés libres qui seront utilisés par d'autres bactéries incapables d'assimiler des peptides. Chez certaines bactéries, les acides aminés sont utilisés comme source d'énergie principale et ne fermentent pas les glucides alors que d'autres utilisent les acides aminés uniquement comme sources d'azote [309].

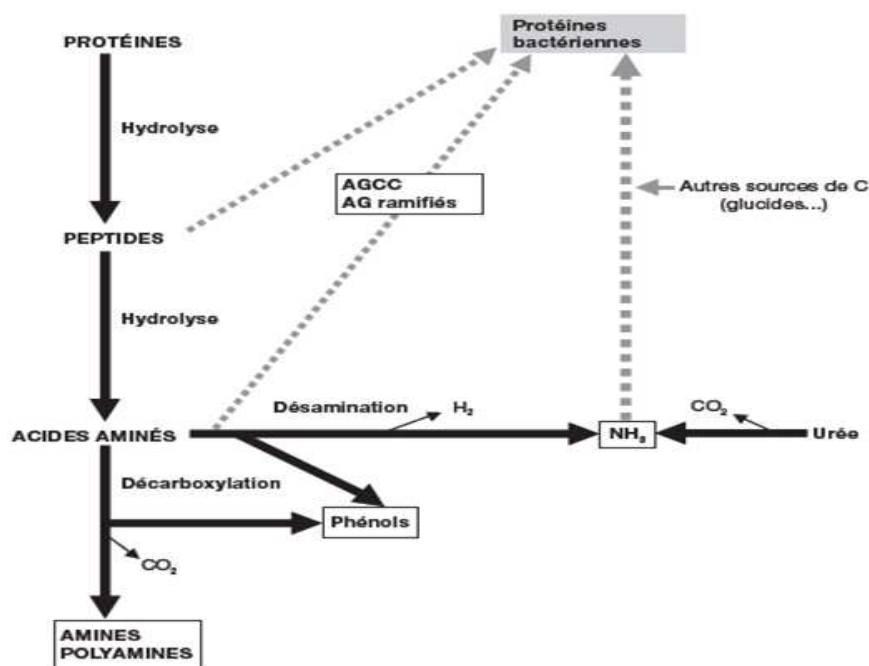


Figure N°33: Métabolisme microbien des protéines dans le côlon humain : Relation entre protéolyse et protéosynthèse bactérienne

La fermentation des acides aminés met en jeu des réactions d'oxydation et de réduction qui vont aboutir à la formation d'AGCC, d'acides gras ramifiés (isobutyrate, 2-méthylbutyrate, isovalérate), de phénols, d'indole et d'ammoniac (fig.33). Ces métabolites sont issus par la dégradation des acides aminés aromatiques (tyrosine, tryptophane et phénylalanine) par des certaines espèces de *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et d'entérobactéries. Les phénols et l'indole sont ensuite détoxifiés par la muqueuse colique, puis excrétés dans les urines. L'ammoniac est également absorbé dans le côlon, il passe dans la circulation portale pour atteindre le foie où il est transformé en urée qui sera éliminée par voie urinaire. L'ammoniac est aussi une source majeure d'azote pour les bactéries du microbiote colique qui l'utilise pour former des acides aminés [309].

d. Métabolisme des lipides :

La quantité de lipides totaux qui parviennent dans le côlon en conditions physiologiques a été évaluée entre 5 et 8 g/jour. Ces lipides proviennent de trois origines : les lipides arrivant du tractus intestinal d'amont, les lipides provenant de la desquamation des cellules épithéliales coliques et les lipides bactériens.

1. Métabolisme des acides gras :

Les acides gras non absorbés dans l'intestin subissent de multiples transformations (hydrolyse, oxydation, réduction, hydroxylation...) dans le côlon grâce à l'action de bactéries du microbiote intestinal. De nombreuses espèces bactériennes possèdent des lipases permettant d'hydrolyser les triglycérides à chaînes longues. Par ailleurs, les acides gras insaturés à 18 carbones sont réduits (ou bio-hydrogénés) par le microbiote intestinal, tandis que les acides gras à 20 ou 22 carbones ne seraient pas métabolisés [310]. Des acides gras tels que l'acide oléique peuvent, quant à eux, être hydroxylés en acide 10-hydroxy-stéarique qui peut par la suite, être impliqué dans les diarrhées associées aux stéatorrhées. Enfin de nombreux micro-organismes, notamment les bactéries Gram-positives, possèdent des activités phospholipasiques, différant par la spécificité de leurs substrats et par leurs produits d'hydrolyse. Certains de ces produits, tels les diglycérides et inositol triphosphates, peuvent

pénétrer dans les cellules de l'hôte et agir comme messagers intracellulaires, en particulier au sein de voies de signalisation qui contrôlent l'expression de gènes [311].

2. Métabolisme des stérols : cholestérol, acides biliaires, hormones stéroïdiennes :

Le cholestérol colique dont 70% provient de la bile, 20% de l'alimentation et 10% de la desquamation des cellules épithéliales intestinales. Une fraction de la population héberge un microbiote intestinal capable de convertir ce cholestérol en coprostanol, non absorbé par l'intestin et donc éliminé dans les fèces. Ce métabolisme pourrait ainsi limiter l'absorption du cholestérol et donc le risque de maladies cardiovasculaires. Ce n'est que très récemment qu'une souche bactérienne convertissant le cholestérol et issue d'un microbiote fécal humain a été isolée et caractérisée, nommée *Eubacterium coprostanoligenes* [312].

Les acides biliaires sont un produit de transformation du cholestérol par le foie, sont ensuite conjugués à la glycine ou à la taurine. 95% des acides biliaires sécrétés dans la bile sont réabsorbés dans l'iléon terminal, puis transportés par la veine porte au foie où ils sont à nouveau excrétés dans la bile (cycle entérohépatique des acides biliaires). Seuls 5% des acides biliaires sécrétés dans la bile parviennent donc au côlon et sont métabolisés (déconjugaison, oxydation, épimérisation...) par les bactéries du microbiote en acides biliaires secondaires [313]. La déconjugaison est catalysée par une hydrolase spécifique, rencontrée chez des espèces appartenant aux genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Listeria* [314]. La déconjugaison rend les acides biliaires plus hydrophobes ce qui favorise leur absorption passive. Les acides cholique et chénodésoxycholique (acides biliaires primaires) sont majoritaires chez l'homme et sont transformés par 7 α -déshydroxylation par les bactéries du microbiote colique en acides désoxycholique et lithocholique (acides biliaires secondaires) qui pourraient avoir des effets carcinogènes sur la muqueuse colique, les bactéries intestinales d'origine humaine possédant cette activité ont toutes été identifiées comme appartenant au genre *Clostridium* [313].

Les hormones stéroïdiennes suivent les mêmes voies métaboliques avec conjugaison hépatique, déconjugaison bactérienne colique et circulation entérohépatique. Ces hormones

stéroïdiennes sont métabolisées par le microbiote au niveau du côlon, la déconjugaison est effectuée par l'intermédiaire de glucuronidases portées surtout par *E.coli* et des espèces du genre *Bacteroides* et par des sulfatases détectées chez des espèces appartenant aux genres *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Bacteroides* et *Peptococcus*.

e. Régulation et stockage énergétique

Il a été récemment montré que le microbiote intestinal des patients, ainsi que de souris obèses, était capable d'augmenter la biodisponibilité énergétique de la nourriture. Cela signifiait que les bactéries pouvaient transformer les fibres alimentaires non digestibles en composés nutritionnels directement assimilables par l'organisme [315]. En effet, La première mise en évidence du rôle du microbiote intestinal dans la régulation de l'homéostasie de l'énergie et de la graisse est venue d'une expérience sur des souris axéniques qui présentaient une masse grasseuse 40% moindre que les souris conventionnelles (normalement pourvues de microorganismes). Cette diminution de masse grasseuse était aussi observée même si l'apport calorique était augmenté de 29% chez les souris stériles. Et puis, les souris axéniques ont rapidement repris du poids lorsqu'elles ont été colonisées par un microbiote conventionnel [18]. Dans une autre étude, les scientifiques ont alimentés avec un régime riche en hydrocarbure des souris stériles et des souris conventionnelles. Après 8 semaines, les souris stériles présentaient un poids et une masse grasseuse moindre alors que l'étude des selles de chaque souris (stériles et conventionnelles) montre une similitude du contenu énergétique. Cet effet physiologique était associé à l'augmentation de l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme du glucose et des lipides [316]. Trois voies principales ont été décrites pour contrôler ce mécanisme:

- Le Fast-induced adipocyte Factor (Fiaf), produit par l'intestin, le foie et le tissu adipeux, aussi appelé angiopoietin-like 4, est un inhibiteur de l'activité de la lipoprotéine lipase (Lpl) dont l'expression du gène est réprimée par le microbiote intestinal, la Lpl a pour rôle d'augmenter l'assimilation des acides gras par les cellules et l'accumulation des graisses dans les adipocytes. Nous avons déjà indiqué précédemment, qu'une souris axénique présentait un taux de graisse moins important que la souris conventionnelle à régime

alimentaire égale, par contre une souris axénique *Fiaf*^{-/-} présente le même degré de graisse qu'une souris conventionnelle [316], ce qui suggère que le *Fiaf* est un médiateur de la régulation microbienne du stockage de l'énergie chez l'hôte [18]. Une étude récente a montré que *Lactobacillus paracasei* était capable d'augmenter la sécrétion de *Fiaf* au niveau des cellules épithéliales et donc de diminuer l'activité de la *Lpl* et le stockage des graisses [317]. De plus, le *Fiaf* apparaît avoir un rôle important dans la régulation centrale du métabolisme énergétique par inhibition de l'activité de l'AMPK hypothalamique (rôle de satiété et anorexigène) [318].

- D'autre part, chez les souris axéniques présentant un phénotype mince, le niveau de phosphorylation de l'AMP-activated protéine kinase (AMPK) dans les muscles et le foie est élevé. Cette protéine est décrite comme une «jauge de carburant» qui contrôle le statut de l'énergie cellulaire [316].

- Enfin, deux protéines G présentes sur les cellules épithéliales (*Gpr41* et *Gpr43*) qui ont comme ligands deux AGCC, l'acétate et le butyrate, influencent aussi le stockage d'énergie. Une étude a montré que *Gpr41* pourrait être un régulateur par des effets qui sont dépendants du microbiote du tractus intestinal et de leurs capacités métaboliques [319]. *Gpr43*, quant à elle, pourrait fournir une liaison entre le régime, le métabolisme bactérien gastro-intestinal et les réponses immunitaires/inflammatoires et de plus pourrait probablement aussi jouer un certain rôle dans la carcinogenèse du côlon [191].

f. Métabolisme des xénobiotiques

Le microbiote est une usine biochimique capable de dégrader et modifier de très nombreuses substances introduites dans l'organisme par voie digestive [320]. Un nombre restreint d'études montrant l'effet du microbiote sur le métabolisme des médicaments. Il a été indiqué une inactivation de certaines molécules comme la L-DOPA, la digoxine ou la sulfasalazine. L'approche métagénomique a apporté des précisions capitales sur les différentes étapes de dégradation des médicaments permettant de mettre en évidence des variations en fonction du type de microbiote des individus et d'instaurer des traitements personnalisés [321]. C'est ce qui a été fait pour la simvastatine [322]. En outre, très récemment,

un groupe de chercheurs a montré l'inactivation de la digoxine par une souche du microbiote intestinal (*Eggerthella lenta*) permettant d'expliquer l'absence d'activité de cette molécule chez certains patients [323]. Avec le développement très rapide des connaissances sur le microbiote intestinal et les nouvelles technologies qui sont utilisées, une nouvelle discipline vient de naître, alliant microbiologie, pharmacologie, génomique et métabolisme, sous le nom de pharmacomicrobiomique [324].

g. Métabolisme vitaminique et minéral :

Enfin, le microbiote colique participe à la synthèse de certaines vitamines comme la vitamine K et des vitamines du type B (folate, biotine, riboflavine, acide pantothénique) [325]. Environ 60% de la vitamine K est synthétisée par les bactéries coliques [11]. Le déficit en vitamine K est donc rare chez les patients à côlon intact, mais peut être observé chez les patients privés de côlon, porteurs d'une entérostomie prolongée de l'intestin grêle ou chez ceux qui ont reçu des antibiotiques à large spectre. Ainsi, le microbiote participe à la bioconversion de micronutriments ou de composés endogènes aboutissant selon les cas à leur activation ou inactivation, à l'absorption du calcium, du magnésium et du fer.

En plus, la disponibilité en nutriments essentiels semble favoriser certaines fonctionnalités microbiennes. Le microbiote fécal des enfants Malaisiens et Amérindiens présente une activité de biosynthèse de la vitamine B2 (riboflavine) et une activité uréase plus importante que celui des enfants Nord-Américains en relation avec le plus faible apport en protéines animales dans ces populations [326].

B. Fonction de protection : effet barrière

L'effet de barrière est un effet protecteur du microbiote intestinal essentiellement vis-à-vis des bactéries pathogènes. Il forme la première ligne de défense de l'organisme et permet de mettre en place une résistance à la colonisation d'agents pathogènes, cette résistance est communément utilisée pour décrire les capacités du microbiote intestinal à résister à l'invasion par des microorganismes pathogènes et à prévenir la croissance de pathogènes potentiels présents naturellement en faible nombre dans le tractus digestif [327,328]. C'est une fonction parfaitement acceptée du microbiote intestinal. En effet, les bactéries symbiotiques

du microbiote intestinal s'opposent à la colonisation du tractus gastrointestinal par des mécanismes distincts, encore discutés.

De par sa diversité et sa stabilité, le microbiote est un redoutable compétiteur en terme d'occupation de niche, bloquant alors l'accès des pathogènes aux sites d'ancrage épithéliaux et aux nutriments ce qui diminue leur pouvoir de colonisation de la lumière intestinale [305]. Ainsi, L'utilisation des nutriments par le microbiote endogène joue un rôle dans la répression des espèces pathogènes résidentes comme *Clostridium difficile* à de faibles niveaux dans l'intestin. Les activités métaboliques intrinsèques du microbiote intestinal endogène permettent de créer les conditions à l'intérieur de l'intestin qui peuvent inhiber la croissance et l'expression des gènes de virulence de pathogènes envahisseurs. Les AGCC peuvent agir comme inhibiteurs de l'expression des gènes de virulence. Par exemple, l'exposition de *Salmonella enterica* au butyrate régule négativement l'expression des gènes de virulence du système de sécrétion de type III et diminue ainsi sa capacité à envahir ou à induire l'apoptose des cellules hôtes [329]. En plus des effets directs inhibiteurs, la production d'AGCC et d'autres acides organiques tels que le lactate provoquent également des réductions localisées de pH à des niveaux inférieurs à l'optimum de croissance de pathogènes entériques tels que *Salmonella spp* et *Escherichia coli* O157, inhibant ainsi leur développement *in vivo*. Au demeurant, la quantité d'O₂ est réduite par l'activité métabolique des bactéries intestinales conduisant ainsi à des conditions anaérobies le long du tractus digestif *Shigella flexneri*, pathogène responsable de la dysenterie, en condition anaérobie dans le tractus gastro-intestinal, est incapable d'exprimer les gènes de virulence qui contrôlent l'activité de son système de sécrétion de type III [330]. D'autre part, la présence physique du microbiote dans le tractus GI inhibe la colonisation par des espèces pathogènes. Par exemple, il a été montré *in vitro* que la présence dans des isolats fécaux de bactéries Gram+ anaérobies a un effet inhibiteur plus grand sur la croissance de souches pathogènes entériques que des isolats contenant des souches Gram- anaérobies [331].

Par ailleurs, la protection de l'intégrité de l'hôte comprend également la production et la sécrétion de composés antimicrobiens par les bactéries du microbiote intestinal comme les bactériocines, molécules chimique bactériostatiques ou bactéricides capables de réguler les

populations de l'écosystème et qui se révèlent délétères pour les bactéries pathogènes [332,333]. L'effet bactéricide de ces peptides sur des pathogènes est démontré *in vitro* et *ex vivo* mais semble plus controversé *in vivo* et la majeure partie des souches testées sont des probiotiques n'appartenant pas au microbiote résidant [334], mais une étude a démontré que les composées antimicrobiens sécrétés par *Lactobacillus spp* diminuent la colonisation *in vivo* par des souches d'*E.coli* [335]. Néanmoins, ces bactériocines constituent de nouvelles molécules d'intérêt pour le développement d'antibiotiques [336]. De plus, la présence du microbiote intestinal régule la composition du mucus qui recouvre et protège la muqueuse intestinale. Ce mucus contient principalement des mucines qui servent de barrière physique entre l'épithélium intestinal et les bactéries mais aussi des agents antibactériens (lysozymes, IgA, défensines et cathélicidines) produits par les cellules épithéliales, particulièrement par les cellules de Paneth situées au fond des cryptes de Lieberkühn. De ce fait, elles participent activement à l'immunité innée.

Le dernier mécanisme mis en jeu dans cet effet barrière est la capacité du microbiote à stimuler le système immunitaire inné et adaptatif de l'hôte contre les pathogènes [171], c'est le cas lors d'infection à *Salmonella enterica enterica* sérovar *typhimurium* avec la stimulation des TLR des cellules épithéliales [337]. Ces récepteurs gouvernent la sécrétion d'antimicrobiens, les lectines de type C, qui vont empêcher la prolifération des pathogènes au niveau du mucus épithélial [171]. Par ailleurs, les lymphocytes T intraépithéliaux (localisés au-dessous des «tight-jonctions» qui expriment majoritairement la glycoprotéine CD8 possèdent aussi un rôle de protection en produisant, lors d'infections ou de lésions intestinales, des cytokines pro inflammatoires et des chémokines, ce qui permet le recrutement de polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et de cellules T. Ces lymphocytes T intraépithéliaux produisent aussi des médiateurs qui stimulent la prolifération de cellules épithéliales et la restauration des fonctions de la barrière épithéliales [338]. Des expériences sur des souris axéniques ont montré que l'induction des chémokines, de cytokines pro-inflammatoires (IL-1) ainsi que la sécrétion de lectines étaient microbiote-dépendant. Par contre, la colonisation de ces souris par une seule bactérie pathogène restaure la capacité des lymphocytes T intraépithéliaux à promouvoir la défense de l'hôte [339]. De même, chez la souris non colonisée

par un microbiote, le nombre de lymphocytes Th1 est fortement diminué au niveau local et au niveau systémique. Cette réduction du taux basal de Th1 contribue à l'augmentation du risque d'infections par des bactéries pathogènes telles que *Shigella flexneri* et *Listeria monocytogenes* [340]. Les lymphocytes Th17, identifiés comme des médiateurs majeurs dans le développement de maladies auto-immunes et inflammatoires, jouent un rôle important dans la défense de l'hôte contre les bactéries extracellulaires et les parasites [341]. La diminution de ces lymphocytes Th17 chez la souris axénique entraîne un risque accru d'infections à *Shigella flexneri* et *Citrobacter rodentium* [342]. A l'inverse des lymphocytes T intraépithéliales, la colonisation avec un germe pathogène n'induit pas la restauration du niveau des Th17, par contre la colonisation par des bactéries filamenteuses segmentées du groupe Clostridium (SFB) mène à l'augmentation des Th17 qui réduisent la croissance et la capacité d'invasion de *Citrobacter rodentium* dans la *lamina propria*. En outre, il a été suggéré que la présence de SFB dans la muqueuse iléale permet d'exclure physiquement *Salmonella enteritidis* de ses sites d'attachement et prévient aussi bien la colonisation par des souches d'*E.coli* entéropathogènes chez le lapin [343]. De plus, les souris colonisées par les SFB présentent une augmentation de la protéine amyloïde sérique (SAA), protéine qui induit la sécrétion d'IL-6 et IL-23 par les cellules dendritiques, ces deux interleukines étant importantes pour le développement des cellules Th17 [341].

C. Rôle dans l'immunité : immunomodulation

Le microbiote intestinal est un organe à part entière comme en témoignent ses nombreuses fonctions. Il joue un rôle essentiel dans le développement et la maturation du système immunitaire intestinal (GALT). Ce dernier empêche l'invasion des tissus par les microorganismes résidents et, est donc d'une importance fondamentale pour la préservation de la nature symbiotique de ces interactions. Comme le tractus GI, le système immunitaire intestinal fait face à une grande charge microbienne continue diverse combinée à une vaste surface d'échange. Son rôle étant de maintenir l'homéostasie intestinale, ceci implique :

- ❖ Une réponse immunitaire forte contre les virus, les bactéries et les parasites pathogènes.

❖ Une tolérance vis-à-vis des bactéries du microbiote intestinal tout en modulant la composition de ce dernier. Pour ce faire il doit d'abord développer des réponses protectrices humorale et cellulaire dirigées contre les virus, les bactéries ou les parasites entéropathogènes. Parallèlement à cette fonction protectrice, le système immunitaire intestinal doit également empêcher l'induction de réponses immunes excessives envers les composants des aliments et des bactéries commensales présentes dans le tube digestif, cette prévention peut être réalisée par la séparation physique de bactéries et des cellules hôtes, par les modifications des fragments antigéniques du microbiote pour les rendre moins immunogènes, ou par la modulation des réactions immunitaires localisées, ce phénomène est nommé la tolérance orale [340].

L'influence du microbiote intestinal sur le système immunitaire de l'hôte a initialement été mise en évidence par les nombreuses études comparatives entre souris axéniques et leurs homologues élevés classiquement en animalerie. L'étude de ces rongeurs a ainsi permis d'élucider quelques-uns des mécanismes par lesquels le microbiote intestinal participe à la maturation et à la modulation du système immunitaire. Les animaux axéniques présentent en effet de nombreuses anomalies au niveau du système immunitaire intestinal : hypoplasie des plaques de Peyer, nombre de lymphocytes intraépithéliaux réduits, déficit en certaines populations lymphocytaires T, sécrétion intestinale d'immunoglobulines A réduite, concentration d'immunoglobulines sériques (IgA et IgG) et production de cytokines limitées, ainsi ces anomalies altèrent le degré de tolérance orale [45,344]. Les anomalies observées ne se limitent cependant pas à l'épithélium intestinal, puisque la rate et les ganglions lymphatiques des animaux axéniques sont non structurés et présentent des zones lymphocytaires atrophiées, cet état axénique induit une diminution du taux de lymphocyte T CD4+. Par ailleurs, la *lamina propria* qui se trouve sous la couche de cellules épithéliales et qui est composée de 70-80% de cellules immunitaires majoritairement de lymphocytes T CD4, a été décrite chez les animaux axéniques comme moins riche en lymphocytes T et en plasmocytes producteurs d'IgA [345]. L'ensemble de ces anomalies peut être réparé en quelques semaines en inoculant un microbiote normal de souris conventionnelles à des souris axéniques. D'autre part, la relation entre le microbiote intestinal et le système immunitaire est spécifique à l'hôte et aussi à l'espèce, une étude récente montre en effet que l'influence du microbiote intestinal sur la

maturation du système immunitaire de l'hôte est dépendante de la spécificité hôte-microbiote. Dans cette étude, des souris axéniques ont été colonisées par un microbiote de souris, de rat ou d'humain. L'analyse des cellules du système immunitaire a révélé que les souris colonisées par les microbiotes provenant de rat et d'humain présentent certaines caractéristiques des souris axéniques c'est-à-dire que leur système immunitaire semble être peu développé. De plus les souris axéniques colonisées par un microbiote de souris sont mieux protégées contre les infections comparées aux souris colonisées avec un microbiote humain [346].

Par ailleurs, le microbiote régule le niveau de cette l'inflammation dite physiologique de l'intestin, qui se traduit par la présence continue de cellules inflammatoires dans la paroi intestinale et la production de cytokines, un traitement antibiotique entraîne une augmentation du niveau inflammatoire [347]. Il a été également démontré que le butyrate était capable de moduler la voie NF- κ B en inhibant la dégradation de son inhibiteur I κ B, ceci diminue la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-12, IL-8, TNF- α) et permet le maintien de l'homéostasie. Certains des mécanismes mis en jeu ont été établis et il a par exemple été montré que le peptidoglycane des bactéries Gram positives induit la formation des follicules lymphoïdes au niveau de l'épithélium intestinal [348]. Cependant, certaines espèces du microbiote intestinal possèdent également la capacité de susciter l'inflammation sous certaines conditions [349]. Le microbiote a donc la possibilité de commander des réponses pro- et anti-inflammatoire.

D'autre part, le microbiote intestinal participe à la modulation de la réponse immunitaire et contribue à protéger l'hôte contre les pathogènes: les bactéries commensales bloquent l'accrochage des bactéries pathogènes sur les sites de liaison de l'intestin, première étape de la pathogénicité [350]. De plus, la production d'IgA par les lymphocytes B, induite par l'interaction entre les bactéries commensales et les cellules dendritiques, limite la pénétration des bactéries, et donc notamment des pathogènes, dans la muqueuse (fig.34). D'autre part, les lymphocytes intraépithéliaux permettant de maintenir l'intégrité de l'épithélium intestinal (fig.35) [351].

En outre, la composition du microbiote intestinal est associée au bon fonctionnement du système immunitaire [352]. Les bactéries commensales de l'intestin fournissent des signaux

inducteurs pour le développement, l'homéostasie et la maturation des sous-types lymphocytaires clés de la muqueuse intestinale. Le microbiote intestinal dirige la commutation de classe des LB intestinaux [353], conduit au développement de LT effecteurs Th17 [354], et inhibe la production de LT régulateurs [355]. De plus, le microbiote influence le devenir des réponses immunitaires systémiques en déterminant le ratio des cellules T effectrices Th1 et Th2 [356].

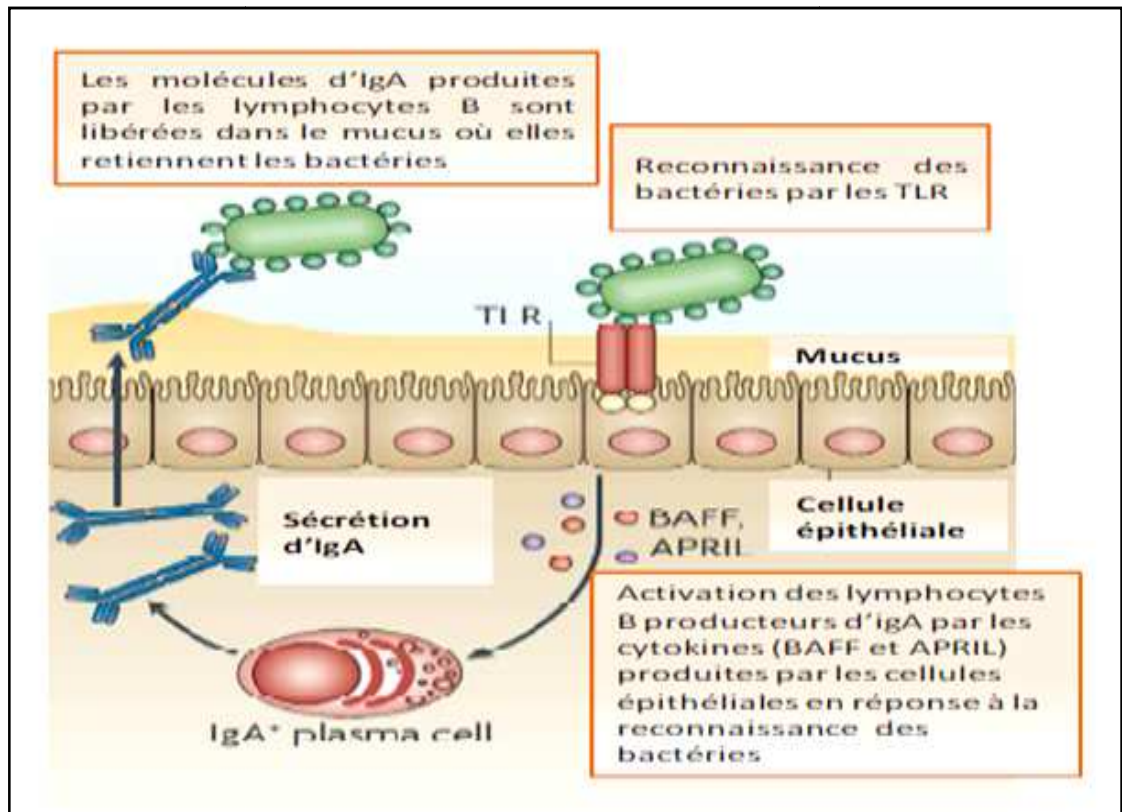


Figure N° 34: Production d'IgA par le système immunitaire

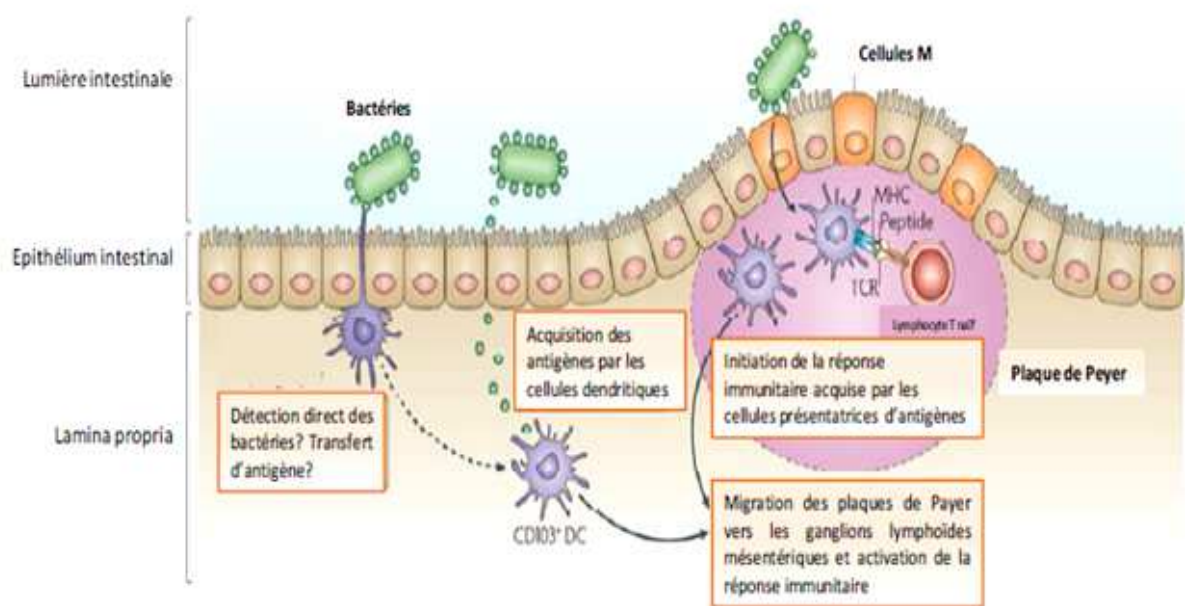


Figure N°35: Modulation de la réponse immunitaire par le microbiote intestinal

Certaines bactéries commensales sont connues pour stimuler le système immunitaire intestinal. Il a par exemple été montré que les lactobacilles activent différemment les cellules dendritiques les incitant à produire différentes gammes de cytokines inflammatoires, et jouent un rôle important dans la modulation de la balance Th1, Th2 et Th3 [357]. En outre, les espèces bactériennes *Faecalibacterium prausnitzii* et *Bifidobacterium infantis* ont montré la capacité à induire la production de lymphocytes Treg Foxp3⁺ et d'interleukine 10 (IL-10) dans l'intestin [102,358] mais aussi, *Bacteroides fragilis* et le genre *Clostridium* induisent l'expression de Foxp3⁺ par des mécanismes indépendants. En effet *Bacteroides fragilis*, via son antigène capsulaire le polysaccharide A (PSA), peut activer directement les cellules TCD4⁺ en induisant la production de TGF- β 2, qui conduisent à la différenciation des Treg [340], cela a été confirmé par la mono-colonisation de souris axéniques par *B.fragilis*. Alors que les espèces de *Clostridium* influencent la différenciation via la production de TGF- β 1 par les cellules épithéliales [359]. En plus de son implication dans l'induction et la maturation des LTreg, le PSA de *Bacteroides fragilis* induit une expansion des LTh1, une production de cytokines et un rééquilibrage de la balance Th1 et Th2 qui était altérée chez la souris axénique

[356]. De même, il a été montré que l'administration de PSA induisant l'expression de Treg Foxp3⁺ est capable de soulager cliniquement un modèle expérimental d'inflammation du côlon après le début des symptômes, indiquant une utilisation thérapeutique potentielle [360].

Par ailleurs, une étude récente a montré que la colonisation des souris axéniques par un ensemble de 46 espèces de *Clostridium* restaurait le nombre de lymphocytes Treg au même niveau que chez les souris conventionnelles, et qu'il existait une corrélation spatiale entre distribution de LTreg et la population de *Clostridium* tout au long de l'intestin avec une densité maximale au niveau du côlon proximal [359]. Ainsi, il a été observé chez les individus porteurs de maladies inflammatoires de l'intestin une abondance moindre en *Clostridium* et particulièrement *Clostridium* clusters IV et clusters XIV possédant la capacité de protéger de l'inflammation colique via les LTreg [76].

Parallèlement à ces fonctions, la stimulation permanente du système immunitaire par le microbiote intestinal est en fait nécessaire non seulement pour son développement et sa maturation, mais également pour le maintien de l'homéostasie au niveau de la muqueuse intestinale, de la fonction de barrière de l'épithélium ou encore de l'équilibre entre réponses pro et anti-inflammatoire. Cette homéostasie est notamment sous la dépendance d'un équilibre dynamique entre les lymphocytes T effecteurs (principalement Th17) stimulés par SFB et les lymphocytes Tregs par les AGCC [361]. La composition du microbiote intestinal et l'exposition précoce à des pathogènes alimentaires et oro-fécaux influencent cette homéostasie intestinale à la fois en stimulant la sécrétion d'IgA au niveau de la surface de l'épithélium et en promouvant la tolérance orale à travers un shift d'une activité dominante Th2 durant la période néonatale à un équilibre dans la production des cytokines plus tard à l'âge adulte et une réponse dominée par les lymphocytes Th1 [362]. Cependant, des travaux ont révélé la perte de cette tolérance vis-à-vis le microbiote intestinal au cours d'une infection gastro-intestinale avec une activation des lymphocytes T spécifiques des antigènes commensaux. Notamment lors d'une infection par le parasite *Toxoplasma gondii*, des bactéries commensales ont été détectées en dehors de la lumière intestinale, particulièrement dans plusieurs organes lymphoïdes comme les ganglions mésentériques et la rate, cette migration bactérienne entraîne l'activation des lymphocytes TCD4⁺ spécifiques de la

flagelline (protéine présente à la surface de certaines bactéries commensales appartenant au genre *Clostridium*). Ces derniers prolifèrent et se différencient de manière tout à fait semblable aux lymphocytes TCD4⁺ spécifiques des antigènes de *T.gondii*. En particulier, ils deviennent capables de produire de l'IFN- γ (une cytokine pro-inflammatoire qui stimule l'activité antimicrobienne des macrophages, assurant l'éradication de ces parasites), ces cellules acquièrent, au cours de l'infection par *T.gondii* des fonctions effectrices caractéristiques des lymphocytes de type Th1 et adaptées à l'élimination des pathogènes intracellulaires. Comme pour les lymphocytes spécifiques de *T.gondii*, un nombre restreint de lymphocytes TCD4⁺ mémoires spécifiques de la flagelline sont détectés chez la souris plusieurs mois après l'élimination du parasite et le rétablissement de l'intégrité de la barrière intestinale, ce qui a révélé pour la première fois l'inhabileté du système immunitaire de faire la distinction entre antigènes commensaux et pathogènes au cours d'une infection gastro-intestinale [363] (fig.36).

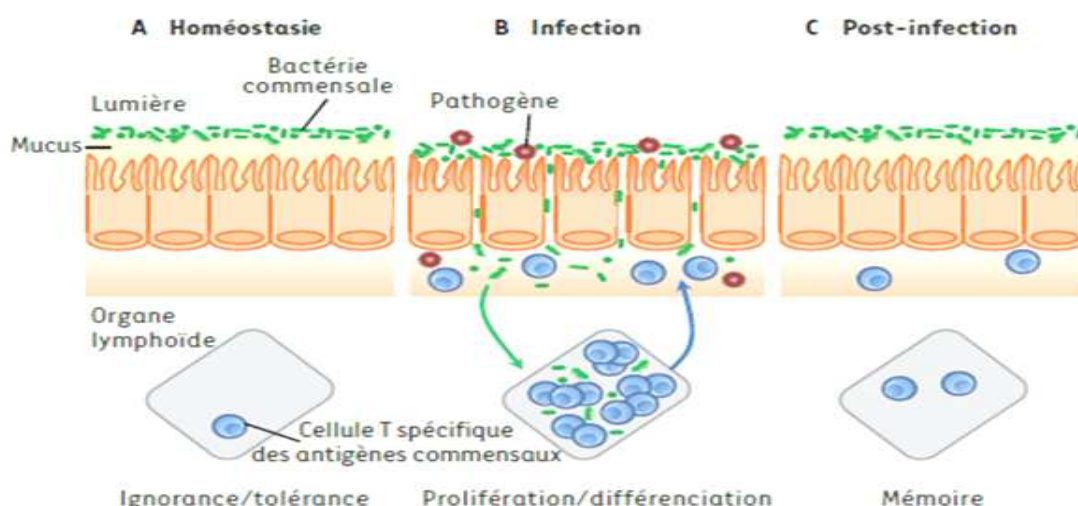


Figure N°36: La rupture de la barrière intestinale entraîne une perte de tolérance vis-à-vis du microbiote intestinal

À la vue du rôle joué par le microbiote intestinal sur le développement et la maturation du système immunitaire de l'hôte, des altérations de sa composition peuvent donc changer le développement immunitaire et prédisposer au développement de certaines pathologies immuno-dépendantes plus tard dans la vie comme l'allergie, l'obésité ou le diabète.

D. Maintien de l'intégrité et développement de la structure intestinale

Le microbiote intestinal est directement impliqué dans l'ontogenèse intestinale. La muqueuse colique des rongeurs axéniques est hypoplasique, les cryptes sont atrophiées avec un nombre de cellules par cryptes diminué d'environ 20% et les villosités de l'intestin grêle sont plus grandes. De même, le renouvellement cellulaire est ralenti, la durée du cycle cellulaire est augmentée et la différenciation cellulaire est incomplète [364,39]. Les AGCC générés par le microbiote sont capables de stimuler la différenciation des cellules épithéliales intestinales (CEI) à la fois dans l'intestin grêle et dans le côlon. la perfusion intestinale en AGCC et plus particulièrement en butyrate, stimule et contrôle la prolifération cellulaire des cryptes coliques chez les animaux axéniques, suggérant un rôle particulier de ce produit issu de la fermentation bactérienne dans le renouvellement de l'épithélium colique, d'ailleurs, l'expression du gène de la phosphatase alcaline intestinale (PAI) enzyme puissante responsable de la détoxification du LPS bactérien et du contrôle de l'homéostasie intestinale, est régulée épi-génétiquement par le butyrate [365,366]. Des modifications des capacités métaboliques des côlonocytes ont également été constatées en absence de microbiote: il a par exemple été montré que l'une des voies d'utilisation du butyrate par les côlonocytes était réduite, tandis que la capacité à utiliser la glutamine, nutriment d'origine vasculaire, était augmentée [367]. Dans ces deux cas, l'effet du microbiote passerait par une modification épigénétique conduisant à une modulation de l'expression des deux enzymes clés de ces métabolismes, en d'autre terme, le microbiote est capable de modifier l'expression génique de l'hôte. C'est ce qui a été montré de façon plus globale en comparant, à l'aide de puces à ADN, les profils d'expression génique de l'intestin grêle distal de souris axéniques et conventionnelles. Cette étude a ainsi mis en évidence une centaine de gènes dont l'expression est modulée, positivement ou négativement, par la présence du microbiote. Ces gènes sont impliqués dans des fonctions diverse incluant le transport de nutriment (glucides, lipides, fer..), le métabolisme énergétique cellulaire, la fonction de barrière de l'épithélium, la réponse aux hormones, la composition de la matrice extracellulaire ou les voies de transduction du signal. L'inoculation de différentes espèces bactériennes chez des souris axéniques a par ailleurs montré, avec cette même technique, que les profils d'expression génique de la muqueuse intestinale diffèrent en fonction de la bactérie testée [368]. La composition du

microbiote joue donc un rôle dans le type de réponses de l'intestin vis-à-vis des bactéries résidentes, et son effet trophique se répercute sur tous les types cellulaires de l'épithélium intestinal.

En outre, les animaux axéniques présentent un transit intestinal ralenti, avec une motilité réduite par défaut d'activité du système neuromusculaire entérique. Diverses origines à la modulation de l'activité des muscles striés de la muqueuse sont envisageables. Il pourrait s'agir d'un effet direct sur les myocytes ou d'une action via le système nerveux entérique, et les molécules responsables de ces effets pourraient être produites par les micro-organismes (NO, polyamines, mélatonine, H₂S), ou en réponse au microbiote par les cellules entéro-endocrines, qui sécrètent notamment de la sérotonine [369,370]. Le microbiote semble agir sur le nombre et la fonction des cellules entéro-endocrines et particulièrement sur les cellules sécrétrices de neuropeptide tyrosine (NPY), seule hormone dont la concentration sanguine est diminuée après colonisation de rats axéniques par mise en contact avec des rats conventionnels]. La maturation du système digestif chez ces animaux est incomplète, ce qui indique que le microbiote joue un rôle important dans son développement. Outre, une altération de l'activité enzymatique digestive, l'absence du microbiote engendre une couche de mucus plus importante, une susceptibilité aux infections augmentée ou encore un besoin calorique supérieur à de 20 à 30% par rapport à des animaux conventionnels [371].

Enfin, le réseau sanguin qui irrigue la muqueuse intestinale des animaux est moins dense et son développement est induit lors de l'établissement des bactéries dans l'intestin. Ce processus d'angiogenèse semble être stimulé via l'intermédiaire des cellules de Paneth ce qui permet le développement de la micro-vascularisation des villosités intestinales [372]. La vascularisation de la *lamina propria* au niveau des villosités et sous l'épithélium de surface est très importante, car ce sont ces capillaires qui prennent en charge les nutriments absorbés jusqu'à la circulation générale, et donc vers l'ensemble des organes de l'hôte. Une étude récente mis en évidence le rôle plus particulier du microbiote dans la glycosylation et l'expression à la surface des CEI d'un facteur tissulaire requis pour l'angiogenèse chez la souris, identifiant une partie du mécanisme moléculaire par lequel le microbiote contribue à ce processus [373]. Le microbiote intestinal participe à d'autres processus de glycosylation de

lipides et de protéines situés à la surface de l'épithélium intestinal qui vont former une couche protectrice caractéristique de la muqueuse intestinale mature, le glycocalyx [374]. Il a été montré que l'inoculation d'un microbiote intestinal complexe restaure une densité de vaisseaux sanguins normale en seulement 10 jours. De plus l'inoculation de *Bacteroides thetaiotaomicron*, bactérie commensale du tube digestif, permet à elle seule cette restauration de l'angiogenèse [373]. Cette bactérie est donc capable d'envoyer un signal indispensable à l'hôte pour la maturation de son propre système digestif. Ainsi, elle stimule la synthèse par les entérocytes de glycanes fucosylés qu'elle est ensuite capable de métaboliser, cette synthèse est un marqueur de maturation intestinale au cours du développement. La fucosylation des glycanes de surface des cellules épithéliales est induite par le microbiote au moment du sevrage. En effet, les étapes précoces de production de glycoconjugués chez la souris axénique ne sont pas affectées, mais cette production décroît, puis s'arrête totalement à partir du 21^e jour de vie. Lorsque ces animaux sont colonisés, l'expression de l' α 1,2-fucosyl transférase (enzyme impliquée dans la synthèse de glycoconjugués fucosylés) est induite au niveau des entérocytes aboutissant à un niveau de fucosylation identique à celui observé chez les souris conventionnelles [375]. Comme pour l'angiogenèse, l'inoculation de *B.thetaiotaomicron* (bactérie capable d'utiliser le fucose) permet, à elle seul, de restaurer un phénotype "conventionnel", tandis que d'autres bactéries intestinales testées n'induisent pas cette fucosylation de l'épithélium intestinal [375]. Des études génétiques ont permis de comprendre les mécanismes impliqués et d'établir un modèle expliquant comment *B. thetaiotaomicron* induit la production de glycoconjugués fucosylés par les entérocytes de l'hôte [376]. Ce modèle fait intervenir une protéine, FucR, qui coordonne à la fois les enzymes du métabolisme du fucose chez *B.thetaiotaomicron* et la molécule signal envoyée à l'hôte pour la production de glycoconjugués. Ainsi, en absence de fucose, FucR réprime la synthèse des enzymes du métabolisme du fucose et stimule celle de la molécule signal. À l'inverse, en présence de fucose, les enzymes nécessaires à son métabolisme sont synthétisées, tandis que l'expression de la molécule signal est réprimée. Ainsi, en fonction de la disponibilité en fucose et de ses besoins énergétiques, *B.thetaiotaomicron* est capable de contrôler la synthèse de ces glycoconjugués par les entérocytes de l'hôte. La nature de la molécule signal, l'existence de récepteurs spécifiques au niveau de l'épithélium, les voies de transduction du

signal ou encore la nature des gènes cibles restent toutefois à définir. De plus, il a été montré que *B.thetaiotaomicron* induisait l'expression du facteur SPRR2A (Small Proline-Rich Protein 2), important dans le maintien de la formation des desmosomes [368]. D'autre part, plusieurs souches probiotiques comme *Lactobacillus* ou *E. coli Nissle 1917* contribuent à la maintenance des jonctions serrées dans l'épithélium intestinal, fournissant ainsi un effet protecteur face aux agressions pathogènes ou à l'inflammation intestinale [377,378].

E. Axe intestin-cerveau

Il y a quelques années, les scientifiques ont découvert en nous un autre cerveau situé dans nos intestins composé de 200 millions de neurones. Aujourd'hui, les données confirment que le microbiote intestinal communique avec le système nerveux central en influençant ainsi le fonctionnement du cerveau et le comportement.

Nous avons déjà vu l'impact du stress sur le microbiote intestinal et ses répercussions physiologiques. Ainsi, il a été indiqué chez les souris axéniques en situation de stress, une activité motrice plus élevée et l'expression de deux protéines impliquées dans la synaptogenèse au niveau du striatum (zone de contrôle du mouvement volontaire) est réduite comparés à des animaux conventionnels suggérant un défaut de maturation des synapses dans cette zone cérébrale [379]. L'analyse des différents paramètres cérébraux étudiés a mis en évidence que l'absence du microbiote intestinal entraînait chez le rat une hyperactivation de l'axe hypothalamo-pituitaire-surrénalien qui s'accompagnait d'un comportement de type anxieux plus développé et d'un métabolisme dopaminergique cérébral plus faible. Des chemins multiples directs et indirects existent à travers lesquels le microbiote intestinal peut moduler l'axe cerveau-intestin (fig.37). Ces chemins comprennent le système endocrinien, le système immunitaire et les voies neurales [380].

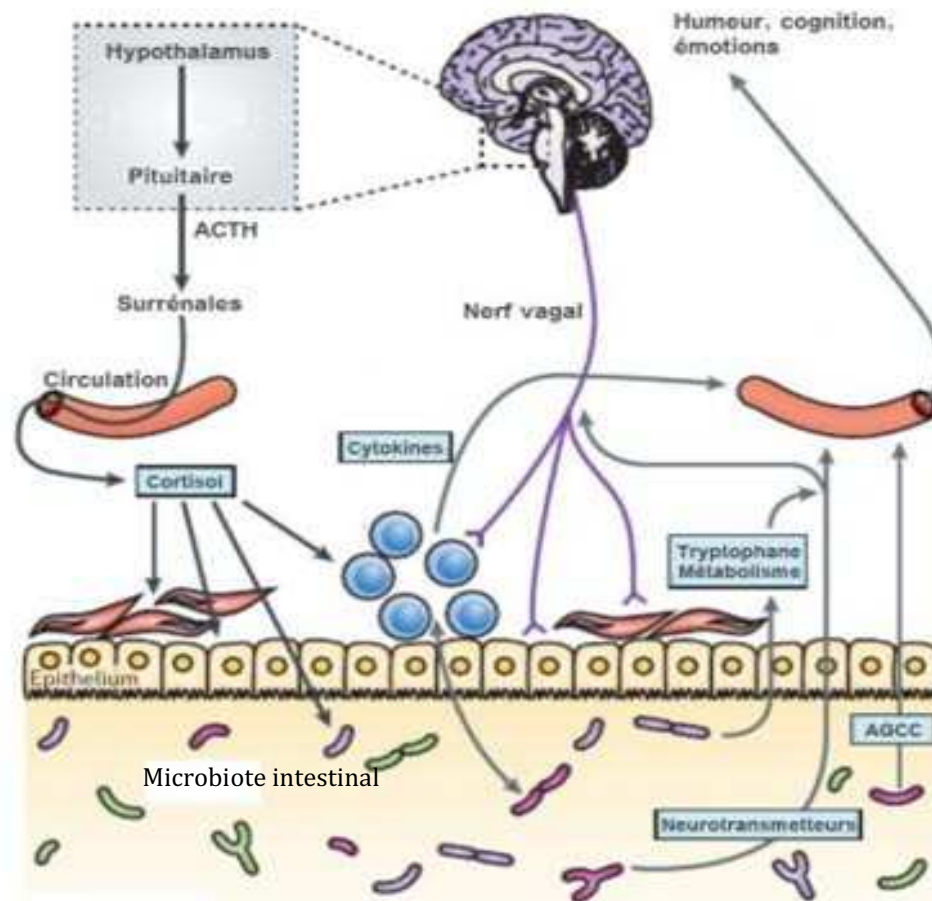


Figure N°37: Voies impliquées dans la communication bidirectionnelle entre le microbiote intestinal et le cerveau

❖ Activation du système immunitaire : En plus de son implication dans le maintien de l'homéostasie à la surface luminaire de l'interface microbienne de l'hôte, le système immunitaire (inné et adaptatif) exerce une communication bidirectionnelle avec le système nerveux central (SNC), formant une cible de choix pour la transduction de substances produites par nos microbes à l'intention du SNC. Par ailleurs, les effets indirects du microbiote et des bactéries dites probiotiques sur le système immunitaire inné peuvent entraîner des modifications dans les niveaux des cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires qui affectent directement le fonctionnement du cerveau [381,382].

❖ Nerf vague: (nerf crânien X) a deux rôles: efférent et afférent. C'est le nerf majeur de la division parasympathique du système nerveux autonome qui régule les fonctions de

plusieurs organes, y compris la fréquence cardiaque, la bronchoconstriction et la motilité intestinale. De plus, il a été démontré que l'activation du nerf vague ait une activité anti-inflammatoire puissante protectrice contre le sepsis bactérien au sein du récepteur nicotinique de l'acétylcholinique sous-unité $\alpha 7$. Ainsi, il s'est avéré que plusieurs fonctions cérébrales soient dépendantes de l'activation vagale et cette dernière soit dépendante de l'activation provenant du microbiote intestinal [383-386]. Cependant, des mécanismes vague-indépendants sont également impliqués dans l'interaction cerveau-microbiote, d'ailleurs une vagotomie n'affecte pas les effets de traitements antimicrobien sur le cerveau ou le comportement [387]. De plus, les mécanismes par lesquels les afférences vagales sont activées par le microbiote intestinal sont encore discutés.

❖ Neuro-métabolites microbiens : Certaines bactéries sont capables de produire et de libérer des substances neuro-actives. Il a été montré que des espèces *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* produisent l'acide gamma-aminobutyrique ou GABA, un des principaux neurotransmetteurs inhibiteurs; les espèces *Escherichia*, *Bacillus* et *Saccharomyces* produisent de la noradrénaline ; *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* et *Enterococcus* fabriquent de la sérotonine; alors que *Bacillus* et *Serratia* peuvent potentiellement sécréter de la dopamine, et des *Lactobacillus* produisent de l'acétylcholine [388,389]. Ainsi, il a été montré que ces probiotiques « psychobiotiques » possèdent un effet antidépresseur ou anxiolytique chez les rongeurs dont les mécanismes impliqués feraient appel à l'effet anti-inflammatoire de ces psychobiotiques et à leur capacité à réduire l'activité de l'axe hypothalamo-pituitaire-surrénalien [390].

Par ailleurs, l'importance de l'axe cerveau-intestin a été montrée en étudiant la médiation de la douleur et particulièrement la douleur viscérale. Les probiotiques ont réussi à réduire les symptômes de douleurs associées à une induction du syndrome inflammatoire de l'intestin, ainsi qu'à des douleurs abdominales chez les animaux. Ceci a été associé à des changements dans l'expression des récepteurs aux cannabinoïdes et opioïdes dans l'intestin, qui peuvent être médiés par l'excitation directe des neurones entériques dans l'intestin, où se contrôle la motilité du côlon [380].

❖ Métabolites microbiens et polysaccharides exo-cellulaires sont produits par les bactéries intestinales lors des réactions métaboliques de l'hôte, y compris l'acide biliaire, les AGCC et la choline. Les hydrates de carbone fournis par les fibres alimentaires végétales sont également décomposés puis ensuite fermentés dans le côlon par les microorganismes intestinaux, ce qui entraîne la production de produits chimiques neuroactifs, tels que le n-butyrate, l'acétate, le propionate et le sulfure d'hydrogène. Des travaux récents indiquent que les modifications ou la surproduction de certains métabolites sont associés à des troubles du cerveau comme l'autisme, la schizophrénie ou la dépression [391].

Les polysaccharides exo-cellulaires ou exo-polysaccharides (EPS) de la couche extérieure des bactéries, sont synthétisés à la fois par des bactéries à Gram positif, négatif et cyanobactéries, et en grande partie responsables de la plupart des effets favorables des probiotiques. En effet, il a été montré que les EPS du *Bifidobacterium breve* UCC2003 protègent les bactéries de l'acide et de la bile se trouvant dans les intestins et protègent également ces bactéries de la réponse immunitaire de l'hôte [392]. Ces découvertes ouvrent la possibilité de composants bactériens comme bases thérapeutiques. D'ailleurs, comme les métabolites neuroactifs, les composants des parois cellulaires des bactéries dans la lumière intestinale ou attachés aux cellules épithéliales sont capables à libérer des molécules qui modulent la signalisation des neurones et qui agissent directement sur les axones primaires afférents [393].

❖ Métabolisme du tryptophane : Le tryptophane est un acide aminé essentiel qui ne peut pas être produit par le corps humain, et qui doit être fourni par l'alimentation ou les bactéries intestinales. Il est le précurseur de nombreux agents biologiquement actifs, y compris la sérotonine (qui régule le transit intestinal et les états d'humeur et de bien-être), la mélatonine et la niacine (vitamine B3). La voie de la kynurénine qui intervient dans le métabolisme du tryptophane, assure la médiation de 95% des niveaux de tryptophane périphérique [394]. Il a été montré que chez les souris GF les taux de kynurénine/tryptophane chez ces animaux sont dérégulés, ainsi dans les cas de dépression qui sont traités et soignés avec succès par des probiotiques. La cascade métabolique de la kynurénine est catalysée par l'indoleamine 2,3-dioxygénase ou la tryptophane 2,3-dioxygénase, l'activation de ces 2 enzymes de la voie

kynurénine pourrait réduire la quantité de tryptophane disponible pour la biosynthèse de sérotonine. Ainsi, une altération de cet équilibre kynurénine/tryptophane est impliquée dans la démence liée au syndrome d'immunodéficience acquise, dans la maladie de Huntington et la maladie d'Alzheimer. Enfin, des études ont indiqué que les médiateurs inflammatoires, les hormones de stress et les corticostéroïdes peuvent induire le métabolisme de la kynurénine [395], mais aussi les bactéries probiotiques, d'ailleurs, Une étude a montré que, chez le rat, l'ingestion de *Bifidobacterium infantis* augmente le taux sérique de tryptophane [396].

❖ Axe Hypothalamo-pituitaire-surrénalien (HPS) : Des chercheurs ont publié récemment les résultats de nombreuses études portant sur l'axe microbiome-intestin-cerveau: ils se sont penchés sur la régulation de l'axe hypothalamo-pituitaire-surrénalien qui régule la réaction de l'organisme au stress. L'axe HPS est une partie importante du système endocrinien qui régule également de nombreux autres processus, y compris la digestion, la réponse immunitaire, les états d'humeur et les émotions, la sexualité, ainsi que le stockage et la dépense énergétique. Une sur-activation chronique de l'axe HPS peut avoir les effets d'entraînement pour l'apprentissage et la mémoire, l'anxiété et la dépression. L'axe HPS régule la sécrétion de cortisol, et cette production peut affecter la perméabilité intestinale, la fonction barrière, et modifier la composition du microbiote intestinal. Et inversement, le microbiote intestinal et les probiotiques peuvent avoir un effet sur cet axe en modifiant les niveaux de cytokines en circulation, ce qui peut avoir un effet marqué sur la fonction cérébrale ainsi que la régulation de l'inflammation. Des expériences de comparaison entre des souris axéniques et des souris conventionnelles ont montré que l'axe HPS est exagérément augmenté chez les souris sans germes réduisant ainsi la perception de la douleur inflammatoire [397], alors qu'il est inversé après la colonisation de ces animaux avec l'espèce bactérienne *Bifidobacterium infantis*, et plus la colonisation est précoce, plus la réversion des effets est complète [398] mettant ainsi en évidence une fenêtre d'action limitée dans le temps pour le bon développement de certains processus physiologiques de l'hôte.

F. Autres fonctions :

❖ Microbiote intestinale et les métaux lourds : Les expériences menées avec les animaux axéniques versus des animaux conventionnels, montrent que quel que soit le métal, la dissémination dans le corps des métaux lourds est plus importante chez les animaux axéniques que chez les animaux conventionnels car en absence de microbiote, la perméabilité intestinale est augmentée. Donc le microbiote intestinal joue un certain rôle de détoxification grâce à son action sur la perméabilité cellulaire [399].

❖ Microbiote intestinale et l'homéostasie de l'os : l'existence des interactions entre le système immunitaire et l'os a été longtemps établie. Les altérations osseuses apparaissant au cours des situations inflammatoires par exemple l'arthrose, ainsi les changements dans le renouvellement osseux et la masse osseuse associée à l'ostéoporose post-ménopausique, tout cela implique fortement les cellules immunitaires et leurs cytokines. Une étude récente a montré que les souris axéniques ont une masse osseuse augmentée associée à une réduction du nombre des ostéoclastes dans l'os trabéculaire par rapport aux souris conventionnelles, ainsi une diminution des précurseurs de lymphocytes CD4⁺ et l'ostéoclaste dans la moelle osseuse [400]. Les changements observés sont la conséquence d'un état immunitaire modifié chez ces souris. De plus, l'expression de la cytokine lymphocytaire CD4⁺ TNF α est diminuée dans l'os, l'intestin et la moelle osseuse ; les auteurs proposent donc que c'est la diminution des CD4⁺ sécréteurs de TNF et des précurseurs des ostéoclastes qui sont responsables de la diminution de la destruction de l'os chez les souris axéniques. Soulignant le fait que c'est la perte de microbiote intestinal qui contribue à un tel effet, la colonisation des souris axéniques par un microbiote normal normalise à la fois les CD4⁺, les précurseurs des ostéoclastes, et la masse osseuse. Tout cela mis bout à bout, montre clairement que le microbiote a parfaitement son mot à dire dans la régulation de la masse osseuse, d'où la nécessité d'approfondir la recherche sur cet organe oublié pour l'évaluer comme nouvelle cible thérapeutique pour l'ostéoporose [400].

❖ Microbiote intestinal et système cardio-vasculaire : De nombreux travaux ont mis en évidence l'implication du microbiote intestinal dans la régulation de la pression sanguine

via la production d'AGCC, notamment le propionate qui trouve au niveau du rein un récepteur chimiosensible Olfr78 modulant la production de la rénine [401]. Ainsi, de nombreux défauts dans le système cardio-vasculaire ont été montrés chez les animaux axéniques par rapport à leurs homologues conventionnels [402].

G. Interconnexions des fonctions

Les fonctions du microbiote, comme nous avons pu le voir, ne sont pas indépendantes mais liées les unes avec les autres (fig.38).

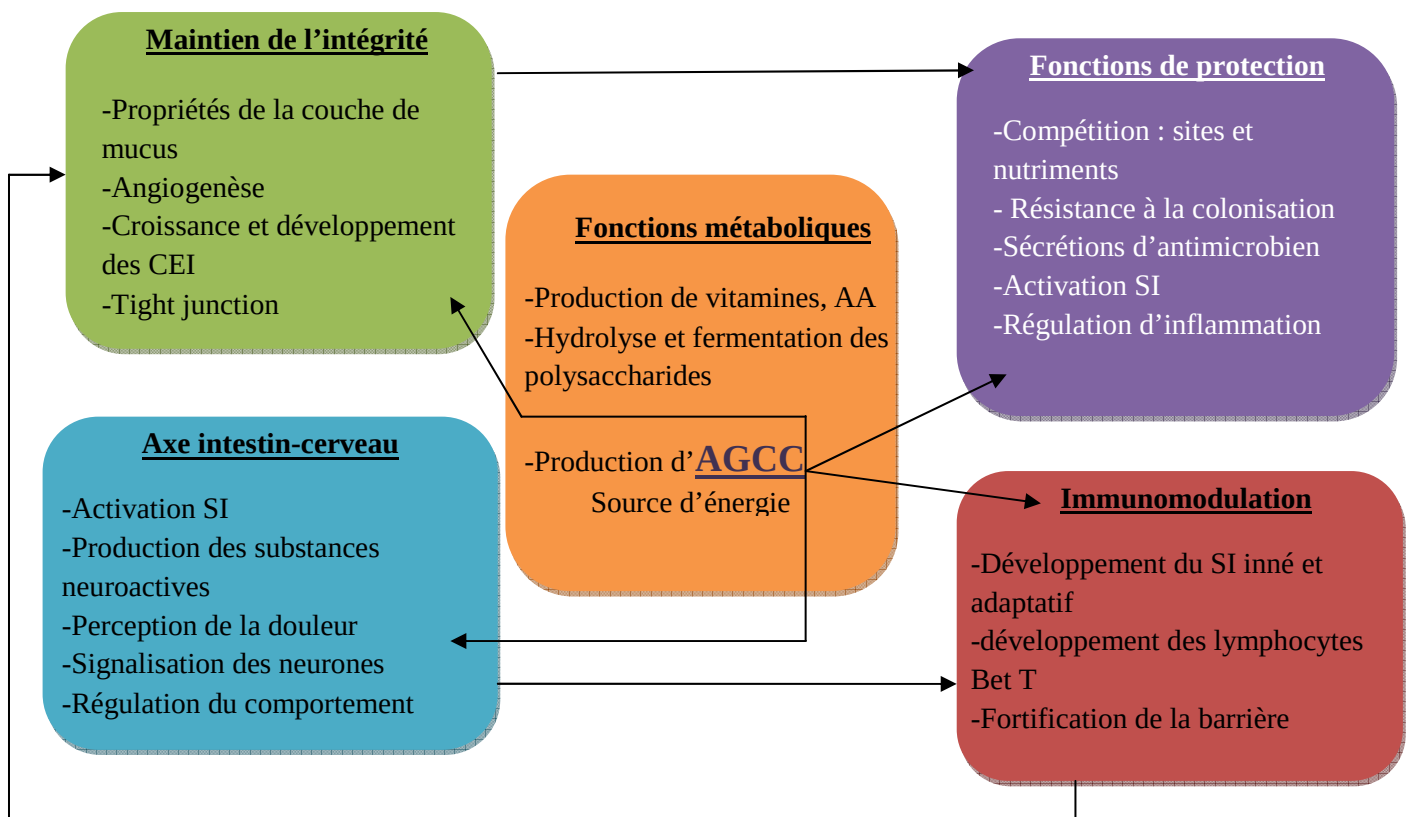


Figure N°38: Interconnexions des fonctions du microbiote intestinal



DYSBIOSE ET PATHOLOGIES :

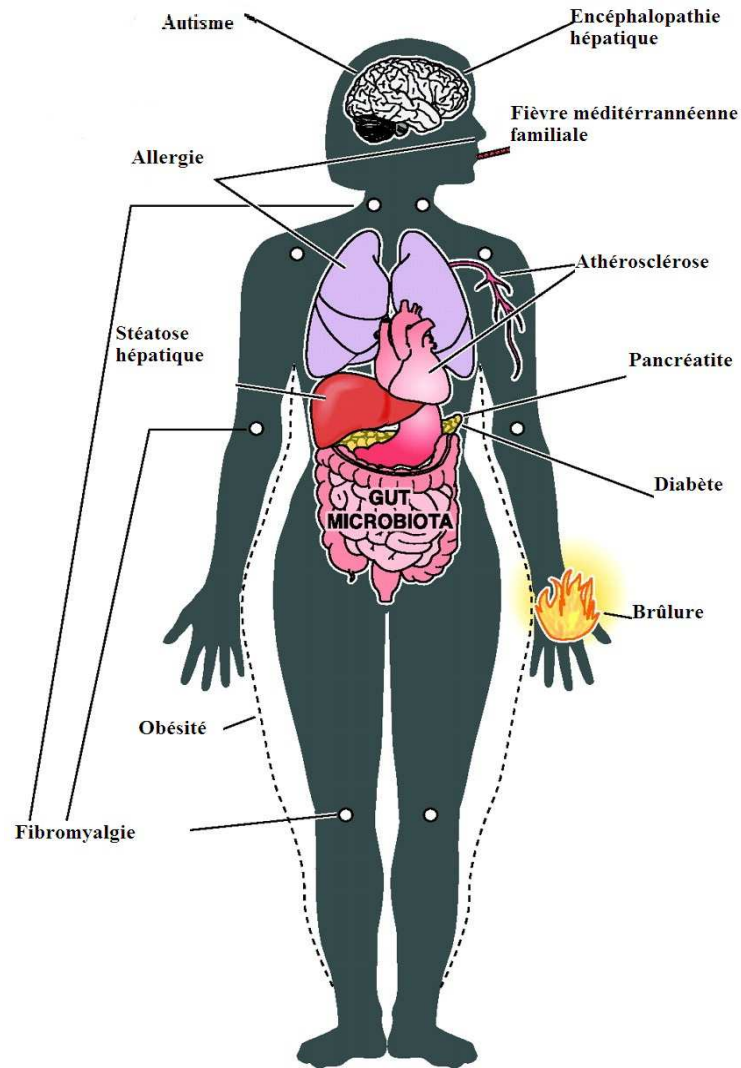


Figure N° 39: Implication du microbiote intestinal dans plusieurs états pathologiques hors le tractus gastro-intestinal

Dans certaines conditions décrites précédemment, des modifications de ce microbiote peuvent induire un état de dysbiose caractérisé par un déséquilibre de la composition du microbiote associé à des conséquences néfastes pour l'hôte. Les causes de la dysbiose sont diverses :

- Les infections virales, bactériennes ou parasitaires,
- Un changement brutal d'environnement, d'alimentation,
- Un déficit immunitaire,

- Certains médicaments et en premier lieu les antibiotiques

Chez l'homme, les dysbioses ont été impliquées dans de nombreux états pathologiques apparaissant au niveau du tractus digestif mais également au niveau d'autres organes (fig.39). Néanmoins, il est très difficile à ce jour de déterminer si l'altération du microbiote intestinale est la cause ou la conséquence du développement de la pathologie.

A. Dysbiose et pathologies métaboliques

a. Obésité

L'obésité est un problème de santé majeur partout dans le monde. En 2014, plus de 1,9 milliards de personnes dans le monde (soit près de 30% de la population totale, personnes de 18 ans et plus) étaient en surpoids ou obèses, une tendance qui touchera la moitié des adultes dans le monde d'ici 2030 selon les estimations mondiales de l'OMS [403]. Même au Maroc, la fréquence de l'obésité évolue de façon très significative. Selon la dernière enquête réalisée par la HCP en 2011, l'obésité affecte 3,6 millions d'adultes, représentant 17,9% de la population (21,2% en milieu urbain, 12,6% en milieu rural). Celle-ci touche largement plus la femme, avec un taux d'environ 27% (31,3% femmes urbaines, 18,5% femmes rurales) contre 8,2% des hommes [404].

L'obésité est définie comme un excès de masse adipeuse dans l'organisme entraînant des conséquences néfastes pour la santé humaine comme un risque important de diabète, de maladies coronariennes, de cancers ou de maladies dégénératives. Ces conséquences augmentent le risque de mortalité. La masse grasse s'évalue à partir du calcul de l'IMC qui doit être normalement compris entre 18,5 et 25 kg/m², il est le ratio du poids en kilogramme par le carré de la taille en mètre carré. Le surpoids est défini par un IMC égal ou supérieur à 25 kg/m² et l'obésité par un IMC égal ou supérieur à 30 kg/m² [403].

1. Le microbiote intestinal dans l'obésité

La relation entre microbiote intestinal et obésité a été mise en évidence pour la première fois chez des souris axéniques colonisées avec un microbiote conventionnel. Le poids des animaux axéniques nouvellement colonisés augmente considérablement (plus de 50%) deux

semaines après la colonisation contrairement à des animaux conventionnels. De plus l'expression d'ARNm codant pour les enzymes impliquées dans la biosynthèse d'acides gras est augmentée alors que la sensibilité à l'insuline est diminuée [18]. D'autre part, la colonisation d'animaux axéniques par un microbiote issu du caecum des souris obèses (ob/ob génétiquement rendues obèses par déficit en leptine) résulte en une extraction de calories plus importante avec une augmentation significative de la prise de poids en comparaison à des animaux colonisés avec un microbiote d'individus minces à régime alimentaire identique. Les auteurs suggèrent que le microbiome d'individus obèses a une capacité augmentée pour accumuler de l'énergie à partir de la nourriture alors que les souris minces excrètent significativement plus d'énergie dans leurs fèces [405]. Dans ces études l'analyse de la composition du microbiote d'individus obèses met en évidence une réduction du nombre de *Bacteroidetes* (presque 50%) et à l'inverse, augmentation du nombre de *Firmicutes* [235].

Au cours des dix dernières années, plusieurs travaux originaux chez l'homme ont été publiés mais avec des résultats contradictoires. Les premières études ont confirmé les résultats trouvés dans les modèles animaux, une augmentation du ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* chez les sujets obèses, ainsi une diminution de ce ratio chez les individus sous régime amaigrissant en s'approchant de celui des individus minces [235,406]. Une étude ultérieure sur 154 individus a confirmé la réduction des *Bacteroidetes* avec par contre une augmentation du phylum des *Actinobacteria* et une diversité moindre du microbiote intestinal [44]. A l'inverse plusieurs études n'ont pas confirmé les mêmes résultats et même trouvé une diminution du ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* [407,408]. Les différentes méthodologies utilisées pour analyser le microbiote pourraient expliquer les contradictions entre les résultats des diverses équipes. Cependant, une analyse métagénomique sur des selles humaines transplantées sur des souris axéniques a démontré qu'un microbiote intestinal humain peut-être transféré à une souris axénique avec une remarquable conservation de structure et de diversité même si les selles étaient au départ congelées [409]. De plus le microbiote humanisé de ces souris possède des variations caractéristiques et reproductibles dans sa composition tout au long du tractus intestinal. Enfin, la configuration du microbiote, son microbiome et son métatranscriptome changent d'une façon rapide, spectaculaire et reproductible après le changement d'un régime

faible en polysaccharide en un régime de type occidental riche en graisse et en sucre. Au niveau du microbiote, il a été observé une augmentation relative de la représentation de la classe des *Erysipelotrichi* (classe IV du phylum des *Firmicutes*). L'analyse phylogénétique a indiqué que cette augmentation de ces bactéries était plus étroitement liée à *Clostridium innocuum*, *Eubacterium dolichum* et *Catenibacterium mitsuokai* (précédemment isolés du tractus intestinal humain). Ce résultat a été confirmé par une étude récente [410], ce qui montre que cette classe de *Firmicutes* joue un rôle important dans l'obésité. Pourtant, les interactions entre ces bactéries et les mécanismes d'extraction et de stockage d'énergie restent à prouver. D'autre part, plusieurs publications ont montré que le genre *Bifidobacterium* était sous représenté chez des patientes enceintes en surpoids [411], mais aussi chez des enfants en surpoids [412]. Dans cette dernière publication, les selles des enfants, étudiées à 3, 6, 12, 18 et 24 mois ainsi qu'à 4 et 7 ans, ont montré que la présence de *Staphylococcus aureus* dans les premiers mois de la vie était accrue chez les enfants développant une obésité plusieurs années après. Les auteurs ont proposé que *Staphylococcus aureus* puisse être un acteur prépondérant dans la réaction inflammatoire de bas grade en contribuant au développement de l'obésité. Enfin et plus surprenant, une publication a décrit une augmentation des Lactobacilles dans la population obèse [413]. Ce résultat est paradoxal car la perte de poids due à un régime hypocalorique et à l'activité physique chez les adolescents en surpoids augmente les Lactobacilles [414]. De plus, l'administration de probiotiques composés exclusivement d'espèces de Lactobacille diminue les troubles métaboliques menant à l'obésité.

Ces données suggèrent que des changements spécifiques dans le microbiote intestinal caractérisent l'état d'obésité. En revanche, il est impossible de conclure au vu des publications récentes qu'une bactérie ou une espèce soit responsable d'une maladie aussi complexe que l'obésité [415].

2. Mécanismes

Il a été montré l'existence de plusieurs mécanismes liant le microbiote intestinal à l'obésité, comme les mécanismes d'inflammation de bas grade et l'altération des mécanismes métaboliques. Actuellement, les mécanismes moléculaires mis en jeu font appel à l'activité

endocrine de l'intestin via le glucagon-like peptide-2 (GLP-2), mais également à un système lipidique particulier, à savoir le système endocannabinoïde (eCB).

2.1 Mécanisme d'inflammation de bas grade

Des travaux récents ont montré que le microbiote intestinal pouvait initier l'état inflammatoire associé à l'insulinorésistance par l'intermédiaire des lipopolysaccharides (LPS). En effet, la reconnaissance des LPS par le complexe CD14-TLR-4 (CD14) présent à la surface de cellules immunitaires peut déclencher des processus inflammatoires.

L'inflammation à bas bruit est une caractéristique commune de plusieurs désordres métaboliques associés à l'obésité [416]. En 2007, Cani et son équipe ont mis en évidence chez la souris que 4 semaines de régime hyperlipidique entraînaient une altération de la composition du microbiote (diminution de plus de 100 fois du nombre des *Bifidobactéria spp* et diminution des *Eubacteria spp*) [237] et une multiplication par 2 à 3 de la concentration de LPS circulant. Ces résultats ont récemment été confirmés et il a également été montré qu'un régime gras entraîne également une diminution de *Lactobacillus spp* et *Roseburia spp* [417]. Cette augmentation de LPS (2 à 4 fois les valeurs basales) a été baptisée « l'endotoxémie métabolique » pour la différencier de celle observée lors de choc septique où le taux est beaucoup plus élevé (100 ou 1000 fois les valeurs de base) [237]. Lorsque l'endotoxémie métabolique était reproduite par une injection continue de LPS, les souris ont développé les mêmes anomalies que celles induites par un régime riche en graisse: prise de poids, diminution de la tolérance au glucose, augmentation du degré de stéatose hépatique, augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires dans le foie, les muscles et le tissu adipeux sous-cutané et viscéral. Parallèlement à cela, des souris dont le récepteur au LPS a été inactivé (CD14^{-/-}) se sont révélées résistantes à la fois aux effets d'un régime hyperlipidique et de l'injection de LPS. De plus, ces souris CD14^{-/-} se sont révélées hypersensibles à l'insuline quel que soit le régime, ce qui suggère que le récepteur CD14 module la sensibilité à l'insuline y compris en conditions physiologiques. Dans une autre étude, le changement de la composition du microbiote intestinal induit par un traitement antibiotique réduit l'endotoxémie métabolique et la concentration caecale en LPS, ce qui a été associé à une amélioration des paramètres métaboliques à la fois chez les souris ob/ob et chez les souris

sauvages recevant un régime hyperlipidique [238]. Le rôle du LPS dans l'initiation de l'inflammation systémique a aussi été évalué chez des humains sains. Une faible dose de LPS provoque une augmentation du niveau d'insulinorésistance et de la concentration de TNF α et d'IL-6 dans le tissu adipeux [418]. De plus, un repas riche en glucides et en lipides induit une augmentation significative post prandiale du taux de LPS, accompagnée d'une augmentation de l'expression de TLR-4 et de NF κ B sur les leucocytes mononucléaires. Ces augmentations n'ont pas été observées après un repas riche en fibres et en fruits [419]. Le caractère pro-endotoxémique des lipides a été confirmé par une autre étude chez l'humain : la concentration de LPS plasmatique corrèle positivement avec l'apport total en énergie et en lipides sur trois jours [420]. Dans un échantillon de 201 hommes en bonne santé, un repas riche en lipides augmente fortement l'endotoxémie, jusqu'à atteindre des concentrations plasmatiques suffisantes pour induire une réaction inflammatoire in vitro (sécrétion de TNF α par des cellules endothéliales aortiques en culture) [421]. Deopurkar et son équipe [422] ont comparé l'effet chez des individus sains d'encas isocaloriques à base de crème et de sucre (riche en glucose et en acides gras saturés) ou de jus d'orange sur l'endotoxémie, les marqueurs de l'inflammation et du stress oxydatif. Seul l'encas à base de crème et de glucose a été suivi d'une augmentation de l'endotoxémie, de l'expression de TLR-4, NF κ B, TNF α et IL-1. Enfin, il semble que l'endotoxémie joue un rôle clef dans le développement de l'état inflammatoire associé à l'obésité et aux désordres métaboliques, ainsi que le niveau sanguin de LPS est affecté par la composition du régime alimentaire. Tous les nutriments n'ont pas la même capacité à augmenter l'endotoxémie. En effet, il a été montré qu'un régime hyperlipidique réduisait l'expression de protéines constituant les jonctions serrées : les occludines et la ZO-1, ce qui a pour conséquence une augmentation de la perméabilité intestinale et de la concentration plasmatique en LPS (fig.40). D'autre part, dans une étude récente, un autre récepteur TLR a été mis en cause dans la régulation de l'inflammation par le microbiote, le TLR-5 [423]. Des souris génétiquement déficientes en TLR-5 présentent un microbiote intestinal altéré, une obésité ainsi qu'un syndrome métabolique avec hyperlipidémie, hypertension et résistance à l'insuline. En comparaison des souris génétiquement obèses qui présentaient une inversion du ratio *Bacteroides/Firmicutes*, les souris TLR5-/- montraient une altération sur une centaine de phylotypes différents. Une relation directe a été démontrée entre

le microbiote altéré et l'obésité en transplantant un microbiote intestinal de souris TLR5-/- chez des souris axéniques. Ces dernières présentaient un gain de poids et une hyperphagie en comparaison aux souris contrôles. Dans l'ensemble, ces données soutiennent l'hypothèse selon laquelle le microbiote intestinal contribue à l'obésité et suggère que le dysfonctionnement du système immunitaire pourrait promouvoir le développement de troubles en relation avec l'obésité [424].

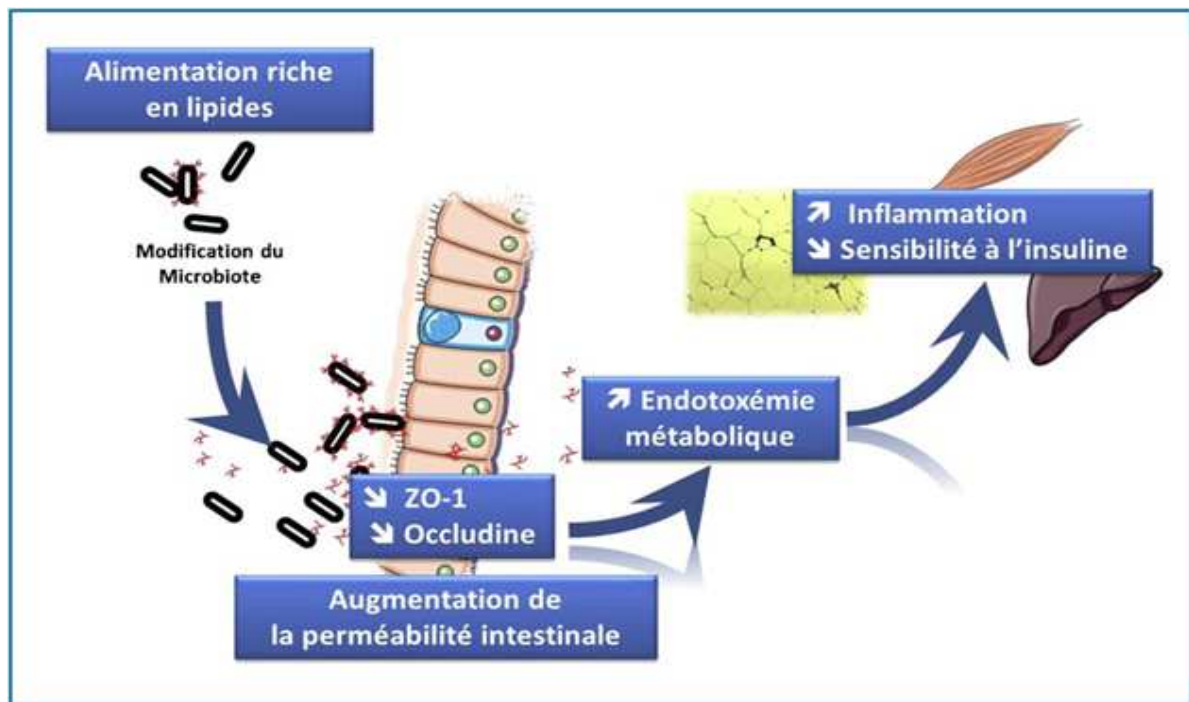


Figure N°40: Impact du microbiote intestinal et mécanismes associés au développement de l'inflammation, du diabète associés à l'obésité

2.2 Mécanismes métaboliques sur la régulation des graisses

Ces mécanismes peuvent être soit directement liés à l'altération de la composition du microbiote (via le Fiaf) soit indirectement par les métabolites générés (via la Gpr41).

On a déjà indiqué que le fait de coloniser l'intestin des souris axénique avec un microbiote des souris conventionnelles provoque une diminution de la sécrétion du facteur Fiaf, inhibiteur circulant de la Lpl, ce qui entraîne une augmentation généralisée de l'activité de

l'enzyme Lpl et donc amener un stockage des graisses plus importante au niveau des tissus, du foie et du cerveau. De même, une altération de ce microbiote et évidemment des métabolites produits, pourrait être à l'origine d'une stimulation moins importante de la protéine G, Gpr41. La stimulation du Gpr41 par l'acétate et le propionate pourrait induire la sécrétion locale du peptide YY (Pyy), hormone entéroendocrine, responsable de l'inhibition de la motilité intestinale et l'accélération du transit [319]. La diminution de Pyy serait donc à l'origine d'une augmentation d'absorption des graisses par augmentation de la motilité intestinale et baisse de la vitesse du transit. Ces expériences n'étant conduites que sur des modèles de souris, il est difficile de l'extrapoler chez l'homme. De plus, le rôle du microbiote intestinal a bien été prouvé, mais pas de lien précis avec une espèce ou famille de bactéries n'a été décrit.

2.3 Les hormones intestinales GLP-1 et GLP-2

Les hormones gastro-intestinales que sont le glucagon-like peptide-1 (GLP-1) et le glucagon-like peptide-2 (GLP-2), sécrétées par les cellules L de l'intestin en réponse à la prise alimentaire, sont particulièrement impliquées dans les interactions hôte-microbiote et dans la physiopathologie de l'obésité. La modulation du microbiote par des prébiotiques améliore les fonctions barrières de l'intestin et diminue l'inflammation et l'insulinorésistance associées à l'obésité en favorisant la sécrétion de GLP-1 et GLP-2 [425]. Par ailleurs, un traitement par des antagonistes de GLP-2 associé à l'administration de prébiotiques chez des souris ob/ob empêche l'amélioration des fonctions barrières de l'intestin ainsi que la diminution de l'endotoxémie métabolique, ce qui suggère que GLP-2 est responsable de l'amélioration de la barrière intestinale induite par une modulation du microbiote dans le cadre de l'obésité [426].

2.4 Hyperactivité du système endocannabinoïde

L'obésité est également associée à une hyperactivité du système endocannabinoïde (eCB). L'accumulation de la graisse intra-abdominale est un des indicateurs de la dérégulation de ce système. Ce dernier est également impliqué dans le maintien de la barrière intestinale par altération de la distribution des protéines de jonctions le long de l'épithélium [427]. Le système endocannabinoïde se compose de lipides endogènes qui activent spécifiquement des récepteurs couplés à des protéines G appelés Cannabinoïd Receptor 1 et 2 (CB1 et CB2) qui

sont exprimés le long du tractus digestif [428]. Les lipides endocannabinoïdes les plus étudiés sont l'anandamide (AEA) et le 2-arachidonoylglycerol (2-AG). Ces deux lipides sont des ligands des CB1 et CB2 qui sont également ciblés par le principal composant actif du *cannabis sativa*: 9-tétrahydrocannabinol (9-THC), et seraient impliqués dans la régulation des fonctions barrières de l'intestin [534]. De plus, plusieurs études ont suggéré une relation étroite entre le taux de LPS et système eCB que ce soit *in vivo* ou *in vitro*. Des études récentes ont prouvé que le microbiote intestinal est un régulateur de CB1 dans la mesure où l'administration d'antibiotiques diminue l'expression de ce gène chez les souris [532]. Ces résultats suggèrent que, dans le cas de l'obésité, le microbiote intestinal, par le biais du système eCB, pourrait modifier l'intégrité de la barrière intestinale et activer l'endotoxémie métabolique qui en découle. Cependant le rôle d'une bactérie spécifique n'a pas été encore déterminé.

b. Diabète non insulino-dépendant (DNID, type II)

Comme il a été précédemment indiqué, l'obésité est considérée comme l'un des principaux facteurs de risque de survenue d'un diabète de type II, le lien entre l'obésité et la résistance à l'insuline a d'ailleurs été observé sur des souris axéniques, en effet la décroissance du poids est associée à l'augmentation de la sensibilité à l'insuline [316]. La contribution de microorganismes aux complications du diabète a été bien décrite. Les infections bactériennes contribuent à la médiocre cicatrisation de l'ulcère du pied diabétique, qui est lié à une neuropathie diabétique et à des complications microvasculaires affectant un grand nombre de patients diabétiques. De plus, des épisodes récidivants de diarrhée aqueuse sont l'une des complications digestives les plus fréquentes du diabète.

Plusieurs équipes ont envisagé l'hypothèse selon laquelle le microbiote intestinal pourrait jouer un rôle dans le DNID au-delà de son action sur le poids corporel. De fait, Cani et son équipe [239] ont suggéré que le DNID pourrait être associé à une abondance de bactéries gram négatives (*Bacteroidetes*) et que la présence de *Bifidobacterium spp* était négativement corrélée au processus inflammatoire. Alors que dans une autre étude [430], l'espèce *Bacteroides vulgatus* et le genre *Bifidobacterium* étaient moins représentés chez les sujets atteints de DNID. Par ailleurs, une étude récente menée chez 36 adultes diabétiques a montré -

comme dans l'obésité- que le phylum des *Firmicutes* (notamment la classe des *Clostridiae*) était moins représenté que chez le sujet sain. De plus, le ratio *Bacteroidetes/Firmicutes* ainsi que le ratio *Bacteroides-Prevotella/Clostridium coccoides-Eubacterium rectale* étaient corrélés positivement et significativement avec la glycémie mais pas avec l'IMC. Ainsi, la classe *Proteobacteria* était aussi augmentée chez les sujets diabétiques et positivement corrélée avec la glycémie [431].

Par ailleurs, des études ont démontré le mécanisme d'action par lequel le microbiote intestinal pourrait affecter la résistance à l'insuline et la stéatose en régulant le métabolisme de la choline [432]. En effet, le métabolisme de la choline en triméthylamine (TMA) est entièrement réalisé par le microbiote intestinal, puis le TMA est absorbé par l'intestin et transporté au foie où il est éliminé par métabolisme hépatique. Donc le mécanisme proposé pour l'augmentation de l'insulinorésistance et la stéatose se pourrait être l'élévation du métabolisme de la choline en TMA, ce qui a pour effet de diminuer la biodisponibilité de la choline, qui est un précurseur de la phosphatidylcholine et pourrait causer l'accumulation des triglycérides au niveau hépatique. Le DNID est caractérisé par une production accrue de cytokines pro-inflammatoires qui portent atteinte à la signalisation de l'insuline dans le muscle, le foie et le tissu adipeux blanc [433]. Ainsi, la régulation d'hormones par le microbiote peut affecter le métabolisme du glucose chez l'homme.

c. Diabète insulino-dépendant (DID, type I)

Le diabète de type I est une maladie auto-immune médiée par les cellules T entraînant la destruction des cellules β du pancréas responsables de la sécrétion d'insuline. Le DID chez les enfants et les adolescents a, pour des raisons inconnues, augmenté dans les pays occidentaux durant la dernière décennie. De manière surprenante, certains articles ont associé l'altération du microbiote intestinal et la progression du DID. Comme dans l'obésité, la décroissance du phylum *Bacteroidetes* pourrait jouer un rôle dans la pathogénicité et ces changements du microbiote sont détectables avant le début clinique de la maladie [434]. Récemment, l'interaction entre le microbiote et le système immunitaire inné a montré que le microbiote pouvait être considéré comme un facteur prédisposant au DID [435], et puis cette relation microbiote/DID a été élucidée avec la manipulation de souris NOD "Non Obese

Diabetic” qui représentent un modèle d’étude du DID et qui sont génétiquement modifiées pour développer spontanément la maladie, et déficientes en MyD88 (protéine clé pour la reconnaissance des stimuli bactériens par les TLR du système immunitaire inné), cette étude a révélé la destruction des cellules β est MyD88-dépendante et que les souris utilisées ne présentaient pas de diabète. Étonnamment, cet effet est dépendant d’un microbiote normal. En effet, des souris NOD, déficientes en MyD88 et axéniques développent un diabète de même intensité que les souris NOD non déficientes en MyD88. Dans une deuxième série, les auteurs ont démontré que les souris NOD déficientes en MyD88 altéraient leurs microbiotes en comparaison aux souris NOD non déficientes, et qu’en transférant ce microbiote altéré dans des souris NOD axéniques, le diabète était atténué [435]. Ces études suggèrent fortement que les variations d’un microbiote individuel pourraient affecter le développement d’un DID. Une étude métagénomique intéressante récemment publiée a comparé les selles d’enfants atteints de DID avec celles d’enfants sains (contrôles) [436]. Chez les diabétiques, une augmentation du genre *Bacteroides* a été rencontrée alors que le genre *Prevotella* était fortement diminué (fig.41). La diminution des *Bacteroides* chez les sujets sains comparés aux malades est entièrement compensée par les *Prevotella* et les bactéries productrices de butyrate (fig.42) telles qu’*Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Anaerostipes*, *Roseburia*, *Subdoligranulum* et *Faecalibacterium*. Or, le butyrate possède un rôle anti-inflammatoire, induit la synthèse de mucines, diminue la translocation bactérienne au niveau des cellules épithéliales et améliore la barrière intestinale en augmentant l’assemblage des « tight junctions ».

De plus, les mucines sont des glycoprotéines synthétisées par l’hôte pour maintenir l’intégrité de l’épithélium intestinal. Les auteurs avancent que la diminution du butyrate au niveau intestinal chez les malades entraînerait une augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale et donc du transfert de bactéries et d’antigènes qui pourraient contribuer au développement d’une réaction auto-immune et donc l’établissement d’un DID. Enfin, *Prevotella* et *Akkermansia*, connues pour dégrader les mucines, sont pratiquement absents chez les sujets porteurs de DID (faible producteurs de mucines). Leurs présences dans l’intestin pourraient témoigner du contenu en mucines et peut-être contribuer à un diagnostic sur la perméabilité de l’épithélium.

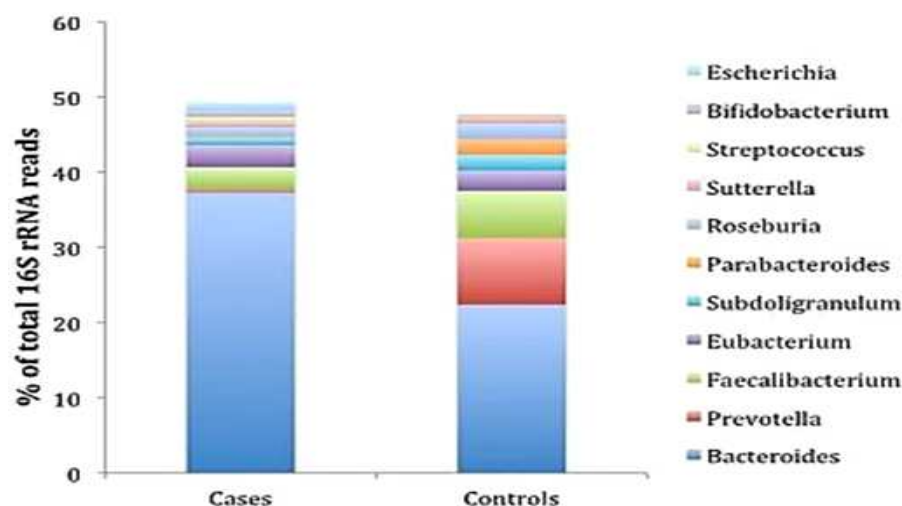


Figure N°41: Proportion moyenne des 11 genres bactériens les plus abondants entre les sujets diabétiques et sains

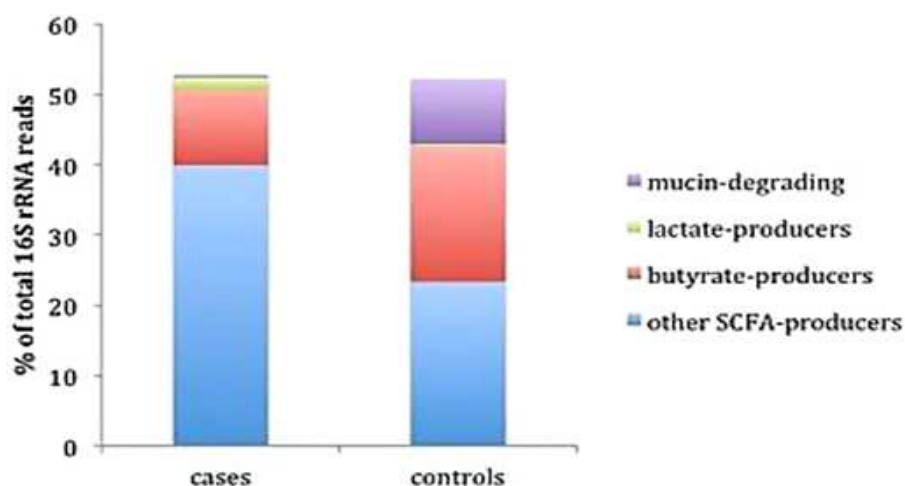


Figure N°42: Proportion moyenne de 4 groupes de fonctions entre diabétiques et sains

Comme dans le cas de l'obésité, le traitement de souris NOD par le probiotique VSL#3 (un cocktail de Lactobacilles, Streptocoques et Bifidobactéries) réduit la destruction des cellules β du pancréas et l'inflammation locale grâce à l'augmentation de la production d'IL10 (dans les plaques de Peyer) et au niveau systémique dans la rate et le pancréas [437].

d. Stéatose hépatique

De nombreux travaux ont permis d'associer certaines maladies à un déséquilibre du microbiote intestinal et en particulier d'associer certaines maladies à certaines bactéries

spécifiques, et la stéatose hépatique ne fait pas exception. Elle s'agit comme l'obésité et le diabète, d'un syndrome métabolique résultant de l'accumulation trop importante de graisses dans les hépatocytes et d'une inflammation concomitante qui altèrent l'homéostasie du foie conduisant à l'apoptose des cellules et la fibrose. Des études récentes ont suggéré l'implication du microbiote intestinal dans la prédisposition à la stéatopathie métabolique et au DNID, vu que ce microbiote est en contact étroit avec la barrière digestive puis avec le foie via la veine porte. Au cours de l'obésité, il a été montré que la perméabilité intestinale était augmentée, ainsi qu'une antibiothérapie orale chez des souris obèses entraînait une diminution du niveau des transaminases et de l'inflammation hépatique. En outre, Des chercheurs ont effectué des transplantations de microbiote intestinal à partir de souris conventionnelles vers des souris axéniques [438]. Un groupe a reçu le microbiote intestinal d'une souris présentant une insulino-résistance, une hyperglycémie et une stéatose hépatique avec un niveau sérique de cytokines pro-inflammatoires élevé tandis qu'un autre groupe a reçu le microbiote d'une souris saine (normo glycémique, sans insulino-résistance et sans stéatose hépatique). Nourries pendant 16 semaines avec un régime hyperlipidique, tous les animaux sont devenus obèses mais ceux qui avaient reçu le microbiote de la souris insulino-résistante et stéatosique ont développé une hyperglycémie et une hyperinsulinémie, au contraire des autres animaux qui n'ont pas développé ces complications métaboliques. De plus, l'examen des tissus hépatiques a révélé une stéatose plus importante dans le premier groupe, analyse confirmée par une concentration de lipides plus élevée dans le foie de ces souris (fig.43). Par ailleurs, l'analyse de la composition du microbiote par séquençage a mis en évidence des espèces bactériennes différentes dans les deux groupes de souris, ainsi une espèce a été identifiée de type *lachnospiraceae* spécifique de souris répondeuses au régime enrichi en graisses. Ces résultats montrent le rôle causal du microbiote intestinal dans la genèse de l'insulino-résistance et de la stéatose hépatique non alcoolique.

En outre, la dysbiose qui qualifie la stéatose hépatique alcoolique se traduit par une réduction importante de la variété et du nombre de Lactobacilles et d'une baisse quantitative des *Bacteroides*, *Proteobacteria* et *Fusobacteria* [439,440]. Une administration chronique d'alcool augmente le pH gastrique (se traduit par une augmentation de la quantité de bactéries présentes dans le jéjunum) et la perméabilité intestinale entraînant une augmentation de la

translocation de LPS provenant des bactéries intestinales vers la circulation portale, participant ainsi à l'activation des cellules de Kupffer et la production de plusieurs cytokines inflammatoires telles que le TNF α et Il-1 [441]. Des expériences impliquant la stérilisation intestinale à l'aide d'antibiotiques (polymixine et neomycine), ainsi que la modulation de bactéries gram négatif à l'aide d'un gavage de *Lactobacillus* a permis d'inhiber les lésions hépatiques dues à l'alcool [442].

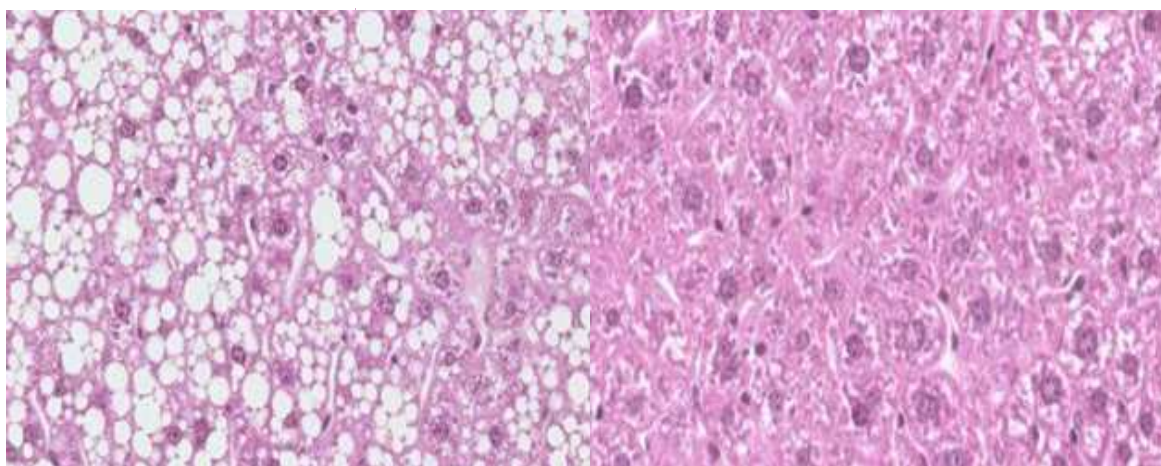


Figure N°43: Coupes de foie des souris associées au microbiote de la souris présentant des désordres métaboliques (à gauche) ou au microbiote de la souris sans désordre métabolique (à droite).

D'autre part, des études ont démontré que, à consommation d'alcool équivalente, l'atteinte hépatique varie considérablement d'un patient à l'autre. Les uns évoluent vers une stéatose, les autres vers une hépatite toxique ou une cirrhose voire un cancer. Une étude récente sur 38 patients consommant plus de 80 g d'alcool/j a montré que la sévérité des lésions était associée à un profil particulier du microbiote intestinal [443]. Les patients ayant une hépatite alcoolique aiguë sévère (HAAs) avaient un profil du microbiote intestinal statistiquement différent des patients ayant des lésions hépatiques non sévères. Ils avaient une dysbiose avec forte représentation des bifidobactéries, entérobactéries et *Streptococcus* (fig.44).

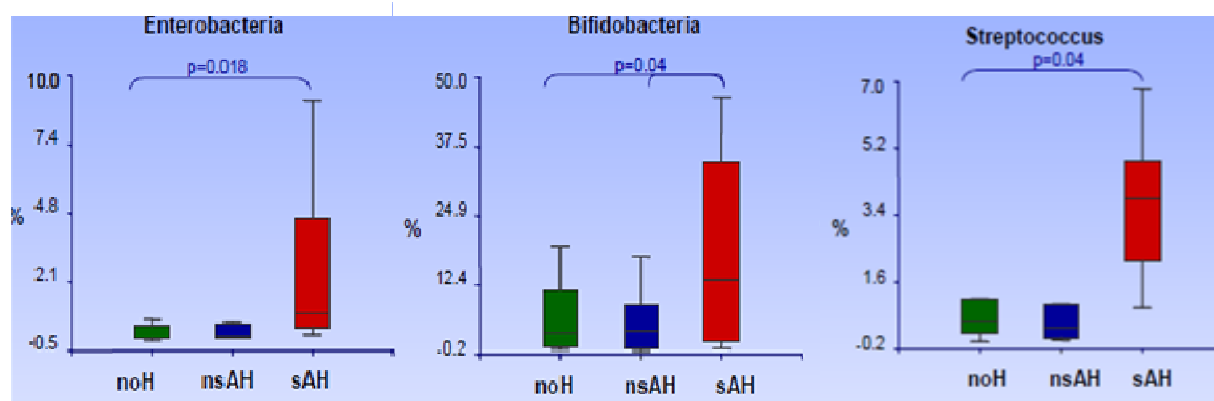


Figure N°44: Composition du microbiote intestinal des patients alcooliques avec différents stades de MAF: absence d'hépatite (no H, N=16) ; hépatite alcoolique non-sévère (nsAH, N=12) ; hépatite alcoolique sévère (sAH, N=10)

Afin de rechercher si la dysbiose était simplement une conséquence de l'HAAs ou bien jouait un rôle causal, des transplantations de microbiote ont été pratiquées sur des souris axéniques, après transplantation et alcoolisation, les souris associées au microbiote intestinal du patient ayant une HAAs avaient une inflammation hépatique, et l'analyse de la composition du microbiote intestinal a montré que la diversité de ce dernier était plus importante chez les patients et les souris sans HAA. Tandis que les *Bacteroides* et les bactéries de type *Clostridium nexile* et *bolteae* étaient systématiquement associées à la présence d'une HAA, chez l'homme et chez la souris. En plus les deux types de *Clostridium* produisaient de l'éthanol en culture [443].

Globalement, le rôle du microbiote intestinal est au cœur des recherches actuelles sur la MAF, les transplantations de ce microbiote pourraient constituer de nouvelles voies pour la prévention ou le traitement du DNID ou des maladies du foie. En revanche, le rôle spécifique de chaque population bactérienne est encore mal connu.

B. Dysbiose et maladies intestinales

a. Maladies inflammatoires chroniques intestinales : MICI

La rectocolite hémorragique (RCH) et la maladie de Crohn (MC), sont regroupées sous l'appellation de MICI, du fait de leur symptomatologie commune, elles se caractérisent par

une inflammation de la paroi d'une partie du tube digestif et s'évaluent par poussées, entrecoupées de périodes de rémissions. Elles sont parfois difficiles à distinguer l'une de l'autre. Cependant, la localisation des territoires touchés ainsi que leur physiopathologie diffèrent (Tableau IV).

Tableau IV : Différences entre la Maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH)

	MC	RCH
<u>Segment du tube digestif concerné</u>	N'importe lequel de la bouche à l'an	Uniquement le gros intestin
<u>Atteinte rectale</u>	1 cas sur 2	Systématique
<u>Atteinte anale</u>	Fréquente	Jamais
<u>Topographie des lésions</u>	Discontinue	Ininterrompue
<u>Histologie</u>	Atteinte de toute l'épaisseur du tissu intestinal Présence de granulomes	Atteinte de la muqueuse uniquement Absence de granulomes
<u>Saignements</u>	Fréquents	Systématiques
<u>Sténoses</u>	Fréquente	Peu communes
<u>Fistules</u>	Fréquente	Jamais
<u>Perte de poids</u>	Fréquente	Rare

Les MICI sont des pathologies multifactorielles qui résultent d'une réaction immunitaire exacerbée contre le microbiote intestinal chez des sujets prédisposés génétiquement. En effet, de nombreux arguments convergent en faveur de la responsabilité du microbiote intestinal dans l'induction et l'entretien de l'inflammation observée au cours des MICI. Néanmoins, à l'heure actuelle les données disponibles permettent seulement d'établir le constat d'un éventuel lien entre microbiote et MICI. Des études génétiques récentes ont pu identifier au moins cinq gènes dits de prédisposition. Celui qui semble jouer le rôle majeur est le gène NOD2 ou CARD15, identifié sur le chromosome 16. Deux mutations importantes au niveau des gènes NOD2 et ATG16L1 entraîneraient une modification de sécrétions de peptides antimicrobiens ainsi qu'une diminution de l'autophagie responsable de l'élimination des agents pathogènes [444]. D'autre part, certains facteurs environnementaux suspectés dans les

MICI sont des facteurs impliqués dans la variation du microbiote intestinal: alimentation, antibiotiques ou encore les conditions d'hygiène. Ceci renforce l'hypothèse d'un lien entre MICI et microbiote intestinal et d'autant plus entre dysbiose et MICI. De manière étrange, des études ont indiqué que le tabagisme joue un rôle délétère dans la MC alors qu'il possède un effet protecteur dans la RCH [445]. Enfin, l'appendicectomie est aujourd'hui considérée comme un facteur protecteur de la RCH (réalisée avant l'âge de 20 ans), et montre une efficacité plus importante que le tabac dans certaines études épidémiologiques [446]. Néanmoins, aucun lien entre MC et appendicectomie n'a pu être démontré à ce jour et les vertus de cette opération dans la RCH restent encore peu connus: l'ablation de l'appendice « inflammé » modifierait le statut inflammatoire de la RCH suggérant ainsi, un rôle de l'appendice dans l'auto-immunité intestinale [447].

Une multitude d'études ont été réalisées sur la différence de composition du microbiote intestinal chez des sujets porteurs de MICI et les individus sains, une dysbiose bactérienne a été décrite chez ces patients. En effet, de nombreuses données font état de variation des différents phylums bactériens au sein du microbiote associé à la muqueuse et du microbiote fécal des malades [448]. Les patients atteints de MICI présentent une diminution de la diversité dans leur microbiote et une augmentation de la concentration bactérienne dans l'intestin et essentiellement dans l'iléon par rapport aux patients sains [449]. Cette élévation est localisée et peut diverger selon que le patient considéré est atteint de RCH ou de MC. D'autre part, la redistribution du microbiote intestinal chez les malades est également visible au niveau tissulaire avec une colonisation importante des cryptes intestinales et une augmentation de la présence bactérienne au sein de la muqueuse.

1. Maladie de Crohn:

Les patients souffrant de MC présentent une diminution quantitative des *Firmicutes*, et précisément de l'ordre des *Lachnospiraceae*, du groupe des *Clostridium leptum* (clusters IV) et plus particulièrement l'espèce *F.prausnitzii* [76], le rôle protecteur de cette bactérie commensale a largement été montré comme étant une bactérie importante dans la MC. Son nombre décroît avec l'avancée de la pathologie et chez l'Homme, une diminution du nombre de *F.prausnitzii* est associée avec une augmentation de la fréquence des rechutes dans le cadre

de la MC [91,102]. Cette constatation chez l'homme est appuyée par des études parallèles *in vitro* chez l'animal montrant que la stimulation de cellules mononuclées du sang par *F.prausnitzii* menait à une diminution de la sécrétion d'IL-12 et d'INF- γ et à une augmentation de sécrétion d'IL-10. Ainsi, l'administration orale de *F.prausnitzii* vivants à des souris ayant une inflammation colique induite par l'acide 2,4,6-trinitrobenzenesulphonique (TNBS), a montré une diminution de l'inflammation locale et une correction de la dysbiose générée par cette inflammation. Enfin, *F. prausnitzii* possède des effets anti-inflammatoires (*in-vivo* et *in-vitro*) en sécrétant des métabolites qui bloquent l'activation des NF- κ B et la production d'IL-8 [102]. L'intérêt de ces découvertes est évidemment, la recherche et le développement de nouveaux traitements des MICI avec comme piste éventuelle, l'utilisation de *F.prausnitzii* comme probiotique pour prévenir le risque de récurrence de la maladie après une opération. D'autre part, le microbiote intestinal des patients MC est caractérisé par une décroissance des genres bactériens bénéfiques tels que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* souvent associée à la décroissance de *F.prausnitzii* [450], mais aussi par une augmentation des bactéries appartenant aux phylums Bacteroidetes et des Protéobactéries et plus particulièrement l'espèce *E.coli* adhérent-invasif AIEC (agent amplificateur de l'inflammation) [80,451]. Le microbiote associé à la muqueuse des patients MC présente aussi une dysbiose, elle n'est néanmoins pas localisée chez ces malades car elle concerne aussi bien les zones inflammatoires que les zones non inflammatoires. Il a également été observé une augmentation des *Ruminococcus gnavus* et *Ruminococcus torques*, bactéries mucolytiques capables de dégrader le mucus recouvrant les CEI, chez les patients atteints de MC. En effet, il a été démontré que la présence de bactéries pénétrant à l'intérieur de la couche de mucus est de 30 % chez le patient atteint de MICI alors qu'elle n'est que de 3 % chez l'individu sain. Les bactéries pourraient donc avoir un contact plus étroit avec les CEI et potentialiser l'inflammation locale [444] Par ailleurs, les patients MC ayant subi une résection iléale et en rechute malgré cela, ont une composition du microbiote intestinal différente de celle des patients en rémission. Elle est décrite par une faible abondance de *Lachnospiraceae*, *Erysipelotrichaceae* et une augmentation des *Rhodobacteriaceae* et des *Proteobacteria*. Le microbiote des patients en rémission devient proche de celui des patients contrôles. De plus, les malades en rechute ont un microbiote intestinal très instable dans le temps. La sévérité de

la dysbiose et son instabilité permettrait donc d'établir un pronostic post-chirurgical de l'évolution de la MC [452].

2. La rectocolite hémorragique:

Une dysbiose caractérise également le microbiote fécal et le microbiote associé à la muqueuse des patients RCH. Comme le microbiote fécal des MC, celui des patients RCH est colonisé par des bactéries inhabituelles. La dysbiose concerne une diminution des *Firmicutes*, de groupe *Clostridium coccoides*, des *Lactobacilles* et d'***Akkermansia muciniphila*** lors d'une RCH en phase active parallèlement à une augmentation de la colonisation iléale par les entérobactéries virulentes de type *Escherichia coli* entéro-invasif B2+D [142]. La dysbiose observée dans le microbiote associé à la muqueuse est localisée. Elle concerne les zones inflammatoires de l'intestin des patients RCH [453]. Le microbiote des patients RCH en rechute est différent du microbiote des patients en rémission. En effet, il y a disparition de certaines souches de *Lactobacille* dans leur microbiote fécal (*Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus manihotivorans*, *Lactobacillus pediococcus acidilactici*) et une réduction plus importante de la colonisation intestinale de *Faecalibacterium prausnitzii* par rapport aux sujets en rémission [454,455].

b. Syndrome de l'intestin irritable (SII)

Le syndrome de l'intestin irritable est le trouble le plus courant des intestins, caractérisé par un inconfort ou une douleur chronique abdominale avec des épisodes de constipation ou de diarrhée, sans anomalie organique. Le SII n'est pas une maladie grave mais touche environ 10 à 15% des adultes. En Europe, les deux tiers des personnes qui en souffrent sont des femmes. La cause du SII n'est pas entièrement comprise mais les études ont accepté que l'altération de l'axe du système nerveux central-système nerveux intestinal soit associée avec un dysfonctionnement du système nerveux autonome du tractus intestinal. De façon plus récente, l'attention s'est portée sur le rôle probablement important du microbiote intestinal dans les troubles du transit mais aussi dans le déclenchement et l'entretien de la douleur abdominale et la survenue d'une production locale de cytokines pro-inflammatoires sans lésion de la muqueuse (inflammation de bas grade) [456]. Son action métabolique serait

perturbée ce qui pourrait contribuer à l'apparition de ballonnements, de troubles moteurs, et favoriser l'hypersensibilité viscérale.

L'implication du microbiote intestinal a été suspectée dans cette pathologie du fait de sa survenue brutale au décours d'une gastroentérite ou d'une antibiothérapie. L'efficacité des probiotiques et de certains antibiotiques sur ce syndrome semble suggérer un rôle du microbiote dans sa physiopathologie (colonisation du grêle importante, anomalie de fermentation, protéases bactériennes). Par ailleurs, des études métagénomiques ont identifié une dysbiose chez les patients atteints de SII. L'une des principales études a comparé le microbiote fécal de 24 patients SII répondant aux critères de Rome II et n'ayant pas pris d'antibiotiques et de 23 témoins sains [457]. Cette étude a montré des différences significatives dans la composition du microbiote fécal entre les sous-groupes des patients atteints de SII (IBS-D avec diarrhée", IBS-C avec constipation), le microbiote fécal des patients SII contenait beaucoup plus de *Lactobacillus* et de *Collinsella* que celui des témoins, avec une diminution constante de l'espèce *Bifidobacterium* dans le sous-groupe des patients qui ne souffraient que de diarrhée IBS-D, et une plus grande proportion de *Bacteroides* et d'*Allisonella* chez les patients décrivant une alternance de diarrhée et de constipation. Une autre étude a démontré chez les patients SII une augmentation des *Lachnospiraceae*, *Veillonella spp*, *Dorea* et *Ruminococcus productus* [458]. D'autre part, certaines espèces identifiées chez les malades SII n'étaient qu'exceptionnellement observées chez des témoins sains. La comparaison des analyses publiées montre que, si des différences existent dans toutes les études entre les patients SII (quel que soit le sous-type) et les populations témoins, elles ne sont pas reproductibles. Ainsi, les populations de lactobacilles ou de clostridies sont tantôt diminuées, tantôt augmentées [457]. Un dernier travail récemment publié a adopté une méthodologie différente en se focalisant sur la recherche de l'ADN de 12 espèces bactériennes pathogènes dans les selles des malades. Cette étude a montré la prévalence anormalement élevée de *Staphylococcus aureus* chez 96 malades SII par rapport à un groupe de 23 témoins [459].

Cependant, Seules 2 études jusqu'à présent fournissent des informations sur le microbiote de contact via l'analyse de biopsies muqueuses intestinales. Elles ont abouti à des résultats

contradictaires. Le travail de Swidsinski et al. va dans le même sens que les études fondées sur une analyse du microbiote fécal : le microbiote de contact n'est pas identique chez les témoins sains et chez les patients SII. Il y a chez ces derniers un plus grand nombre d'anaérobies, d'*Escherichia coli* et de *Bacteroides*. Mais, dans une étude plus récente, aucune différence n'a pu être mise en évidence sur le microbiote isolé à partir de biopsies muqueuses coliques [457]. Au niveau immunologique, les TLR 4 et 5 sont surreprésentés au niveau de la muqueuse du côlon chez les patients atteints de SII. De plus, les niveaux d'anticorps anti-flagelline et anti- β défensine 2 sont plus élevés [456].

Enfin, beaucoup d'études ont indiqué que les probiotiques pourraient jouer des rôles importants dans le maintien de l'homéostasie intestinale par modulation de l'immunité et augmentation des fonctions de la barrière épithéliale. De même, des études cliniques et des méta-analyses ont montré que certains traitements à base de probiotiques ont des effets bénéfiques sur certains patients sélectionnés [456].

c. Maladie cœliaque

La maladie cœliaque est un trouble inflammatoire intestinal chronique auto-immun, caractérisé par un syndrome de malabsorption de l'intestin grêle déclenché par l'ingestion de gluten, chez des individus prédisposés génétiquement. La phase active est caractérisée par un état pro-inflammatoire résultant d'une réaction immunitaire anormale au gluten, avec perméabilité épithéliale accrue et qui peut favoriser le passage d'antigènes de la lumière intestinale à la sous-muqueuse [460]. Chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque, le gluten déclenche une complexe série de processus dans l'organisme. C'est dans l'intestin grêle que se déroule l'action : lorsque les enzymes commencent à dégrader les protéines de gluten des aliments (les gliadines), le système immunitaire se met en alerte « rouge ». Les cellules immunitaires s'activent par erreur, cette activation se traduit soit par une réaction immunitaire adaptative dominée par des cytokines pro-inflammatoires Th1 (par exemple IFN- γ), ou par une réaction immunitaire innée obtenue par médiation par Il-5, les deux phénomènes provoquent des dommages dans l'intestin et une absorption défailante des

nutriments. Le seul traitement connu à ce jour contre cette maladie consiste à bannir de l'alimentation tous les produits contenant du gluten.

L'étiologie de la maladie cœliaque est multifactorielle. Environ 30% de la population possède un gène HLA DQ2/8 qui la prédispose à la maladie cœliaque, or; la maladie ne sera diagnostiquée que chez 2 à 5% de ces personnes. Certes, les gènes jouent un rôle important, mais ce ne sont pas les seuls, ce qui suggère que d'autres facteurs environnementaux sont également en cause mais demeurent inconnus. Les études du microbiote intestinal dans la maladie cœliaque sont encore à leurs débuts et ont donné des résultats contradictoires probablement en raison de différentes approches expérimentales (analyse des fèces ou d'échantillons de biopsie) dans différentes populations de patients de différent pays. Tous ces facteurs peuvent biaiser l'analyse du microbiote.

Le premier indice signalant que les bactéries intestinales pourraient être importantes est le fait que les cœliaques ont une composition microbienne intestinale différente de celle des personnes en bonne santé. Particulièrement altérée dans l'intestin grêle et partiellement rétablie après un régime sans gluten. L'altération de la composition du microbiote intestinal chez ces patients est caractérisée par une réduction de la proportion des bactéries protectrices, anti-inflammatoires appartenant au genre *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, une augmentation de la proportion des bactéries à gram négatif telles que *Bacteroides* et *Enterobacteriaceae* et particulièrement l'espèce *E.coli*, et par une augmentation du nombre de *Staphylococcus*, *Actinomyces*, *Prevotella* et *Clostridium* [461]. Par ailleurs, une étude récente espagnole a confirmé l'implication du microbiote intestinal dans les maladies cœliaques [462]. Les chercheurs ont évalué l'activité du microbiote via des analyses de selles chez des patients sains (16 avec un régime normal, 11 avec un régime sans gluten), des malades cœliaques (22 non-traités et 20 traités) et leurs parents au premier degré (71 avec un régime normal, 69 avec un régime sans gluten). Les résultats montrent une modification du métabolisme du gluten chez les cœliaques, suggérant une protéolyse supérieure du gluten liée à un fonctionnement anormal du microbiote : augmentation des activités enzymatiques fécales gluténasiques (protéolyse du gluten), tryptiques (protéolyse par la trypsine), et dirigées contre le peptide 33-mer (peptide immunogénique vis-à-vis duquel les malades cœliaques réagissent);

accroissement des concentrations fécales en métabolites issus de la fermentation bactérienne dans le colon (acétate d'éthyl, acétate d'octyle, AGCC et la glutamine) avec des concentrations en gluten plus faibles dans les selles. Les parents des malades montrent certains paramètres similaires aux patients (concentrations élevées en métabolites issus de la fermentation bactérienne) et aux volontaires sains (activités gluténasique et tryptique). D'autres études ont soupçonné que le microbiote intestinal pourrait jouer un rôle dans les réactions immunitaires impliquées dans cette maladie. En effet, la stimulation de la production des cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IFN γ et IL-8) et anti-inflammatoire (IL-10) par des échantillons fécaux d'individus sains avant et après un régime sans gluten a confirmé que cette production est diminuée après un régime en gluten ainsi que la décroissance des *Bifidobacterium* et des *Lactobacillus* et l'augmentation des *Enterobacteriaceae* [234]. Ainsi, un dysfonctionnement de la sécrétion d'IgA par les plaques de Peyer (première ligne de défense dans le mucus épithélial contre les antigènes étrangers) pourrait créer un risque de développement de la maladie cœliaque [463].

Malgré les progrès technologiques dans l'étude du microbiote intestinal, beaucoup de questions demeurent sans réponse sur le rôle des bactéries commensales dans les maladies à médiation immunitaire gastro-intestinales. Tout d'abord, et c'est peut-être la question la plus importante, il est nécessaire de savoir si les altérations du microbiote intestinal sont une cause ou une conséquence de l'inflammation intestinale. Il existe des éléments de preuve à l'appui des deux hypothèses et des études supplémentaires sont nécessaires pour élucider la cause et l'effet. En outre, il y a un intérêt certain à comprendre comment les altérations microbiennes peuvent être utilisées pour élaborer de nouvelles stratégies thérapeutiques, bien que les essais cliniques fassent défaut dans la maladie cœliaque. Des interrogations demeurent donc à propos des impacts du régime sur le microbiote et de l'origine des modifications du microbiote intestinal ainsi que vis-à-vis de l'effet de différentes bactéries commensales sur la fonction immunitaire. D'ailleurs, dans une étude récente les chercheurs ont étudié trois groupes : le premier, composé de souris axéniques, le deuxième de souris SPF ne comptant que des bactéries inoffensives (un groupe réduit connu pour sa capacité à maintenir l'équilibre de l'intestin), et le troisième de souris avec un microbiote normal, complexe, comprenant des

bactéries qui pourraient éventuellement causer la maladie [461]. L'équipe a découvert que, concernant la maladie cœliaque, les bactéries pouvaient agir comme un allié ou comme un ennemi. Les souris axéniques et celles possédant un microbiote complexe avaient augmenté leurs réactions au gluten. En revanche, celles colonisées par des bactéries inoffensives avaient réduit leurs réactions au gluten, ce qui indiquerait que le mélange bactérien spécialement sélectionné avait contribué à activer les réponses immunitaires protectrices. Ensuite, les chercheurs ont administré un autre type de bactérie aux souris avec le mélange inoffensif : une bactérie normalement bénigne qui peut causer la maladie dans certaines circonstances, c'est-à-dire un pathobiont, issu d'une personne cœliaque. À la suite de cette intervention, ces rongeurs sont devenus vulnérables au gluten. Et donc ils n'étaient plus protégés. Alors, ce n'est pas seulement la présence ou l'absence de bactéries qui est importante, mais également l'équilibre entre les commensaux et les pathobionts.

Enfin, plusieurs études ont montré qu'un régime sans gluten améliore la dysbiose mais ne la traite pas complètement, ainsi l'hypothèse de la mise en place de probiotiques et/ou de prébiotiques pour éliminer cette dysbiose devra être confirmée par des essais dans la population cible.

d. Les diarrhées

1. Les diarrhées aiguës infectieuses

Quel que soit l'agent incriminé (bactérie, virus ou parasite), une dysbiose a été mise en évidence au cours et au décours des diarrhées infectieuses. Le dénombrement bactérien réalisé par des techniques bactériologiques classiques montre une augmentation des bactéries aérobies qui se généralise à l'ensemble de l'intestin et une diminution concomitante des anaérobies strictes. Ces modifications pourraient être le reflet d'un bouleversement de l'écosystème colique par altération de ses propriétés physicochimiques: changement des substrats et variation du pH et/ou du potentiel d'oxydoréduction. les taux élevés de bactéries aérobies peuvent être expliqués par le fait que lors des diarrhées aiguës infectieuses, en raison de l'afflux d'eau et d'électrolytes et/ou à l'occasion des troubles moteurs, une partie du microbiote habituel du côlon droit se retrouve au niveau du côlon gauche et des selles [464].

Les gastroentérites virales représentent l'un des premiers motifs de consultation en médecine et le rotavirus est l'agent pathogène le plus fréquemment retrouvé dans les diarrhées de l'enfant de moins de 5 ans partout dans le monde. Dans une étude menée en Inde chez des enfants souffrant de gastroentérite, des modifications dans le microbiote intestinal ont été mises en évidence au cours de la phase diarrhéique de la maladie, marquée par une diminution des *Eubacteria* et des *Bacteroides*, suivies d'une normalisation en 4 semaines [465].

2. Les diarrhées post-antibiotiques

La prise d'antibiotique a un impact direct sur le microbiote. L'antibiotique détruit les bactéries du microbiote dominant qui lui sont sensibles, rompant ainsi l'effet de barrière et favorisant la pullulation de germes pathogènes. Dans un certain nombre de cas, ce déséquilibre provoque des diarrhées dont la fréquence augmente aux âges extrêmes de la vie (chez l'enfant ou la personne âgée) ou lors d'une antibiothérapie à spectre large. La diarrhée post-antibiotique est observée chez 5% à 10% des malades sous ampicilline, 10% à 20% des patients qui reçoivent l'association amoxicilline et acide clavulanique, 15% à 20% des patients sous céfixime et enfin chez 5% des malades traités par d'autres antibiotiques comme les fluoroquinolones, la clarithromycine, l'érythromycine et les tétracyclines. On distingue habituellement trois situations cliniques: diarrhée simple, colite hémorragique (liée à l'émergence de *Klebsiella oxytoca*) ou colite pseudomembraneuse (liée à l'émergence de *Clostridium difficile*).

La pathogénie de ce type de diarrhées est complexe et repose sur des perturbations quantitatives et qualitatives du microbiote et qui se rétablissent peu de temps après l'arrêt de l'antibiothérapie. L'analyse du microbiote fécal des volontaires sains recevant un antibiotique a montré qu'après l'administration d'amoxicilline pendant 5 jours, une diminution précoce de la diversité du microbiote a été observée en 2 à 3 jours par rapport à des témoins. En plus, la variabilité la plus forte était celle de *Bacteroides*. Et enfin, le microbiote s'est normalisé habituellement en 4 semaines, mais a pu, dans quelques cas, rester anormal pendant une période pouvant aller jusqu'à 2 ans. Une autre analyse prospective de selles recueillies pendant et après une antibiothérapie chez un homme qui a développé une diarrhée post-antibiotique a permis de constater une diminution des taux de deux clusters clostridiens (IV et

XIVa) habituellement prédominants, et le microbiote s'est normalisé après l'arrêt de l'antibiotique et la diarrhée a disparu [465].

Deux mécanismes sont à l'origine de la diarrhée sous-antibiotique : La prolifération de germes pathogènes endogènes ou exogènes et la diminution de l'activité fermentaire du microbiote colique, et qui sont principalement liés à l'interruption de la multiplication bactérienne par l'antibiothérapie ou l'éradication transitoire des bactéries commensales. En plus de *Clostridium difficile* et *Klebsiella oxytoca*, autres micro-organismes ont été rencontrés lors des diarrhées post-antibiotiques tels que *Salmonella*, *Clostridium perfringens* type A et *Staphylococcus aureus* [464].

La diminution des bactéries anaérobies dans le côlon induit des désordres métaboliques tels que la réduction de la production des AGCC et une augmentation de la quantité de glucides non absorbés susceptibles d'induire, d'une part, l'augmentation de la pression osmotique impliquant une diarrhée osmotique et, d'autre part une diminution de l'absorption des électrolytes (sodium et potassium) normalement stimulée par les AGCC. De plus la diminution de la conversion des acides biliaires primaires en acides biliaires secondaires favorisant une diarrhée sécrétoire cholérétique [464].

Le principal germe responsable des diarrhées post-antibiotiques est une bactérie anaérobie stricte à gram positif: *Clostridium difficile*, proliférant consécutivement à l'utilisation de traitements antibiotiques. Cette espèce, en libérant les toxines A et B altère lourdement la paroi de l'épithélium intestinal et mène à une inflammation locale aigüe. L'exposition aux antibiotiques (notamment à ceux qui affectent le microbiote digestif ou à une chimiothérapie anticancéreuse, l'hospitalisation, le grand âge (plus de 65 ans), l'immunosuppression et les comorbidités constituent les facteurs de risque les plus reconnus de l'infection à *C.difficile* (ICD). Le traitement préventif comprend l'usage raisonné des antibiotiques et le respect rigoureux des mesures d'hygiène. Le traitement curatif consiste en une antibiothérapie à base de métronidazole ou la vancomycine (en cas d'absence de réponse au métronidazole après 3 jours). La plupart des patients atteints d'ICD vont répondre favorablement aux antibiotiques. Cependant, 10-20 % d'entre eux développent après la fin du traitement des symptômes récidivants. Cette situation est appelée ICD récidivante (ICDR), ou *Clostridium difficile* à

rechute. L'ICDR peut représenter un véritable défi car il n'y a pas de traitement reconnu comme uniformément efficace et en plus il y a l'administration des cures répétées d'antibiotique ce qui va favoriser le déséquilibre du microbiote digestif. D'ailleurs, une étude du microbiote menée chez 7 patients atteints d'ICD et 3 témoins a indiqué que chez les patients qui ont développé une ICDR, il y avait une diminution significative et cohérente de la richesse phylogénétique du microbiote, par comparaison à des témoins et à des cas d'ICD sans récides (fig.45) [465].

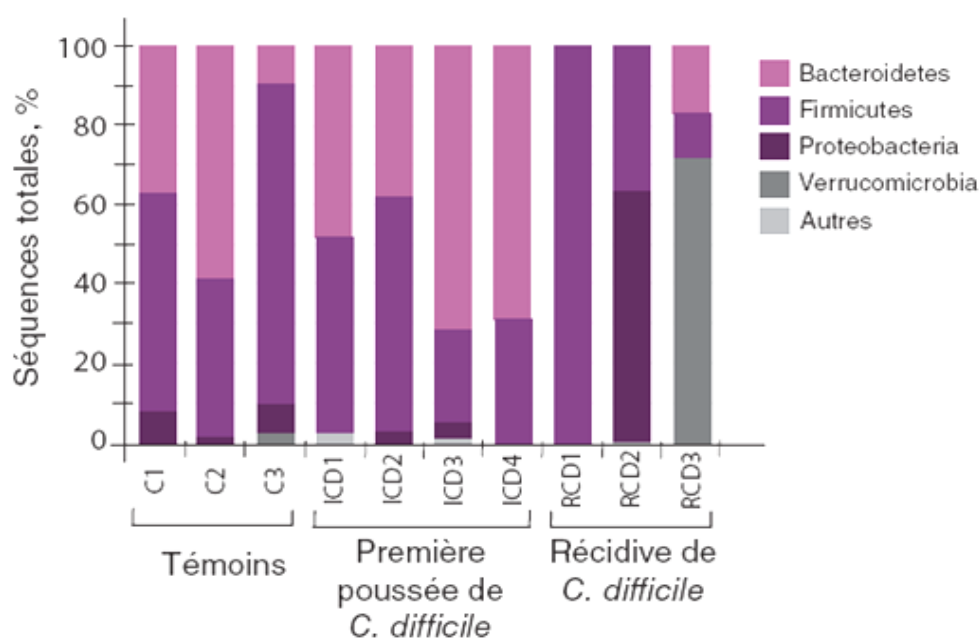


Figure N°45: Abondance relative des membres des phylums bactériens prédominants dans le microbiote fécal des patients atteints de diarrhée post-antibiotiques en rapport avec *C.difficile*

C. Dysbiose et maladies allergiques

Bien que l'amélioration dans la santé humaine et l'allongement de la durée de vie depuis le 19^{ème} siècle ont été faites grâce aux avancées des conditions sanitaires et de l'augmentation de l'hygiène constante au cours du temps et ont permis de réduire la mortalité due aux épidémies et aux maladies infectieuses de manière drastique, il apparaît depuis quelques décennies que la faible exposition de l'Homme à des microbes dans les premiers mois de vie est délétère pour la santé humaine.

L'hypothèse hygiéniste a été formulée au début des années 1990 par Strachan et suggère que l'augmentation de la prévalence de maladies allergiques comme l'eczéma ou l'asthme est liée à l'exposition inadéquate à des microorganismes ou à leurs produits se développant en réponse aux conditions d'hygiène de plus en plus draconiennes (hôpitaux, produits aseptisant, hygiène accrue...) et aux conditions de vie moderne (famille plus petite, antibiothérapie, césarienne...) [45,51]. En effet, ces pathologies sont en recrudescence dans les pays ayant adoptés un style de vie « aseptisé » (pays industrialisés). L'incidence de ces pathologies est réduite dans les populations présentes dans les pays moins industrialisés ou dans les zones rurales des pays développés. De nombreuses études épidémiologiques suggèrent que les altérations du microbiote apparaissent avant les manifestations allergiques chez l'enfant et que les dysbioses ne sont donc pas uniquement une conséquence mais également une cause de l'apparition de maladies allergiques [466,467]. Les résultats d'une étude danoise portant sur 411 enfants ont ainsi révélé que la diminution de la diversité des bactéries du microbiote intestinal durant les périodes précoces du développement (entre un mois et un an) est associée à une augmentation du risque de sensibilisation allergique et de rhinites allergiques durant les six premières années de vie [468]. Plusieurs études ont souligné une relation proche existe entre l'allergie et la composition du microbiote intestinal. Il en ressort de façon générale que les enfants allergiques présentent un microbiote intestinal moins diversifié, moins riche en Bifidobactéries et en *Lactobacillus rhamnosus*, *casei* et *paracasei* (ces trois Lactobacilles sont connus pour leurs rôles bénéfiques sur l'inflammation). Par ailleurs, autres études ont confirmé la baisse des bifidobactéries et ont montré l'augmentation des espèces *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* dans le microbiote des patients allergiques [45]. Des études basées sur des méthodes de culture indiquent que les taux de bifidobactéries et d'entérocoques peuvent être corrélés aux manifestations cliniques de l'allergie durant le premier mois de vie. Cependant à partir de l'âge de 6 mois le niveau des entérocoques redevient similaire à celui observé chez des enfants sains. De plus, le ratio *Bacteroidetes/Bifidobacterium* a été décrit comme plus élevé chez les enfants de 2 ans montrant des symptômes d'atopie. Une autre étude, basée cette fois sur une méthode indépendante de la culture (qPCR), indique que les enfants qui développent des allergies sont moins fréquemment colonisés par les espèces appartenant aux genres *Lactobacillus*,

Bifidobacterium et *Clostridium difficile* à l'âge de 2 mois par rapport aux enfants vivant au sein de grands habitats qui présentent par ailleurs un microbiote plus diversifié. D'autre part, les bactéries du genre *Clostridium* semblent être associées à la protection contre la respiration sifflante durant la première année de vie [45]. En outre, des dysbioses au sein du microbiote intestinal ont été observées chez des enfants souffrant d'une allergie alimentaire (lait de vache) par rapport à des enfants non allergiques [469].

Par ailleurs, le terme de « old friends », prend en compte les bactéries commensales mais aussi les microbes originaires des plantes, du sol et des animaux domestiques relativement inoffensifs qui ont coévolué avec l'Homme avant leur changement de condition de vie dans un environnement urbain aseptisé [470]. Il est possible qu'un microbiote inadéquat ou insuffisant (absence des « Old friends ») conduise à la dérégulation du système immunitaire induisant des changements dans la réponse allergique [45,126]. D'autre part, il a été aussi démontré que la colonisation de souris par *Candida albicans* suite à un traitement par des antibiotiques à larges spectres peut promouvoir le développement d'allergie respiratoire [45]. Enfin, comme nous l'avons précédemment vu, le mode d'accouchement et l'alimentation sont des facteurs influençant la colonisation du microbiote intestinal chez le nouveau-né. D'après Nimwegen et al, l'accouchement par césarienne et une alimentation non maternelle pourraient amener un risque plus important à l'enfant de déclarer une allergie et ce risque serait corrélé à la présence de *Clostridium difficile* [471].

D. Dysbiose et pathologies neurologiques

a. Acidose D-lactique

Comme nous avons déjà expliqué dans le chapitre des Facteurs physiologiques, le SGC est le syndrome de la complication de la résection de l'intestin grêle (longueur restante entre 1m50-2m d'intestin). Le microbiote intestinal doit s'adapter à l'absence d'une partie de l'intestin : diminution du transit intestinal, baisse de l'absorption des nutriments (lipides, protéines et glucides). Lors du SGC, les glucides mal absorbés atteignant le côlon sont responsables d'une hyperfermentation avec production d'acides organiques, entraînant une diminution du pH intraluminal pouvant conduire à des encéphalopathies lactiques et favoriser la croissance d'espèces bactériennes acidorésistantes telles *Clostridium perfringens*,

Streptococcus bovis, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus fermenti* producteurs d'acide lactique, dont le métabolisme en pyruvate nécessite une D-2-hydroxyacide déshydrogénase. Cette accumulation de D-lactate devient toxique pour le cerveau, les symptômes sont polymorphes et de sévérité variable incluent une détérioration de l'état mental, nystagmus, des troubles de l'élocution et une ataxie, stimulant un état d'ivresse, voire coma. L'apparition des symptômes neurologiques s'accompagne d'une acidose métabolique et d'une élévation de la concentration plasmatique de D-lactate ce qui pourrait entraîner une altération du pH intraneuronal avec comme conséquence une inhibition du pyruvate décarboxylase responsable d'une production d'acétyl CoA et d'adénosine triphosphate, altérant la production de neurotransmetteurs. Des cofacteurs semblent participer à l'apparition de ces épisodes : un déficit en thiamine, une diminution de la motricité colique et des apports trop abondants en glucides et lactose [162].

Les traitements proposés sont une diététique limitée en hydrates de carbone raffinés et en produits lactés. L'antibiothérapie consiste en l'administration par voie orale du métronidazole, la néomycine ou la vancomycine (pendant 10 à 14 jours). Cependant, le microbiote intestinal doit être considéré comme un facteur majeur de l'adaptation intestinale après résection étendue du grêle, qui doit être respecté et ne doit pas être détruit par l'utilisation inappropriée et/ou prolongée d'antibiotiques par voie orale.

b. Autisme

L'autisme est l'un des troubles du développement ayant la plus forte hausse d'incidence dans le monde, et de prévalence, estimée actuellement à environ 70 million de personnes touchées dans le monde. Selon l'OMS, au moins un enfant sur 160 présente un trouble du spectre autistique (TSA). Ces troubles regroupent une série d'altérations du développement du cerveau caractérisées par une ample gamme de symptômes : des déficits dans l'interaction sociale, des difficultés de communication, des modèles comportementaux limités et répétitifs et parfois également des défaillances linguistiques et un traitement cognitif retardé, et de degrés d'handicap : tandis que certains enfants peuvent n'expérimenter qu'une faible détérioration, d'autres sont atteints d'une grave infirmité.

Bien que de nombreux facteurs aient été évoqués, à ce jour, la cause exacte de ces anomalies n'a pas été décelée. Pourtant le lien entre le microbiote intestinal et l'autisme est suggéré par les observations suivantes :

- 1) Le début de la maladie suit souvent une thérapie antimicrobienne ;
- 2) Des anomalies gastro-intestinales sont souvent présentes au début de l'autisme et persistent fréquemment ;
- 3) Les symptômes de l'autisme sont parfois réduits par un traitement oral de vancomycine, tandis que la rechute arrive à l'arrêt du traitement [45].

Les personnes autistes présentent des altérations dans le métabolisme du soufre avec une augmentation de peptides urinaires, d'ammoniac et des AGCC, ce qui suggère une prolifération de bactéries anaérobies comme *Clostridium*, *Bacteroidetes*, et *Desulfovibrio*. Par ailleurs, l'examen de selles d'enfants atteints d'autisme a montré un taux multiplié par dix de *Clostridium spp.* Les auteurs ont remarqué que le traitement antibiotique le plus utilisé avant la survenue de la maladie était l'association triméthoprim/sulfaméthoxazole, traitement sans efficacité contre les *Clostridium* [45]. Des recherches récentes menées par des scientifiques de l'Institut de Technologie de Californie (Caltech) ont montré que le microbiote des souris atteintes d'autisme était altéré et moins riche en *Bacteroides fragilis* et leurs intestins présentaient une plus grande perméabilité par rapport aux souris saines, ce qui peut s'avérer dangereux, car des substances potentiellement nocives ou toxiques peuvent traverser les parois de l'intestin et finir dans le sang. C'est d'ailleurs peut-être ce qui arrive à certains enfants atteints de TSA et qui souffrent de diarrhée [472]. Ce qui est encore plus remarquable que les modifications dans la population microbienne des souris affectées, ce sont les produits des activités métaboliques des bactéries. Les chercheurs ont découvert que le sérum des souris TSA contenait 46 fois la quantité normale d'une molécule appelée sulfate d'éthylphényle 4 (4-EPS) qui est un métabolite des bactéries de l'intestin. Ce métabolite est chimiquement proche du crésol p, un métabolite intestinal trouvé à des concentrations élevées dans l'urine des enfants autistes. Afin d'établir le rôle psychiatrique joué par le 4-EPS, le Pr Hsiao et ses collègues ont administré le métabolite à des souris saines qui, en résultat, ont montré certains symptômes comportementaux similaires à ceux des souris TSA. Cela suggère en effet que le

4-EPS et des molécules similaires, qui ont traversé la barrière intestinale, peuvent atteindre le cerveau par le sang et à de fortes concentrations, peuvent influencer le comportement d'une manière anormale [472].

En outre, une étude récente publiée en 2015 a prouvé que l'exposition à l'herbicide Roundup* de Monsanto, peut être une cause sous-jacente des TSA [473]. Le glyphosate, la matière active herbicide, agit par inhibition de l'enzyme EPSP synthase ou EPSPS, une enzyme clé dans la voie shikimique qui catalyse la production d'acides aminés aromatiques (le glyphosate entraîne la mort de la plante). Cette voie biochimique n'existe pas chez les animaux, mais elle existe dans les bactéries, y compris chez celles qui vivent dans l'intestin. Le Roundup* tue donc les bactéries intestinales bénéfiques qui fournissent les acides aminés essentiels à notre organisme et favorise le développement des agents pathogènes tels que *Clostridium difficile*. Il perturbe la synthèse des acides aminés, par exemple : la méthionine, qui entraîne des pénuries de neurotransmetteurs essentiels et d'acide folique, et le tryptophane, dont la carence conduit à une exacerbation des symptômes autistiques, ainsi qu'à une réduction des sentiments de bonheur et de calme. Enfin, le Roundup* supprime des minéraux importants comme le fer, le cobalt, le manganèse... Pire encore, il a été constaté aux États-Unis que le glyphosate est présent en quantité anormalement élevée dans le lait des mères allant de 760 à 1600 fois la limite autorisée dans l'eau potable en Europe, et puis des tests d'urines montrent que les américains ont une accumulation de glyphosate dix fois plus élevée que les européens. De plus, il a été montré que les enfants autistes sont beaucoup plus susceptibles d'avoir été nourris au biberon avec des formules de lait contenant du soja OGM (génétiquement modifié) et il est plus probable que le soja OGM soit contaminé avec du glyphosate, et cela a été aussi montré dans toutes les boissons gazeuses et bonbons sucrés avec du sirop de maïs et toutes les chips et les céréales qui contiennent des additifs au soja. D'autre part, le taux d'ammoniac qui est accru chez les patients autistes peut être expliqué par la capacité de glyphosate d'activer la phénylalanine ammoniac lyase (PAL), une enzyme présente chez les animaux ainsi que chez les bactéries de l'intestin et qui renvoie au lien étroit qui existe entre l'autisme et l'encéphalopathie hépatique, qui est également caractérisée par la présence d'ammoniaque en excès [473].

Par ailleurs, des études antérieures ont révélé que le traitement probiotique avec *B.fragilis* a traité efficacement les problèmes immunitaires et gastro-intestinaux dans les modèles de souris souffrant de maladie intestinale et sclérose en plaque. L'hypothèse pourrait être confirmée : après avoir traité les souris TSA avec *B. fragilis* leur perméabilité intestinale augmentée et les niveaux élevés de 4-EPS sont revenus à la normale. Ce qui ouvre la voie au développement de nouveaux médicaments pour combattre les symptômes de l'autisme.

c. Sclérose en plaque

Une autre maladie du système nerveux qui pourrait être affectée par le microbiote intestinal est la sclérose en plaques (SEP), une maladie électrique auto-immune chronique et démyélinisante du SNC, menant à une détérioration progressive des fonctions neurologiques, associée à un état inflammatoire et neurodégénératif affectant le cerveau, la moelle épinière et les nerfs optiques. Elle se développe habituellement entre l'âge de 20 et 40 ans et est plus fréquente chez les femmes. Elle entraîne des lésions qui provoquent des perturbations motrices, sensibles et cognitives. À plus ou moins long terme, ces troubles peuvent progresser vers un handicap irréversible. Bien que l'origine exacte de la maladie demeure à l'heure actuelle encore inconnue, la principale hypothèse étayée par de nombreuses études évoque une réponse inflammatoire incontrôlée dirigée contre les protéines composant la myéline. La myéline forme autour des axones une gaine protectrice constituée de lipides essentielle au passage rapide de l'influx électrique entre les neurones et la libération des neurotransmetteurs qui contribuent au bon fonctionnement de notre corps et de notre cerveau.

Pendant une période, les chercheurs ont spéculé sur le fait que la dégradation de la myéline constatée dans les cas de SEP se devait, du moins en partie, à l'activité auto-immune contre le système nerveux. Des recherches récentes suggèrent que cette réponse immunitaire anormale commencerait dans l'intestin. En effet, des modèles expérimentaux de SEP ont été réalisés avec des souris souffrant d'encéphalomyélite auto-immune (EAE) (par injection de produits allergiques). Ces souris ont été traitées oralement avec un mélange d'antibiotiques à larges spectres (ampicilline, vancomycine, néomycine et métronidazole). L'antibiothérapie a réduit le microbiote intestinal, et cette réduction a supprimé le développement de l'encéphalomyélite. Par contre, les souris traitées par injection intrapéritonéale du mélange

d'antibiotiques n'ont montré aucune diminution significative du microbiote intestinal et l'encéphalomyélite s'est développée de manière semblable aux souris non traitées. Ainsi, cette protection contre l'encéphalomyélite a été associée à une réduction des cytokines pro-inflammatoires et une augmentation d'IL-10 et IL-13. En plus, il a été observé une population particulière de lymphocytes B chez les souris traitées : Lymphocytes B CD5+ qui attribue une protection contre l'EAE [474]. De même, dans une autre étude, il a été montré que les souris axéniques atteintes d'EAE développaient une encéphalomyélite significativement atténuée en comparaison avec des souris conventionnelles. En outre, les souris axéniques présentaient une production de cytokines pro-inflammatoires (IFN γ et IL-17) diminuée et une augmentation des cellules T régulatrices CD4+ CD25+ Foxp3 [475].

Plusieurs études réalisées chez l'Homme et notamment l'analyse du microbiome ont démontré que la composition du microbiote intestinal des personnes avec SEP diffère de celle des personnes sans SEP. Dans une étude récemment publiée en 2015, les chercheurs ont analysé les échantillons de selles de patients japonais atteints de SEP et de sujets témoins sains. 21 espèces bactériennes ont été identifiées dont la fréquence diffère chez les patients avec SEP des volontaires sains, *Streptococcus thermophilus* et *Eggerthella lenta* furent plus fréquentes chez les patients avec SEP, alors que les autres espèces sous-représentées appartiennent entre autres aux genres *Faecalibacterium*, *Anaerostipes*, *Bacteroides*, *Clostridium* et *Prevotella* [476]. Dans une autre étude, il a été noté chez les patients souffrant de SEP une réduction de la concentration des bactéries productrices de butyrate (effet anti-inflammatoire): *Butyricimonas* (phylum Bacteroidetes) et *Lachnospiraceae* (phylum des Firmicutes) par rapport aux témoins sains, et une augmentation des archées notamment l'espèce *Methanobrevibacter smithii* [476]. D'autre part, les spécialistes de la SEP se sont focalisés sur le contenu du microbiome intestinal comme l'un des responsables potentiels de l'attaque auto-immune de l'organisme contre son système nerveux. Ils ont indiqué que la SEP pourrait-être déclenchée par une toxine létale produite par certaines souches de *Clostridium perfringens* de type B et D: toxine epsilon (ETX), cet agent pathogène peut conduire à une microangiopathie provoquant une perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Vartanian et son équipe ont découvert que les patients ayant une SEP active sont 10 fois plus

immunoréactifs à l'ETX (sérum et LCR) comparé aux témoins sains. De plus, ils ont isolé chez une jeune patiente ayant une SEP active débutante une souche B de *C. perfringens* produisant l'ETX, une souche qui n'était pas connue pour infecter l'homme. Enfin il a été confirmé que l'ETX provoque une perméabilité de la BHE et se fixe à la myéline [477].

Par ailleurs, les traitements actuels (antibiothérapie, immunomodulateurs, immunosuppresseurs, cannabis Sativex*...), permettent de réduire les poussées et améliorent la qualité de vie des patients, mais ils ont une efficacité insuffisante pour lutter contre la progression de la maladie. Toutefois, de nouvelles stratégies thérapeutiques particulièrement prometteuses pourraient mieux traiter la sclérose en plaque dans les années à venir.

d. Maladie de parkinson

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative progressive résulte d'une dégénérescence des cellules des noyaux gris centraux responsables de la production de la dopamine, un neurotransmetteur essentiel à la coordination des mouvements. Ceci explique que les personnes atteintes de cette affection neurologique finissent par avoir des tremblements et des difficultés à marcher, parler ou même prendre soin d'elles-mêmes. Et elle est plus fréquente chez les hommes de plus de 60 ans. À ce jour, les scientifiques n'en connaissent toujours pas les causes précises ni le remède. Néanmoins, une suite de recherches a suggéré que la MP pouvait avoir une origine gastro-intestinale. En effet, un lien entre la maladie de Parkinson et le microbiote a été prouvé dans une nouvelle étude finlandaise. Scheperjans et son équipe ont été les premiers à montrer qu'il existait des différences entre le microbiote intestinal des patients atteints de la MP et celui des personnes en bonne santé et que ces différences pourraient être liées à la gravité des symptômes et au phénotype clinique de la maladie [478]. Les chercheurs ont analysé le microbiote fécal de 72 sujets sains et 72 patients atteints de la MP. Ils ont constaté, chez ces derniers, une réduction de 77,6% de l'abondance des bactéries de la famille des *Prevotellaceae* en comparaison à leurs homologues sains. Les chercheurs ont aussi détecté une corrélation positive et significative entre la quantité des bactéries appartenant au genre *Enterobacteriaceae* et la gravité des symptômes (instabilité posturale et difficultés à la marche), plus il y avait *Enterobacteriaceae*, plus grave étaient les symptômes [478]. Actuellement, les chercheurs sont entrain de

réexaminer les mêmes patients afin de déterminer: si ces différences sont permanentes, si le microbiote intestinal est associé à la progression de la maladie et donc à son pronostic, et si les altérations de l'écosystème bactérien existaient déjà avant l'apparition des symptômes moteurs. Ils espèrent également que leurs découvertes permettront dans les années à venir de développer de meilleures stratégies de traitement, voire de prévention en se concentrant sur le microbiote intestinal.

Une autre découverte intéressante est que la consommation de la caféine (4 tasses par jour), substance connue pour agir sur le SNC et sur le système cardiovasculaire, pourrait réduire les troubles moteurs dont souffrent les personnes atteintes de la MP. Tout d'abord, les effets du café sur l'organisme sont complexes et divers, il agit en divers points du tube digestif. S'il n'a aucun effet démontré à ce jour au niveau de l'estomac, il augmente la contractilité de la vésicule biliaire et la sécrétion de la bile, il stimule la sécrétion pancréatique riche en enzymes permettant de digérer les graisses, les protéines et les sucres, et il augmente la motricité de l'intestin grêle et du côlon, activant la défécation au moins chez certaines personnes [479]. Par ailleurs, de fortes évidences épidémiologiques ont clairement montré que les consommateurs de café ont un risque réduit de développer une MP. L'explication reste inconnue, mais la discussion tourne autour de 2 hypothèses principales. La première suggère que les malades parkinsoniens perdraient leur appétence pour le café longtemps avant l'apparition de la maladie. La seconde considère que la caféine est une substance neuroprotectrice. Et puis, une troisième hypothèse s'ajoute aux deux précédentes, selon laquelle le café change la composition du microbiote intestinal en augmentant le développement de bactéries du type *Bifidobacterium*, dans un sens qui modère l'inflammation locale. Ce qui aboutirait, en fin de compte, à un dépliage de la protéine alpha-synucléine dans les nerfs entériques, et réduirait la propagation des agrégats protéiques vers le SNC où ils induisent une neurodégénérescence [479].

e. Dépression

La dépression est une maladie psychologique grave qui se caractérise par une grande tristesse, un sentiment de désespoir (humeur dépressive), une perte de motivation et de facultés de décision, une diminution du sentiment de plaisir, des troubles alimentaires et du

sommeil, des pensées morbides et l'impression de ne pas avoir de valeur en tant qu'individu. C'est l'un des troubles psychiatriques les plus fréquents. D'après l'OMS, d'ici 2020, la dépression deviendra la 2^{ème} cause d'invalidité à travers le monde, après les troubles cardiaques. Elle peut survenir à tout âge, y compris dans l'enfance, mais elle apparaît pour la première fois le plus souvent à la fin de l'adolescence ou au début de l'âge adulte. Et les femmes y sont plus sensibles en vertu de leurs cycles hormonaux.

Comme nous l'avons déjà vu, le stress peut altérer l'intégrité du microbiote intestinal pendant plusieurs jours. Des études récentes ont suggéré que l'altération de ce microbiote induite par le stress pourrait jouer un rôle crucial dans l'induction et le développement des troubles psychologiques comme la dépression ou l'anxiété. D'où l'intérêt de cibler le microbiote pour prévenir et traiter ces désordres.

L'implication du microbiote dans les troubles de l'humeur a été démontré en premier lieu avec des souris normales séparées de leurs mères au tout début de leur vie qui développaient à l'âge adulte des réponses au stress altérées avec des niveaux élevés de l'hormone du stress, la corticostérone, ainsi qu'un comportement de type anxieux, dépressif, et étaient atteintes de dysfonction intestinale. Alors que la même expérience menée avec des souris axéniques a montré que ces rongeurs avaient également des niveaux altérés de l'hormone du stress et souffraient de dysfonction intestinale. En revanche ils ne montraient aucun signe d'anxiété ou de dépression. Ensuite, au cours d'une deuxième série d'expériences, les chercheurs ont greffé un microbiote normal et sain à des souris axéniques du groupe témoin ainsi qu'à des souris axéniques ayant été séparées de leur mère. Ils ont alors observé que les souris greffées du groupe témoin conservaient le même microbiote, tandis que celles qui avaient été séparées de leurs mères avaient développé des profils microbiens distincts, avec une activité métabolique différente, associée au développement de l'anxiété et du comportement dépressif. Ces résultats ont confirmé que les bactéries intestinales sont nécessaires à l'induction de l'anxiété et de la dépression, ainsi ils ont contribué à la compréhension de la manière dont le microbiote intestinal peut façonner le comportement de l'hôte [480]. Par ailleurs, Des études devront à l'avenir analyser à quel point les résultats observés chez les rongeurs sont extrapolables à l'Homme, et si les traitements par des probiotiques « psychobiotiques » ou par certains

régimes alimentaires pourraient se révéler utiles pour prévenir ou pallier les conséquences du stress en début de vie.

Toutefois, il existe des arguments indirects de l'implication du microbiote intestinale chez l'Homme. En effet, l'administration expérimentale de LPS chez des sujets sains provoque des niveaux augmentés d'anxiété et de dépression, une augmentation du cortisol salivaire, de l'adrénaline plasmatique et de cytokines pro-inflammatoires. Le LPS module également la mémoire émotionnelle dans cette même étude avec une relation dose-effet. Par ailleurs, une faible sécrétion d'acide gastrique a été rapportée chez les patients souffrant de troubles dépressifs majeurs. La diminution de l'acidité gastrique a été associée à la croissance réversible du microbiote au niveau de l'intestin grêle ainsi qu'à une augmentation de la perméabilité intestinale, de la malabsorption, des épisodes de diarrhée ou des constipations. En plus, il a été montré que certaines bactéries probiotiques sont capables de fabriquer et sécréter des substances utilisées dans le cerveau comme neuromédiateurs. Par exemple, certaines souches de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* produisent de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), un des principaux neurotransmetteurs inhibiteurs dont les anomalies retentissent sur les phénomènes d'anxiété et de dépression. Il a aussi été rapporté que d'autres souches sont capables de produire de la noradrénaline (*Escherichia*, *Bacillus*, et *Saccharomyces*), de la sérotonine (*Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia*, et *Enterococcus*) ou de la dopamine (*Bacillus* et *Serratia*). Tous ces neurotransmetteurs jouent un rôle majeur dans la dépression et le mécanisme d'action des agents antidépresseurs. Enfin, une étude réalisée chez l'homme a montré qu'une association de probiotiques prise pendant 30 jours permettait de réduire les niveaux de stress [390].

f. Schizophrénie

La schizophrénie est une maladie mentale caractérisée par sa symptomatologie variable d'un patient à l'autre avec plusieurs formes cliniques et modes évolutifs, son diagnostic mal défini et dont la physiopathologie reste à ce jour incomplètement élucidée. C'est un désordre cérébral qui perturbe le processus mental de la pensée et du jugement, la perception sensorielle et la capacité d'interpréter et de réagir de façon appropriée à des situations ou à des stimuli particuliers. Bien qu'elle n'affecte pas l'intelligence de la personne, la

schizophrénie occasionne souvent un certain nombre de déficits cognitifs qui perturbent notamment l'attention, la mémoire, l'apprentissage et le traitement de l'information. C'est un trouble complexe dont les répercussions sur l'individu qui en est atteint et sur sa famille sont destructrices. C'est une maladie qui représente une des plus graves maladies mentales avec une prévalence de 1% de la population mondiale selon l'INSERM. Elle se déclare le plus souvent à l'adolescence, entre 15 ans et 25 ans.

Plusieurs études ont révélé qu'une naissance prématurée par césarienne constitue un facteur de risque dans le développement de plusieurs maladies, y compris la schizophrénie. En effet, il a été montré que l'accouchement prématuré augmente le risque de développer cette psychose, et cela a été observé dans les pays où les taux de naissance par césarienne est plus de 50% notamment la Chine et le Brésil. En plus, il a été indiqué que ceux qui développent la schizophrénie et étaient nés prématurément ont tendance à montrer le retrait social prémorbide et un âge précoce au début de la maladie [482]. D'autre part, et pour la première fois, une étude allemande récente vient de démontrer le lien entre la schizophrénie, l'inflammation et la translocation bactérienne. En effet, cette étude a mené une analyse comparative des marqueurs de translocation bactérienne : CD14 soluble (sCD14) et LBP protéine de transport de LPS, des marqueurs de l'inflammation : CRP, l'IMC et les auto-anticorps, chez 141 patients souffrant de schizophrénie et 75 souffrant de troubles bipolaires, comparés à 78 contrôles sains. Une séropositivité pour le sCD14 était associée à un risque 3,1 fois plus élevé de schizophrénie alors que le niveau de LBP corrélait avec l'IMC dans la schizophrénie et le taux de CRP est augmenté dans le sang des patients schizophrènes, ces résultats n'étaient pas retrouvés chez les patients bipolaires. Les auteurs ont conclu que les profils de marqueurs de translocation bactérienne produisaient des résultats discordants et complexes qui pouvaient refléter les perturbations d'un système immunitaire déséquilibré chez les patients souffrant de schizophrénie ou de trouble bipolaire [481].

L'un des champs majeurs de recherche concernant le rôle du microbiote en psychiatrie pourrait être la prédiction de la prise de poids sous psychotropes. Un modèle chez le rat a révélé que l'administration d'olanzapine (l'un des antipsychotiques qui induit le plus de prise de poids) altérerait le microbiote intestinal des rats traités. Toutefois, l'implication du

microbiote intestinal dans la prise de poids sous antipsychotiques n'a pas été établie à ce jour chez l'homme. D'autres études sont nécessaires pour déterminer le rôle exact du microbiote dans la réponse aux antipsychotiques [481].

E. Dysbiose et pathologies rhumatismales

D'origine métabolique ou dégénérative, les maladies rhumatismales regroupent différentes maladies qui touchent les articulations, le tissu conjonctif, les os, les vaisseaux sanguins et les muscles. Elles affectent particulièrement la fonction du système locomoteur engendrant des limitations aux mouvements et des douleurs. Il existe plus d'une centaine de pathologies considérées comme des maladies rhumatismales dont les plus fréquemment rencontrées dans la population générale, tous âges confondus, sont l'arthrose, les douleurs lombaires, l'ostéoporose, la fibromyalgie et l'arthrite rhumatoïde.

La première description du possible rôle du microbiote intestinal dans la pathologie arthritique a été menée chez des rats axéniques qui ont développé une inflammation sévère avec une incidence de 100% après une injection soit de protéines de *Mycobacterium bovis* ou de peptidoglycane de *Staphylococcus epidermidis*. Alors chez les rats contrôles, normalement colonisés, l'atteinte était présente que chez 20% des rats avec l'injection de *Mycobacterium bovis* et absente chez les rats avec l'injection de *Staphylococcus epidermidis*. Cette découverte suggère que, bien qu'un microbiote ne soit pas nécessaire pour le développement d'arthrite, sa présence a un effet atténuateur potentiel par la modulation de la réaction immunitaire. Une autre observation importante impliquant le microbiote intestinal dans un modèle différent d'arthrite: la spondylarthrite du rat (SpAr), a montré que des rats transgéniques HLA-B27 axéniques ne développaient pas d'atteinte intestinale ou articulaire. Par ailleurs, ces inflammations se manifestent à nouveau lors de la reconstitution d'un microbiote intestinal. Étonnamment, les lésions inflammatoires de la peau et des organes génitaux semblent échapper à l'influence du microbiote. Le rôle joué par les bactéries sur le déclenchement de la SpAr a été étudié par Rath et al. en 1996 [483]. Aucune spécificité d'espèce absolue n'a été observée, cependant la colonisation par des bactéries anaérobies du genre *Bacteroides*, spécifiquement *B. vulgatus*, a suffi à induire une inflammation articulaire et intestinale marquée. Ces atteintes semblent résulter d'une réaction inflammatoire anormale de la

muqueuse intestinale, qui prendrait son origine au niveau du caecum et se propagerait à tout l'intestin et aux articulations. Chez l'homme, la physiopathologie de l'Arthrite réactionnelle (réaction articulaire inflammatoire aseptique à une infection bactérienne survenue quelques jours ou semaines plus tôt) présente des similitudes avec celle de la SpAr. En effet, la destruction de l'épithélium de la muqueuse digestive par des bactéries pathogènes entéro-invasives (*Salmonella*, *Yersinia*, *Shigella*, *Campylobacteria* ou des eubactéries comme *Chlamydia trachomatis* et *Chlamydia pneumoniae*), exposant la *lamina propria* aux composants du microbiote induit une forte inflammation.

Par ailleurs, des altérations dans la composition du microbiote intestinal ont été rapportées chez des patients atteints d'arthrite rhumatoïde. En effet, une étude récente a révélé que 75% des patients avec une arthrite rhumatoïde d'apparition récente non traitée avaient une expansion de *Prevotella copri* responsable de la réaction pro-inflammatoire, les patients ayant une forte prévalence de *P.copri* ont montré des réductions marquées de cluster clostridien (XIVa), de *Lachnospiraceae*, de *Bacteroides* et d'autres espèces considérées comme bénéfiques. En revanche, ce profil n'a été observé que chez 11,5% des patients atteints d'arthrite rhumatoïde de longue date, chez 37,5% des personnes souffrant d'arthrite psoriasique, et 21,4% des témoins [484].

En outre, des études récentes ont désormais suggéré que le microbiote peut également contribuer à deux autres situations arthritiques, la spondylarthrite ankylosante (SA) et l'arthrite avec enthésite chez l'enfant. Les patients atteints de SA avaient un microbiote intestinal avec une signature microbienne discrète : plus diversifié et une plus grande abondance des bactéries intestinales avec des taux élevés que des témoins sains de *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Rikenellaceae*, *Porphyromonadaceae* et *Bacteroidaceae* [485,486].

Au regard de ces données préliminaires, on peut spéculer que des patients atteints de pathologies rhumatismales sont porteurs d'une dysbiose qui peut déclencher une réaction auto-immune chez des individus porteurs de facteurs génétiques. Cependant, des études complémentaires doivent être réalisées pour définir les entérotypes protecteurs des

entérotypes inducteurs, prévenir la maladie et améliorer le traitement soit par l'alimentation, une antibiothérapie ciblée ou par la mise à disposition des bonnes bactéries qui pourraient déplacer *Prevotella*, qui semble être associé au développement de l'arthrite rhumatoïde. Pour l'instant, le traitement est réduit à l'utilisation de la sulfasalazine, de l'hydroxychloroquine et du méthotrexate [487].

F. Dysbiose et cancers digestifs

Le cancer est une maladie de premier plan dans les pays industrialisés et son incidence est en forte augmentation dans les pays en développement en raison de vieillissement démographique, des régimes alimentaires « occidentalisés », de l'exposition à des agents cancérigènes chimiques et de l'inactivité des personnes. Il est important de rappeler qu'il existe un microbiote différent pour chaque organe et que son impact sur l'inflammation et la cancérogénèse pourrait être organe-spécifique. Comme nous l'avons évoqué précédemment, il existe également une grande variabilité dans la composition et la densité microbienne au sein d'un même organe. Cette caractéristique pourrait expliquer la différence d'apparition de pathologies, comme le cancer, entre les différentes parties composant cet organe. Nous pouvons citer par exemple, une fréquence plus importante chez l'homme de cancers dans le gros intestin, où la densité microbienne est plus importante, que dans l'intestin grêle. Nous devons également souligner que certains organes, comme le foie, ne possèdent pas de microbiote propre, mais peuvent être exposés à des motifs moléculaires associés aux microorganismes ou MAMPs et aux métabolites microbiens, via la veine porte, lien anatomique avec l'intestin [488,489].

a. La relation entre le microbiote intestinal et le cancer

De nombreuses études, sur des animaux axéniques, mettent en évidence le rôle pro-tumoral du microbiote dans différents modèles de cancers murins induits génétiquement ou par l'administration d'agents chimiques. Il a été montré que la déplétion du microbiote bactérien par des traitements antibiotiques réduit le développement de cancers colorectaux et d'hépatocarcinomes chez la souris [489,490]. Il est intéressant de noter que chez l'homme, l'utilisation d'antibiotiques pour éliminer des pathogènes spécifiques a les mêmes effets. À titre

d'exemple, l'éradication de la bactérie *Helicobacter Pylori*, par des traitements associant l'amoxicilline et l'oméprazole, diminue le risque de développer un cancer gastrique chez l'Homme [491,492].

Bien que ces études montrent un rôle pro-tumoral du microbiote bactérien, paradoxalement d'autres travaux décrivent un effet anti-tumoral de ces microorganismes. Les premières observations ont dévoilé des effets anti-tumoraux chez des patients atteints de sarcome, après des infections bactériennes ou après l'injection de bactéries tuées par la chaleur (la toxine de Coley). Ces résultats ont permis d'impliquer des éléments bactériens spécifiques tels que les agonistes des TLR et des NLR dans la réponse anti-tumorale. Enfin, ces travaux ont conduit à la théorie qu'une forte activation de l'immunité innée peut transformer la tolérance immunitaire en une réponse immunitaire anti-tumorale [493]. Toutefois, le microbiote bactérien est rarement capable d'activer une forte réponse immunitaire de cette envergure et induit une inflammation chronique de bas grade à l'origine de multiples pathologies.

De façon général, la tumorigenèse peut être influencée par le contenu microbien de notre intestin de deux façons différentes : soit par l'action d'un type de pathogène spécifique, soit par une dysbiose.

❖ La carcinogénèse induite par des pathogènes spécifiques

Le meilleur exemple de la carcinogénèse induite par des bactéries est le cancer gastrique. L'infection par *H.pylori*, peut conduire à la mise en place de cancers gastriques de façon séquentielle en passant par les stades de gastrite, d'ulcère gastrique, d'atrophie et enfin de cancer gastrique [494]. *H.pylori* est aujourd'hui classée comme cancérigène par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC). Avec une prévalence mondiale d'environ 50%, et une apparition de cancer gastrique chez 1 à 3% des personnes infectées de façon chronique, cette infection contribue largement à la mortalité globale par cancer [495]. Le cancer gastrique induit par cette bactérie, bien qu'identifié comme un agent cancérigène, est favorisé par la présence d'un microbiote complexe. À l'inverse de cette fonction promotrice du cancer gastrique, cette infection diminue le risque d'adénocarcinome œsophagien chez l'homme [496], mettant l'accent sur les effets organe-spécifiques de la flore bactérienne dans la carcinogénèse. D'autres pathogènes sont également associés à l'émergence tumorale telle que

le développement de cancers de la vésicule biliaire, associé à une infection chronique par *Salmonella enterica*, ou de maltomes (dit Lymphome de MALT), caractérisés par une expansion des lymphocytes B et des Lymphocytes T Helpers en réponse à une infection chronique par *H. Pylori*. De même, les infections par *Campylobacter jejuni*, *Borrelia burgdorferi* et *Chlamydia psittaci* sont associées à la mise en place de certains lymphomes particulièrement de l'intestin grêle. Par ailleurs, l'éradication de ces bactéries par un traitement antibiotique entraîne une régression globale de la tumorigénèse [496].

❖ La carcinogénèse induite par une dysbiose bactérienne

Plus de 1 million de nouveaux cas de cancer colorectal (CCR) sont diagnostiqués chaque année et cette pathologie est la 3^{ème} plus commune des cancers en termes de fréquence. Les symptômes sont souvent absents dans les premiers temps de la maladie, ce qui retarde d'autant plus le diagnostic et donc la prise en charge thérapeutique. Un nombre croissant d'études chez les patients et les souris lient le microbiote à la cancérogénèse colorectale. Contrairement à la carcinogénèse gastrique, l'effet tumorigénique du microbiote dans le cancer colorectal semble être causé par une altération de l'interaction hôte-microbiote ou par une dysbiose. Par conséquent, l'état d'axénie et le traitement aux antibiotiques à large spectre ont conduit à une réduction significative du nombre de tumeurs dans des modèles expérimentaux chimiques et génétiques de cancérogénèse colorectale [496]. Comme nous l'avons évoqué au préalable, le foie ne contient pas de microbiote (encore décrit) et offre un excellent exemple de cancer promu par le microbiote dysbiotique à travers des mécanismes de longues distances. Les bactéries intestinales peuvent favoriser le cancer du foie grâce aux MAMPS pro-inflammatoires et aux métabolites bactériens, atteignant le foie via la veine porte [489,497]. Ainsi, ces molécules sont retrouvées augmentées dans les maladies du foie, comme la cirrhose, la fibrose et le carcinome hépatocellulaire [489,498,499]. L'état d'axénie, ainsi que le traitement par des antibiotiques réduisent par conséquent l'inflammation hépatique, la fibrose et le développement du carcinome hépatocellulaire (CHC) chez la souris. De plus, le traitement avec des MAMPS inflammatoires, le lipopolysaccharide (LPS), un agoniste de TLR4, augmente le développement de CHC [489]. Il en est de même pour le pancréas qui ne

possède pas de microbiote connu à ce jour. Des études récentes suggèrent que les MAMPS inflammatoires telles que le LPS favorisent le cancer du pancréas [500].

b. Le microbiote intestinal dans le cancer colorectal CRC

Au cours des dernières années, notre compréhension des mécanismes de la cancérogénèse colorectale s'est considérablement élargie. Ainsi, l'inflammation de la muqueuse intestinale, l'hygiène de vie et, l'alimentation ont été désignés comme des acteurs du développement tumoral intestinal. Toutefois, le cancer est une maladie génétique, associée à de nombreuses mutations. Les facteurs impliqués dans son développement sont considérés comme des agents promoteurs de stress génotoxiques dans l'environnement intestinal, à l'origine de ces altérations génétiques.

Le microbiote intestinal a sa part de responsabilité dans la survenue de cancers digestifs et particulièrement le cancer colorectal. De nombreuses études ont montré un lien entre l'infection à *Streptococcus bovis* renommé *S.gallolyticus*, et à *Clostridium septicum* et le CRC. L'analyse des selles de 60 patients atteints de cancer soit rectal (n=16) soit du côlon (n=44) et 119 individus sains montre une augmentation dans le groupe *Bacteroides/Prevotella* chez le groupe cancer par rapport au groupe normal. Par contre, aucun lien n'a pu être relevé entre la localisation, le stade de la tumeur et le niveau élevé du groupe *Bacteroides/Prevotella* [496]. Par ailleurs, de récents travaux indiquent des différences lors de la comparaison du microbiome d'une muqueuse cancérigène et d'une muqueuse adjacente non cancérigène à travers 6 patients porteurs d'adénocarcinome du côlon. Sur le tissu cancéreux il n'a pas été observé de bactéries pathogènes mais 4 groupes de bactéries commensales étaient surreprésentés *Coriobacteridae* en particulier les genres *Slackia* et *Colinsella*, *Roseburia*, *Fusobacterium* et *Faecalibacterium*. Ces trois dernières espèces sont les principales bactéries productrices de butyrate. Cet AGCC possède un pouvoir anti-inflammatoire, ainsi que *Faecalibacterium* en sécrétant des facteurs qui bloquent l'activation des NF- κ B et la production d'IL-8. À l'opposé, sur les tissus sains (adjacents aux tissus cancéreux), les entérobactéries sont fortement représentées particulièrement *Citobacter*, *Shigella*, *Cronobacter*, *Kluyvera*, *Serratia* et *Salmonella spp.* Ces entérobactéries sont soupçonnées de

posséder des pouvoirs cancéreux. Les auteurs suspectent que la présence de ces entérobactéries jouerait un rôle dans l'extension des lésions cancéreuses au niveau des tissus sains. Puis, quand la muqueuse est devenue cancéreuse, les entérobactéries sont remplacées par des bactéries avec propriétés anti-inflammatoires. Cependant cette théorie intéressante devra être validée sur un échantillonnage plus important [496].

Des récentes publications ont mis en évidence certains mécanismes sur le rôle du microbiote dans l'évolution de la pathologie (fig.46). D'une part, le microbiote peut influencer la tumorigenèse colique de façon indirecte, en induisant une inflammation chronique. L'inflammation est une stratégie de défense contre le monde microbien, mais est également connue comme une caractéristique du cancer. Il a été montré que l'inflammation intestinale, dans un modèle murin de colite (souris déficientes en IL-10), modifie la communauté microbienne de l'intestin, favorise la mise en place d'un environnement bénéfique à l'expansion des souches bactériennes génotoxiques et promeut l'apparition de carcinomes invasifs [501]. D'ailleurs, certaines souches commensales de *Bacteroides fragilis* pouvant coloniser le tractus intestinal de façon asymptomatique (chez 4 à 30 % des individus) sont toxigéniques, produisant l'entérotoxine «BFT». BFT est une métalloprotéase, qui induit indirectement le clivage de l'E-cadherine, avec pour conséquence l'augmentation de la perméabilité et l'exposition de la sous-muqueuse aux antigènes bactériens de la lumière intestinale, contribuant ainsi à une inflammation chronique. Le clivage de l'E-cadhérine stimule aussi la voie β -caténine/Wnt et l'augmentation de la prolifération cellulaire, ainsi que la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Ces mêmes travaux indiquent que la perte de l'activité génotoxique de ces bactéries est à l'origine d'une forte diminution de la carcinogénèse colique sans altérer le statut inflammatoire [502]. Ces résultats soutiennent l'idée que le cancer du côlon peut être provoqué par des microbes particuliers se développant préférentiellement dans un milieu inflammatoire.

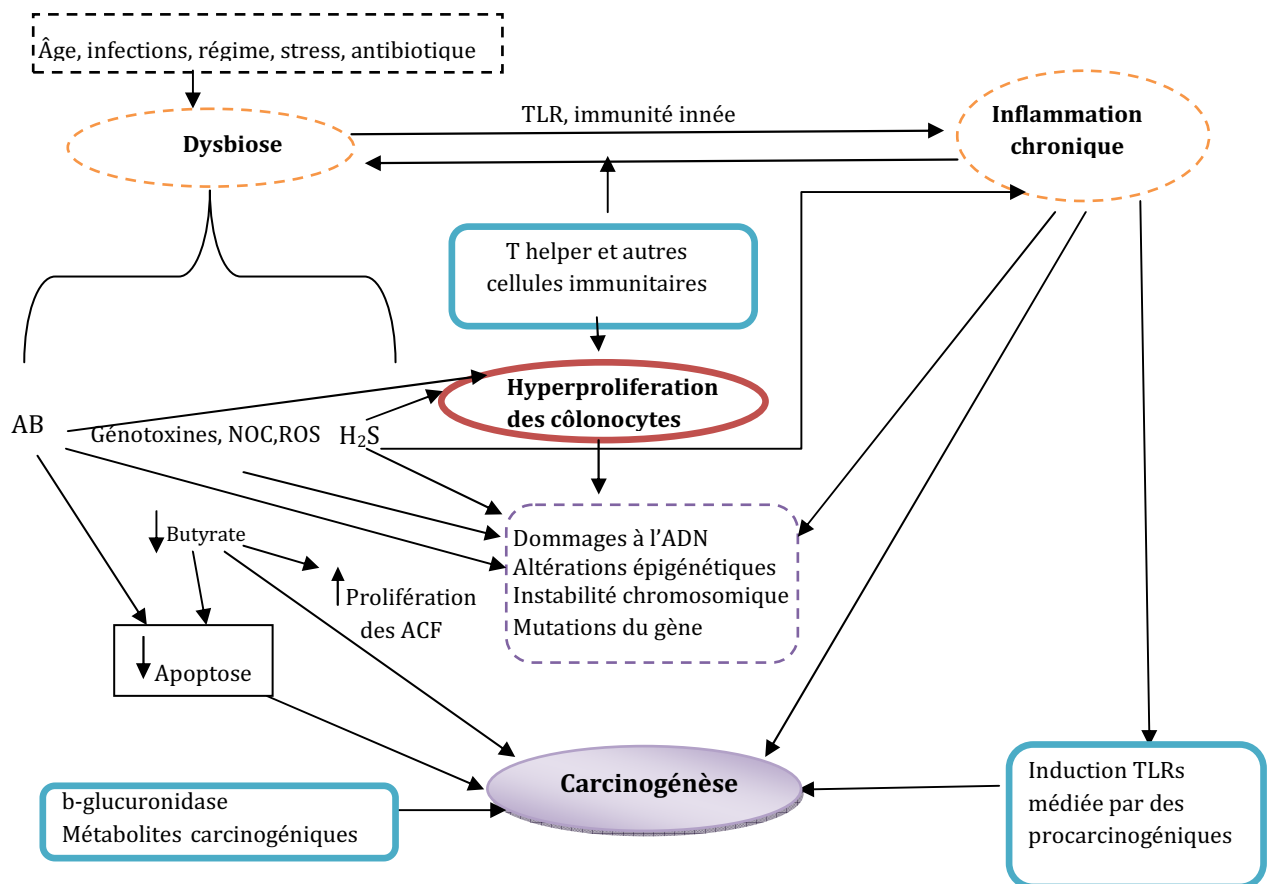


Figure N°46: Mécanismes d'induction de la carcinogénèse par le microbiote intestinal.

AB: Acides biliaires, ACF : Aberrant crypt focus, NOC: Composés N-nitrosés, H₂S: sulfure d'hydrogène, ROS : espèces réactives de l'oxygène.

D'autre part, le microbiote intestinal peut également avoir un rôle oncogénique direct. L'un des mécanismes impactant directement sur l'initiation tumorale intestinale est la libération de composés génotoxiques, induisant des mutations dans les cellules exposées. Il a récemment été montré que la cytolethal distending toxin ou toxine CDT et la colibactine, les deux produites par des souches d'*E.coli* et d'autres bactéries à gram négatif, induisent des dommages à l'ADN et conduisent à la survenue du CRC. La colibactine induit des cassures double-brin de l'ADN, un événement propice à l'instabilité génomique pouvant conduire à la transformation cellulaire et au développement de CRC [496,501]. Ainsi, la CDT favorise les cassures de l'ADN grâce à son activité de DNase, faisant d'elle une génotoxine. Par ailleurs, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) dont font partie les radicaux libres et l'oxygène

singulet, jouent un rôle important dans l'altération du matériel génétique des cellules, elles peuvent être directement produites par le microbiote intestinal. On peut citer l'exemple de la production de radicaux hydroxyles par *Enterococcus faecalis* qui, a été démontrée à la fois *in vitro* et *in vivo* [503]. Cette bactérie à gram positif est capable de produire de grandes quantités d'O₂⁻, formant des radicaux hydroxyles et de l'H₂O₂, qui induisent dans les cellules intestinales un stress oxydatif ainsi que la surexpression de la cyclooxygénase-2, tous les deux impliqués dans la carcinogenèse. De plus, l'effet néfaste des ROS produites par *E.faecalis* pourrait induire des lésions à l'ADN des cellules, ainsi qu'une instabilité chromosomique et contribuer au développement de cancers intestinaux, indépendamment de la mise en place d'une inflammation [504]. De même notre alimentation peut influencer le métabolisme microbien et par conséquent participer au développement de CRC. Une alimentation comportant beaucoup de viande rouge, d'aliments raffinés ou transformés, de « mauvais gras », mais pauvre en fibre accroît le risque d'avoir cette maladie [496]. Ainsi, une consommation régulière d'alcool en quantité excessive accroît le risque pour la mise en place d'un CRC. Cette relation est de type dose-réponse avec une augmentation significative du risque de CCR de 10 % pour 10 g/j d'alcool, 11 % chez les hommes et 7 % chez les femmes (non significative). L'augmentation est significative pour les cancers du côlon et du rectum. L'alcool ingéré par voie orale atteint, par la circulation sanguine, le côlon. Là, les commensaux coliques telles qu'*E.Coli*, *Klebsiella oxytoca* et *Pseudomonas aeruginosa*, catalysent la fermentation de l'éthanol, en exprimant l'alcool déshydrogénase, une oxydoréductase. Ce mécanisme conduit à la production d'acétaldéhyde ou éthanal qui, est ensuite transformé par l'acétaldéhyde déshydrogénase (ALDH2) en acétate mais lors d'une prise importante d'alcool ou en présence d'un défaut de production d'ALDH2. L'alcool peut surtout altérer le métabolisme de l'acide folique et contribuer ainsi indirectement à la mutagenèse de l'ADN. Un faible niveau de folate pourrait favoriser l'initiation et la progression du CRC [505].

G. Autres pathologies

Au niveau cardiovasculaire, l'utilisation d'animaux axéniques en comparaison à l'étude d'animaux SPF a montré plusieurs défauts dans le système cardio-vasculaire [402]. Il a été

montré chez des patients souffrant de défaillance cardiaque chronique une augmentation de la perméabilité intestinale et une présence accrue de biofilms bactériens [506]. La possible contribution du microbiote buccal et intestinal dans la formation des plaques d'athérome a par ailleurs été suggérée par l'équipe de Fredrik Bäckhed, qui a retrouvé dans ces plaques des bactéries buccales et intestinales, avec de plus une corrélation entre certains membres du microbiote intestinal (famille *Lachnospiraceae*) et des marqueurs d'athérosclérose (cholestérol et LDL-cholestérol) [507]. De plus, les complications de ces désordres cardiovasculaires sont fréquemment corrélées à une augmentation de triméthylamine N-oxyde produit par le métabolisme du microbiote. Ainsi, une endotoxémie au LPS élevée semble être liée à la survenue de problèmes vasculaires [439]. Par ailleurs, des infections à *Chlamydia* ou *H. pylori*, augmentent les risques de ces pathologies [508,509].

Au niveau systémique, une des premières maladies génétiques où la dysbiose a été décrite est la fièvre méditerranéenne familiale (FMF). La FMF est causée par des mutations au niveau du gène MEVF, qui code pour la pyrine, un important régulateur de l'immunité innée. Une différence a été observée entre les patients atteints de la forme active, les patients en rémission et les sujets sains. La diversité microbienne était sensiblement réduite dans la forme active. Par contre, et étrangement, la diversité du microbiote était plus importante chez les patients en rémission que chez les sujets sains. L'auteur explique ce phénomène par une recolonisation différente du microbiote chez l'adulte sain comparé à l'adulte atteint d'inflammation induite par la FMF [45]. Autre pathologie systémique, le lupus, a été aussi reliée au microbiote intestinal. Dans une étude récente, les chercheurs ont montré que les modèles murins de lupus avaient des taux plus élevés de *Lachnospiraceae* (un type de *Clostridium*), et moins de *Lactobacillus* que les souris témoins. Ainsi Ils ont comparé les souris mâles et femelles, et ont constaté que des différences étaient présentes que chez les femmes. Ces résultats suggèrent que les bactéries de l'intestin peuvent contribuer à un lupus, une maladie qui est neuf fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme [510].

De même, dans le syndrome de fatigue chronique (SFC), pathologie caractérisée par une fatigue persistante, invalidante et non expliquée et qui est accentuée par les efforts physiques et mentaux, plusieurs investigations ont montré un état de dysbiose avec diminution du taux

de *Bifidobacteria* et augmentation du taux de bactéries aérobies. En approfondissant la recherche sur les bactéries aérobies, il a été montré que chez les sujets atteints de SFC, le pourcentage d'*E.coli* dans la flore aérobie était de 49% alors qu'il est de 92,3% chez les sujets sains. Cette diminution d'*E.coli* est contrecarrée par la présence plus importante d'*Enterococcus* et de *Streptococcus*, espèces bactériennes produisant de l'acide lactique. Enfin, il existe une corrélation positive entre le taux d'*Enterococcus* et les déficits neurologiques et cognitifs (pertes de mémoires, confusions, nervosité...) [511].

Certaines pathologies systémiques sont dues à des infections bénignes gastro-intestinales et qui pour des raisons encore mal connues, ont des retentissements extra-intestinaux. C'est le cas du syndrome de Guillain-Barré, maladie auto-immune post infectieuse et souvent associée à une gastro-entérite à *Campylobacter jejuni* [512]. Un possible rôle d'*Yersinia enterocolitica* dans le développement des pathologies thyroïdiennes auto-immunes a aussi été décrit, via un mimétisme moléculaire entre l'OMP (Outer Membrane Protein) de *Y. enterocolitica* et le récepteur thyroïdien [513]. Une récente étude prospective se basant sur la sérologie anti-OMP d'*Y. enterocolitica* n'a pas pu établir de relation entre l'infection bactérienne et la pathologie thyroïdienne [514], cependant la majorité des pathologies auto-immunes thyroïdiennes étant la conséquence d'une réaction immunitaire cellulaire, d'autres études devront être menées pour affirmer une relation entre la dysbiose et les troubles thyroïdiens.

Par ailleurs, le microbiote digestif intervient dans l'absorption du fer. L'*H.pylori* a été impliqué dans plusieurs études récentes, comme une cause de l'anémie ferriprive réfractaire à un traitement martial par voie orale. La correction de l'anémie réfractaire après éradication de l'*H.pylori* fournit des preuves solides pour une relation de cause à effet. Ainsi, il a été montré dans une étude du microbiote intestinal qu'il existe une diminution des lactobacilles chez les femmes indiennes qui présentent une anémie ferriprive. Les lactobacilles inhiberaient les phytates alimentaires des céréales qui bloquent l'absorption de fer. Ils permettraient aussi la formation des AGCC qui favoriseraient l'absorption du fer au niveau du côlon grâce à la ferroportine [515].

D'autre part, l'anorexie mentale et la boulimie, ces deux dérèglements du comportement alimentaire, ont longtemps été considérées comme des symptômes d'un déséquilibre d'ordre psychologique. Aujourd'hui, les chercheurs ont pu reconstituer un scénario pour l'origine microbienne des troubles alimentaires. Or, sous l'effet d'un stress psychologique (dû à une situation familiale difficile par exemple), des bactéries du microbiote comme *Escherichia Coli* produiraient davantage une protéine ClpB qui, mime la mélanotropine (l'hormone de satiété) qui, en passant dans le sang, ferait chuter l'appétit. Les recherches menées sur des souris en laboratoire puis confirmées par des tests sanguins effectués sur soixante patients atteints de troubles alimentaires ont indiqué que les taux d'anticorps dirigés contre la ClpB et la mélanotropine sont plus élevés chez ces patients [516].

**MODULATIONS
THÉRAPEUTIQUES**

Comme déjà expliqué, le rôle du microbiote digestif est aujourd'hui reconnu ou suspecté dans de nombreuses maladies digestives et extra-digestives et l'intérêt croissant pour ses effets sur la santé humaine a conduit à essayer de moduler sa composition et/ou son activité en vue d'influencer positivement la santé de l'hôte par des mesures nutritionnelles ou avec des suppléments alimentaires de probiotiques, prébiotiques ou les deux « symbiotiques ». Par ailleurs, la transplantation de microbiote fécal, une approche thérapeutique non pharmacologique ancienne remise au goût du jour est proposée comme nouvel outil thérapeutique dans plusieurs maladies.

A. La nutrithérapie :

« Nous sommes ce que nous mangeons », une affirmation qui nous vient d'Hippocrate, celui que l'on considère le père de la médecine. En réalité, nos habitudes alimentaires dévoilent souvent le plus profond de nous-mêmes. Il existe aussi un lien étroit entre l'alimentation, le microbiote intestinal et la santé digestive, comme nous l'avons vu précédemment, l'interaction entre le régime alimentaire et le microbiote intestinal est mutuel : tandis que le microbiote agit sur les nutriments digérés, l'alimentation à l'inverse a un impact majeur sur le système microbien intestinal. Ses activités métaboliques dépendent largement de la quantité et de la proportion de protéines et de glucides non digestibles atteignant les intestins. L'alimentation est donc un élément clé pour préserver la santé gastro-intestinale car, en mangeant et en digérant, nous alimentons également notre microbiote intestinal et nous influençons donc sa diversité et sa composition. Si cet équilibre est perturbé, cela peut entraîner un certain nombre de troubles, y compris des troubles métaboliques, des affections abdominales inflammatoires et d'autres maladies à médiation immune. Un régime alimentaire équilibré est bénéfique car il soutient la formation et la conservation d'une communauté microbienne bien composée dans laquelle les différentes espèces de bactéries vivent dans un système de « contrôles et équilibres ».

La nutrithérapie est une discipline thérapeutique de choix à adopter en présence de certains états pathologiques, puisqu'elle fait intervenir les principes d'une alimentation saine, variée, naturelle et complète, combinés dans certains cas à des suppléments alimentaires visant à

rétablir l'équilibre physiologique et biochimique des différentes fonctions de l'organisme. Les antioxydants alimentaires tels que le cacao, le café, le thé vert, les myrtilles et le curcumin ont été associés dans des études épidémiologiques à une croissance de *Lactobacille* et de *Bifidobactéria*. De part sa haute teneur en flavonoïdes, la consommation de jus d'orange frais associé à un repas riche en graisses et en sucres réduit significativement l'élévation du taux d'endotoxines circulantes en comparaison de l'eau et de l'eau sucrée. Ainsi, la consommation à long terme de miel (un aliment utilisé depuis l'âge Paléolithique) annule les effets du LPS et est associée avec l'augmentation des espèces de *Lactobacille* et *Bifidobacterium* dans le microbiote intestinal des animaux étudiés. La consommation de miel est également associée à une diminution des comportements anxieux et du déclin cognitif en comparaison à un régime sans sucre ou riche en sucrose [481]. Par ailleurs, il a été montré que la consommation de fruits, de légumes, de produits céréaliers complets et de fibres est associée à une réduction du risque de CCR avec un niveau de preuve convaincant [505]. En effet, la consommation de céréales complètes est communément associée à des effets bénéfiques pour la santé. La couche extérieure des céréales contient des fibres et des composés bioactifs « polyphénols » qui pourraient agir sur le microbiote intestinal. Les scientifiques ont constaté une plus grande diversité du microbiote et une modulation de plusieurs familles bactériennes avec l'apport de seigle complet : le ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* diminue parallèlement à une augmentation des proportions de *Clostridium* cluster IV et XIV, familles comportant des espèces bactériennes productrices de butyrate [517]. D'autres études ont confirmé qu'il existe des constituants de l'alimentation pourraient être intéressants dans la gestion de l'écologie microbienne en relation avec l'adiposité et les pathologies associées, c'est le cas des fibres alimentaires ou prébiotiques alimentaires dont la consommation produit un changement rapide et profond en faveur des bactéries de type *Bifidobacterium* capables de réguler l'appétit et réduire les risques d'obésité, de diabète et de trouble cardiovasculaires [239].

a. Notion de prébiotiques :

Les prébiotiques sont définis comme des ingrédients alimentaires indigestibles par les enzymes humaines qui, quand ils sont consommés en quantité suffisante, stimulent sélectivement la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de bactéries présentes au

niveau colique et susceptible d'améliorer la santé de l'hôte. Les prébiotiques appartiennent à la grande famille des fibres alimentaires et plus particulièrement à celles des fibres solubles. Il s'agit d'hydrates de carbones à chaînes courtes qui arrivent ainsi inchangés dans le colon et qui vont être fermentés par les bactéries coliques. Les prébiotiques quantitativement les plus importants présents naturellement dans nos aliments sont les fructo-oligosaccharides (FOS), les galacto-oligosaccharides (GOS), les xylooligosaccharides et les fructanes comme l'inuline. Ils représentent un important réservoir en hydrates de carbone dans beaucoup de plantes comme par exemple dans certains légumes (poireau, oignon, ail, artichaut, chicorée, asperge, pissenlit, topinambour), fruits (banane, pruneaux, figue) et céréales (seigle, blé) [518].

Les bénéfices physiologiques des prébiotiques sont nombreux et complémentaires des effets des probiotiques. Tout d'abord, ils ont une activité bifidogène, c'est-à-dire qu'ils stimulent la prolifération des bactéries lactiques, de manière sélective la biomasse en bifidobactéries. Ces bactéries fermentent les fibres prébiotiques et les réduisent à des AGCC qui ont démontré une activité anti-inflammatoire dans l'IBS. La production importante de ces AGCC acidifie le contenu du côlon, défavorise la croissance des germes indésirables ou potentiellement pathogènes d'une part ; d'autre part, elle entraîne une meilleure solubilité des minéraux et des oligoéléments comme le calcium, le magnésium et le fer, cet effet a été montré dans un modèle animal, où la supplémentation des procs avec 4% d'inuline a augmenté l'expression de la ferroportine favorisant ainsi l'absorption du fer. Par ailleurs, la présence de fer dans l'alimentation favorise la présence de *Bacteroides spp* et de *Clostridium cluster IV*. Et indirectement ceci augmente la présence de butyrate qui joue un rôle important dans l'équilibration des microbiotes et dans la prévention du cancer colique [515]. Ainsi, la production d'AGCC aboutit à une augmentation de la masse des selles, du fait de la masse bactérienne accrue et de l'eau maintenue par les fibres. Les selles sont alors plus fréquentes et plus molles, et à une diminution du temps de transit [519]. Par ailleurs, les prébiotiques empêchent l'adhérence des bactéries pathogènes en renforçant la barrière épithéliale. Des études ont prouvé que l'introduction de FOS chez la souris a une influence sur les gènes MUC, et permet ainsi de renforcer le mucus [520]. Ainsi, la consommation de polydextrose

diminue le taux de bactéries du genre *Bacteroides* au niveau colique, pour favoriser la prolifération des lactobacilles et des bifidobactéries.

Les prébiotiques ont également montré des effets intéressants sur le métabolisme. Des études ont indiqué que les FOS exercent un effet bénéfique sur notre taux de lipides, plus particulièrement le taux de cholestérol dans le sang. Le propionate va inhiber l'HMG-CoA réductase au niveau du foie, ce qui va par la suite diminuer le taux du cholestérol. Les prébiotiques peuvent aussi créer une barrière augmentant la viscosité au niveau intestinal. Le cholestérol et les acides biliaires seront donc moins absorbés. Ainsi, l'inuline peut diminuer le pH colique, entraînant une diminution d'absorption des lipides [521]. Par ailleurs, il a été montré que les prébiotiques réduisent le statut inflammatoire induit par un régime gras. Les bactéries du genre *Bifidobacterium* et du genre *Lactobacillus*, sont connus pour être favorisées en réponse à l'administration de certains prébiotiques. Ainsi, il a été constaté que les populations d'*Akkermansia muciniphila* sont augmentées d'un facteur 100 après l'ingestion de ces prébiotiques. Des données expérimentales montrent que l'administration de fructanes, arabinoxylanes, glucanes permet de diminuer l'adiposité, la stéatose, la glycémie et l'endotoxémie dans différents modèles murins d'obésité [415,237]. Une étude d'intervention menée récemment chez des patientes obèses révèle des changements très sélectifs de composition et d'activité métabolique du microbiote après administration de prébiotiques de type fructanes versus placebo (maltodextrine) durant trois mois, ce qui permet d'amenuiser l'endotoxémie et la masse grasse, indépendamment d'un changement significatif du poids corporel [522]. Une autre étude a montré le lien entre la diminution de l'obésité et la consommation de fibres. Sur une période de 20 mois, chaque augmentation de 1 gramme dans la consommation de fibres totales par jour, permettait une perte de poids de 0,25Kg [523]. L'administration d'oligofructoses chez l'homme améliore la tolérance au glucose et augmente la satiété. Or, la fermentation de ces prébiotiques permet de stimuler la production de GLP-1 hormone régulatrice de l'appétit mais également capable de stimuler la sécrétion d'insuline par le pancréas et d'exercer un effet favorable sur la réponse à l'insuline [240]. Par ailleurs, l'utilisation des prébiotiques dans l'alimentation est importante car ils améliorent les caractères organoleptiques des aliments (goûts, textures) [521].

D'autre part, certains prébiotiques peuvent exercer un rôle important dans l'immunomodulation. Des études ont déjà démontré que l'ingestion d'inuline augmente le pouvoir phagocytaire des macrophages et la production d'IgA sécrétoires. De plus, des études menées chez les personnes âgées ont montré que la consommation de 5,5 grammes par jour de GOS avait d'importants effets sur le système immunitaire. Or, il a été noté une augmentation de la production l'IL-10 et les cellules NK, et une forte diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-6 et TNF- α). Une autre étude menée chez 259 enfants présentant un risque d'atopie a confirmé le rôle immunomodulateur des prébiotiques. Chez les nourrissons ayant reçu pendant leurs six premiers mois un mélange de prébiotiques (0,8 GOS +FOS 9 :1/ 100ml), la survenue de la dermatite atopique a beaucoup diminué [520]. Le nombre d'études d'intervention publiées à ce jour étant très limité, et nécessite des essais cliniques randomisés à plus grande échelle, il faut d'avantage entrevoir ces données comme une preuve du concept que certains nutriments, que l'on peut retrouver notamment dans les céréales, fruits, ou légumes, peuvent avoir un impact réel sur la composition du microbiote et pourraient, par ce biais, améliorer certains paramètres marqueurs du stress métabolique associé au surpoids et à l'obésité. Ainsi, le retour à une alimentation très variée, correctement calorique, régularisant pour chaque individu les apports en fruits et légumes, viandes, corps gras, sucres, etc...et en normalisant les équilibres dans chaque classe d'aliment, harmonise l'écosystème intestinal et donc diminue l'inflammation.

❖ Effets indésirables :

Selon l'USDA, la consommation quotidienne moyenne d'inuline ou oligofructose, naturellement présent dans les aliments, est de l'ordre de 1-4 g/j aux États-Unis et 3-11 g/j en Europe. Les prébiotiques sont généralement bien tolérés, mais peuvent entraîner des effets indésirables notamment des troubles gastro-intestinaux, du fait de leurs propres propriétés (non-digestibles, fermentescibles..). La fermentation bactérienne des oligosaccharides produit un excès de gaz (H₂, méthane et autre) qui peut provoquer des ballonnements, des douleurs abdominales et des diarrhées. Il a été indiqué dans plusieurs études que tous ces effets indésirables sont dose-dépendants et varient en fonction de chaque individu. Les fructanes

étaient bien tolérés au niveau digestif jusqu'à 20 g de consommation par jour. Alors qu'à partir de 30 g/j, le risque de diarrhée augmente [521].

❖ Critères de sélectivité :

Les trois critères importants pour que des ingrédients soient définis comme prébiotiques sont :

- ✓ Être **résistant** à l'acidité gastrique, l'hydrolyse et l'absorption gastro-intestinale
- ✓ Être **sensible** au processus de fermentation exercé par le microbiote intestinal
- ✓ **Stimuler** sélectivement la croissance et/ou l'activité des bactéries intestinales responsables du bien-être et de la santé de l'hôte [523].

b. Dans quels aliments trouver des prébiotiques ?

Les prébiotiques peuvent être présents naturellement dans certains aliments (tableau V), et d'autres seront ajoutés afin d'exercer des effets bénéfiques sur l'hôte. Il y a plusieurs catégories de prébiotique :

- ❖ Il peut s'agir de l'inuline qui est un mélange de polysaccharides, de l'oligofructose, de fructo-oligosaccharides, ou encore d'oligosides de galactose et transgalactose, respectivement galacto-oligosaccharides (GOS) et trans-galacto-oligosaccharides (TOS). Le lactulose est également un prébiotique, certains amidons dits résistants bénéficient des mêmes propriétés (pomme de terre bouillie consommée après avoir laissé refroidir). Les polyols tels que le lactitol, sont aussi considérés comme prébiotiques [523,524].

L'inuline se trouve dans l'artichaut, le pissenlit, l'ail, l'asperge, les oignons, la bardane, l'échinacée, le topinambour, la banane ou la racine de la chicorée. Boire de la chicorée le matin est donc un bon moyen d'ingérer des prébiotiques!

- ❖ La pectine, est une fibre soluble qui se trouve dans tous les fruits dont on peut faire de la gelée : pomme, spiruline, groseille, coing, agrumes...
- ❖ La gomme arabique, le polydextrose, la dextrine de blé, le psyllium, les endives sont également des prébiotiques.

Tableau V : Les meilleures sources de fibres alimentaires [525]

ALIMENTS	Portions	(g)
Légumineuses cuites	250 ml (1 tasse)	12-17
Céréales à déjeuner, 100 % son de blé	30 g (1 oz)	10
Haricots de soya frais (edamame), bouillis	250 ml (1 tasse)	8
Framboises	125 ml (1/2 tasse)	4-6
Artichaut bouilli	1 moyen (120 g)	5
Pruneaux séchés, cuits	75 ml dénoyautés (80 g)	5
Poire avec pelure	1 moyenne (166 g)	5
Pois verts, cuits	125 ml (1/2 tasse)	4-5
Mûres	125 ml (1/2 tasse)	4
Citrouille en conserve	125 ml (1/2 tasse)	4
Dattes ou figues séchées	60 ml (1/4 tasse)	4
Pomme de terre avec la pelure, cuite au four	1 moyenne (150 g)	4
Épinards bouillis	125 ml (1/2 tasse)	4
Amandes rôties dans l'huile ou à sec	60 ml (1/4 tasse)	4
Patate douce bouillie	1 moyenne (151 g)	4
Pomme avec la pelure	1 moyenne (138 g)	3
Courges d'hiver, cuites	125 ml (1/2 tasse)	3
Papaye	½ fruit (153 g)	3
Choux de Bruxelles, cuits	4 choux (84 g)	3
Bleuets	125 ml (1/2 tasse)	2-3

B. Approche microbiologique :

a. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont reconnus efficaces et prescrits presque systématiquement pour détruire ou prévenir une colonisation bactérienne, sans ciblage spécifique de certaines bactéries. Ils impactent largement le microbiote intestinal et causent des altérations dans différentes voies métaboliques. Cependant, quelques études ont indiqué que certains antibiotiques peuvent avoir un effet bénéfique sur quelques pathologies. Nous l'avons vu dans l'obésité, le traitement antibiotique de souris obèses porteuses de dysbiose rééquilibre le microbiote et diminue l'extraction et le stockage de matière grasse [238]. Cet effet bénéfique

pourrait être aussi observé dans d'autres pathologies (maladie de Parkinson) mais de plus amples études doivent être réalisées. D'ailleurs, il a été montré que la **tétracycline** permet une amélioration de la tolérance au glucose et de la sensibilité à l'insuline chez les rats diabétiques et les souris obèses. Ainsi, **l'ampicilline** et **la norfolxacin**e entraînent une normalisation de la glycémie et une augmentation de la sensibilité à l'insuline chez la souris ob/ob. Par contre, il semble que l'obésité ne soit pas un facteur contributeur à cet effet car ces résultats étaient indépendants de toute modification du poids. Un des mécanismes possiblement impliqués concerne une réduction de l'inflammation. En effet, l'endotoxémie et le niveau d'expression de TNF- α corrélaient négativement avec la sensibilité à l'insuline [526]. De plus, une étude récente chez la souris c57bl/6 nourrie d'un régime gras, rapporte un effet bénéfique de l'ampicilline sur l'amélioration de la tolérance au glucose, sans modification du poids ni du nombre de Treg, de lymphocytes Th1 et de cellules dendritiques tolérogènes dans la muqueuse de l'intestin [527]. Cependant, à l'arrêt de l'antibiothérapie, la dysbiose ainsi que le déséquilibre d'apports énergétiques réapparaissent très rapidement. Par ailleurs, l'exposition précoce aux antibiotiques oraux est associée à un surpoids chez l'enfant [528]. Ainsi, l'antibiothérapie prolongée peut entraîner un déséquilibre de microbiote et potentiellement un risque de diarrhées et/ou de colonisation de *Clostridium difficile*, il paraît donc peu plausible d'entrevoir une voie thérapeutique.

D'autre part, l'influence de la minocycline sur la composition du microbiote intestinal a été évoquée parmi d'autres mécanismes, pour expliquer l'amélioration de symptômes psychiatriques chez des patients traités en adjonction de leur traitement antipsychotique usuel [529,530]. Le microbiote peut se reconstituer dans les jours qui suivent la fin d'un traitement antibiotique mais peut également être altéré durablement. Un traitement par vancomycine (actif sur les espèces de type *Clostridium*) a été associé à une amélioration de la communication et des comportements d'enfants autistes mais cette amélioration disparaît dans les jours suivant l'arrêt du traitement [45]. Néanmoins, dans la plupart des cas, le microbiote ne revient pas complètement à son état initial et certaines altérations semblent persister sur de longues périodes, ce qui pourrait également permettre une action thérapeutique à moyen terme [481]. Il existe, toutefois, un fort risque de sélection de bactéries résistantes et les antibiotiques

ne semblent pas recommandés en première intention dans le traitement d'une pathologie liée à une dysbiose intestinale.

b. Les probiotiques

Le mot « probiotique » vient du grec et signifie « en faveur de la vie ». D'après l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) et l'OMS, les probiotiques sont définis comme des microorganismes (bactéries ou levures) vivants qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité suffisante, produisent des effets bénéfiques sur leur hôte. Ils doivent également présenter une totale innocuité [531].

Tous les probiotiques n'ont pas les mêmes modes d'action et n'ont pas le même potentiel pour faire un bon probiotique. Leur efficacité est souche et dose dépendante. Les principaux probiotiques sont des bactéries appartenant aux genres *Lactobacillus* (*L.bulgaricus*, *L.acidophilus*, *L.casei*, *L.rhamnosus*, *L.plantarum*...), *Bifidobacterium* (*B.infantis*, *B.lactis*, *B.longum*, *B.breve*...), *Enterococcus* (*E.faecium*) ainsi qu'*Escherichia coli*, ou encore la levure *Saccharomyces boulardii*.

❖ Nomenclature et statut juridique du probiotique :

Dans la communauté scientifique, il existe une nomenclature reconnue pour les souches probiotiques, elles doivent être classées par genre, espèce, avec une désignation alphanumérique ; par exemple : *Lactobacillus casei* DN-114 001 ou *Lactobacillus rhamnosus* GG. Il n'existe pas de réglementation pour les noms commerciaux et les marques, et les compagnies peuvent appeler leurs « produits » probiotiques comme elles le désirent par exemple : LGG pour *Lactobacillus rhamnosus* GG [531].

Le statut des probiotiques diffère d'un pays à l'autre. En Europe, la réglementation n'est pas harmonisée, ce qui rend le dossier très complexe.

En Allemagne, les probiotiques utilisés et vendus dans des produits laitiers ou autre aliment et ceux vendus isolément dans des sachets ou des gélules sont distingués. Pour eux, les probiotiques vendus isolément font partis du monopole pharmaceutique, relèvent de la

règlementation des médicaments et doivent alors faire l'objet d'une demande d'autorisation de mise sur le marché.

La France, l'Italie, l'Angleterre et la Belgique font entrer les probiotiques dans la catégorie des compléments alimentaires, si aucune allégation thérapeutique n'est faite sur l'emballage. Selon la définition donnée par le décret du 20 mars 2006 relatif aux compléments alimentaires, ce sont des denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés, commercialisés sous forme de doses, destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité (gélules, ampoules, sachets, comprimés). Ils se différencient des médicaments de plusieurs façons, en particulier pour ce qui est des allégations. Les médicaments peuvent prétendre être efficaces dans le traitement ou l'atténuation des maladies, tandis que les aliments, les additifs alimentaires et les compléments alimentaires ne peuvent faire que des allégations générales relatives à la santé [532].

Au Canada, les probiotiques ont le statut spécial de «produits de santé naturelle», à mi-chemin entre médicaments et denrées alimentaires, ils doivent faire l'objet d'une licence de mise sur le marché où la qualité, la sécurité et l'efficacité de ces produits doivent être démontrés.

Au Japon, les probiotiques ont le statut de FOSHU (Food for Special Health Uses) reconnaissant aussi leurs effets bénéfiques pour la santé [533].

Au **Maroc**, la loi 17/04 intègre les probiotiques dans le statut « complément alimentaire », qui correspond à des produits dédiés à des consommateurs en pleine santé souhaitant agir en prévention et aucune allégation thérapeutique n'est faite sur l'emballage [534].

❖ Critères de sélectivité :

Stricto sensu, le terme probiotique devrait être réservé aux microbes vivants dont le rôle sanitaire positif a été démontré dans des études contrôlées. Il faut également pour obtenir le label probiotique que les microbes répondent aux critères suivants [531] :

- ✓ **Identification** précise de la souche (Genre, espèce), caractérisation phénotypique et génotypique. Cette identification est réalisée à l'aide de l'hybridation ADN/ADN, ou du séquençage de l'ADN qui code pour l'ARNr16S ribosomal ;
- ✓ **Origine** humaine pour être utilisé chez l'homme ;
- ✓ **Innocuité** (non invasif, non pathogène, non carcinogène), absence d'effet indésirable métabolique, immunologique, de transfert de gènes ou d'infection ;
- ✓ **Résistance** à l'acidité gastrique, aux acides biliaires et aux enzymes digestives ;
- ✓ **Adhérence** au mucus ou aux cellules épithéliales intestinales, et exclusion de pathogènes en empêchant leur adhésion. Plus l'adhésion d'une bactérie probiotique sera importante, plus son temps de rétention au niveau intestinal sera augmenté, et plus elle pourra exercer des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte ;
- ✓ **Persistance et multiplication** dans le tractus intestinal ;
- ✓ **Production** de substances antimicrobiennes (bactériocines, peroxyde d'hydrogène, acides organiques...) ;
- ✓ **Pouvoir d'immunomodulation** ;
- ✓ **Effets bénéfiques** sur la santé de l'hôte, prouvés et notion de dose efficace ;
- ✓ **Culture facile** des souches probiotiques
- ✓ **Stabilité des propriétés propres** à la souche lors des étapes de production et dans le produit final, ainsi que des caractères organoleptiques. Les souches probiotiques doivent être viables jusqu'au site d'action, le choix des souches ayant une bonne stabilité est important ;

De plus, les probiotiques doivent être adaptés à l'âge de la personne, en effet, leurs qualités et fonctionnalités sont espèce-dépendante. Ainsi, leur durée de vie *in situ* n'excédant pas une quinzaine de jours, il faut en consommer régulièrement, à moins d'apporter des FOS, nourriture du probiotique, pour entretenir son propre microbiote.

De même, les études qui prouvent l'efficacité de souches spécifiques à des doses précises ne sont pas suffisantes pour prouver des effets sur la santé à des doses moindres. Il n'est donc pas possible d'établir un dosage général pour tous les probiotiques [464].

1. Les effets bénéfiques des probiotiques :

Les probiotiques peuvent être considérés comme un moyen de transmettre les principes actifs qu'ils contiennent (enzymes, composants de paroi, peptides immunomodulateurs, substances antibactériennes...) jusqu'à leurs cibles d'action dans le tube digestif. Ils peuvent avoir des effets directs ou indirects en agissant via des modifications de l'immunité et du microbiote. En particulier, ils inhibent les bactéries pathogènes indésirables, neutralisent les produits toxiques, renforcent la barrière intestinale par des effets trophiques, améliorent la digestibilité de la ration alimentaire et stimulent l'immunité (fig.47). Ils sont également une source de vitamines (essentiellement du groupe B) et de sels minéraux assimilables.

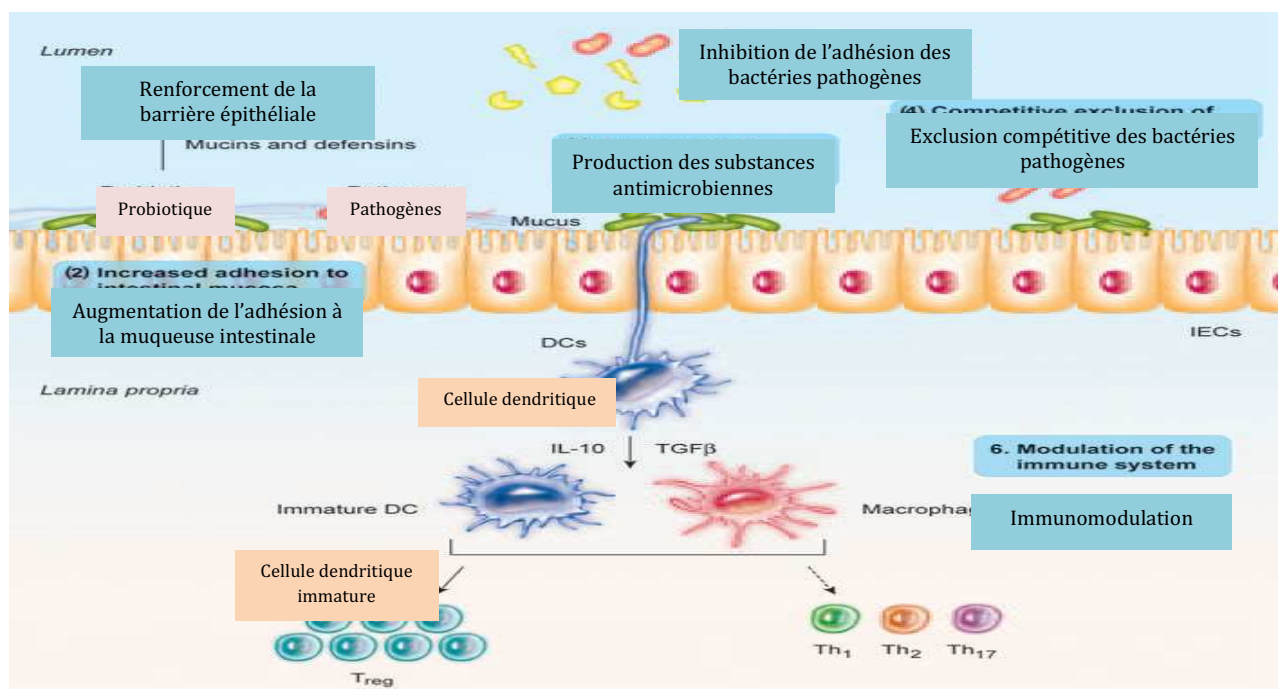


Figure N°47 : Les principaux mécanismes d'action des probiotiques

➤ Amélioration de la digestibilité du lactose et des protéines, et renforcement de la barrière épithéliale :

Certaines souches probiotiques comme les Lactobacilles, excrètent la lactase, une enzyme capable de digérer le lactose souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte. Il a été montré que chez l'adulte déficient en lactase, le yaourt contenant *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* augmente la digestion du lactose dans l'intestin grêle, par

comparaison à un lait standard ou à un produit laitier fermenté et thermisé, le traitement thermique affectant la viabilité des micro-organismes et neutralisant l'activité de la lactase bactérienne. Les probiotiques du yaourt réduisent la maldigestion d'une charge en lactose chez des sujets hypolactasiques de 6 % à 33 % selon les études. *Lactobacillus acidophilus* a aussi un effet favorable sur la digestion du lactose, et *Saccharomyces cerevisiae* augmente la digestion du saccharose chez les enfants déficients en saccharase [535].

Les probiotiques peuvent être à l'origine d'une augmentation de production de mucus. En effet, des études ont montré que le mélange VLS#3 contenant des espèces de *Lactobacillus* pouvait favoriser la production de mucus en augmentant l'expression de certains gènes (MUC2, MUC3...), favorisant ainsi la production de mucines. La production importante de mucines permet d'empêcher l'adhérence d'*Escherichia coli* entéropathogène à l'épithélium et ainsi lutter contre une éventuelle infection.

➤ **Inhibition compétitive de l'adhésion des bactéries pathogènes :**

Les probiotiques vont empêcher les bactéries pathogènes de s'installer et de se reproduire dans le tube digestif de plusieurs manières [536] :

- ✓ Les probiotiques pourraient inhiber la prolifération des bactéries pathogènes par compétition pour la colonisation. En effet, si les probiotiques prolifèrent en adhérant à l'épithélium digestif, ils laissent moins place aux bactéries pathogènes.

- ✓ La consommation compétitive de certains nutriments empêchant les bactéries pathogènes de les consommer. Les bactéries pathogènes privées de ces nutriments ne peuvent pas survivre,

- ✓ La diminution du pH par la production d'AGCC. L'acidification du contenu colique favorise la croissance des bactéries acido-résistantes, et empêche la prolifération et/ou l'adhésion à la muqueuse colique de certains germes entéropathogènes, comme *Salmonella typhimurium*, et la production de toxine de *C. difficile*.

- ✓ Les probiotiques produisent également le peroxyde d'hydrogène qui est un inhibiteur de nombreuses souches bactériennes pathogènes. Cette production de peroxyde d'hydrogène et d'acide lactique peut bloquer le développement de certaines espèces pathogènes comme le

virus de la fièvre aphteuse, certains virus de la poliomyélite, certains champignons comme le *Candida albicans*, ou encore certaines bactéries comme *E. coli*, *S. aureus*, *C. perfringens*, *C. butyricum*, *Pseudomonas spp*, *Salmonella*.

✓ La production de bactériocines, par exemple : la Bifidocine B produite par *B.bifidum* NCFB 1454, la nissine et la lactacine produites par *Lactobacillus lactis*.

➤ **Effet immunomodulateur :**

Les probiotiques possèdent également un puissant effet immunomodulateur, par une action à la fois sur l'immunité adaptative et sur l'immunité innée, par des interactions avec les CEI, mais aussi les cellules dendritiques, monocytes et macrophages [536].

Différentes études ont montré que la consommation de probiotiques empêche la mise en place de réactions immunitaires dirigées contre les antigènes du soi ou les aliments, et stimule le relargage de cytokines. Ils peuvent aussi avoir une action sur les lymphocytes B et T, permettant ainsi une augmentation de la production d'IgA sécrétoires. Une étude menée chez l'homme, a montré que l'ingestion pendant 3 semaines de lait fermenté composé de *L. johnsonii* LA1, *L. rhamnosus* et de bifidobactéries entraîne une augmentation de la production d'IgA totales spécifiques chez les sujets sains soumis à un stimulus infectieux avec *S. enterica* serovar *thyphimurium* atténué. De même, il a été montré que la morbidité due à une infection par *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC) pouvait être fortement réduite grâce à une souche probiotique *Lactobacillus casei* via une augmentation du taux d'IgA.

Les probiotiques pourraient également interagir avec les récepteurs TLRs, le NF-κB, les MAPK et entraîner un effet immunomodulateur. D'ailleurs, il a été indiqué que les probiotiques sont capables d'induire un phénomène de tolérance grâce à l'action des TLRs (TLR3, TLR7 et TLR9) sur les cellules dendritiques en influençant le développement des cellules T régulatrices. En effet, il a été montré que certains lactobacilles tels que *L. reuteri* et *L. casei* induisaient une réponse cellulaire T régulatrice associée à une augmentation de cytokines IL-10. En revanche, *L. plantarum* ne possède pas ces propriétés immunorégulatrices [536].

2. Les intérêts thérapeutiques des probiotiques

➤ Les probiotiques dans les maladies intestinales

De nombreuses études ont été réalisées sur l'efficacité des probiotiques sur de nombreuses pathologies et notamment les diarrhées induites par les antibiotiques, les diarrhées infectieuses à *Clostridium difficile* ou à rotavirus et les maladies inflammatoires de l'intestin. Les probiotiques ont une place majeure dans l'accompagnement d'un traitement par antibiotiques. Une étude récente a montré que les souches probiotiques *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* et la levure *Saccharomyces boulardii* préviennent la diarrhée sous antibiotiques avec une réduction du risque supérieure à 50 % par rapport au placebo alors que seul *Saccharomyces boulardii* réduit le risque de rechute chez des sujets porteurs d'une infection à *Clostridium difficile* [537]. Ainsi, il a été démontré que l'administration chez des nourrissons souffrant de diarrhée à rotavirus des probiotiques : *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium lactis* BB-12, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus casei* DN-114001 et *Streptococcus thermophilus* a raccourci la durée de la diarrhée et, a augmenté le nombre des cellules sécrétant les IgM spécifiques du rotavirus et IgA [47,531]. Par ailleurs, Une modification des habitudes alimentaires lors d'un voyage, surtout si celui-ci a eu lieu dans des conditions sanitaires précaires, est une cause de déséquilibre de microbiote intestinal. L'efficacité de l'administration d'un mélange de probiotiques : *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Saccharomyces thermophilus* et de bifidobactéries a été prouvée dans la réduction de l'apparition des diarrhées du voyageur en passant de 43% contre 71% sans supplémentation [538]. De même, l'utilisation de *Lactobacillus Rhamnosus* GG ou *Saccharomyces boulardii* a été préconisée pour les diarrhées du voyageur et post-antibiotiques [654]. Enfin, la souche *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 s'est avérée efficace en adjuvance du traitement des diarrhées induites par les radiations chez des patients ayant subi une radiothérapie, principalement pour des cancers de la sphère urogénitale [100].

Un essai randomisé contrôlé a indiqué que Les probiotiques peuvent être utiles aussi en cas de constipation. Il a été montré que les Lactobacilles et les bifidobactéries peuvent avoir des effets positifs sur la constipation en produisant des acides diminuant le pH intraluminal et

stimulant la motilité intestinale, entraînant ainsi une amélioration de la consistance des selles et de la fréquence de défécation [100]. Cela permettrait de réduire l'utilisation de laxatifs qui ont l'inconvénient majeur d'éliminer, en plus du bol fécal, différentes substances essentielles à l'organisme comme les acides aminés ou les minéraux. Les bactéries lactiques modifient l'équilibre du microbiote intestinal provoquant de ce fait une excitation de la muqueuse et des muscles, ce qui entraîne un ramollissement des selles.

Les symptômes (ballonnements, flatulences) et la qualité de vie chez les sujets atteints du syndrome de l'intestin irritable seraient aussi grandement améliorés par le traitement utilisant *Bifidobacterium bifidum* et *Saccharomyces boulardii*. Ainsi, Les probiotiques peuvent apporter des améliorations dans la prévention des rechutes et le traitement de la maladie de Crohn, de la rectocolite hémorragique et de la pochite. *Escherichia coli* Nissle 1917, *Saccharomyces boulardii* et *Lactobacillus rhamnosus* GG ont montré une activité équivalente à la mésalazine (un dérivé salicylé anti-inflammatoire) dans le maintien de la rémission des RCH. Dans une autre étude, un mélange de bactéries nommé VSL#3, contenant 5.10^{11} cellules/g de trois bifidobactéries (*B. longum*, *B. infantis* et *B. breve*), quatre lactobacilles (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii subsp bulgaricus* et *L. plantarum*) et un Streptocoque (*Streptococcus salivarius subsp thermophilus*), a montré son innocuité et son efficacité sur le traitement des formes modérées de RCH. De plus, chez les patients non répondeurs aux traitements conventionnels, VSL#3 a montré un taux d'induction/maintenance de la rémission de 77%. Par contre, les résultats des études sur l'utilisation des probiotiques dans l'induction et la maintenance de la maladie de Crohn sont moins pertinents [100].

➤ Les probiotiques dans les maladies atopiques

L'idée de l'utilisation de probiotiques dans le traitement de désordres allergiques est fondée sur le fait que cette pathologie est associée à une dérégulation des réponses lymphocytaires Th1/Th2 et T régulatrices vis-à-vis d'antigènes exogènes comme vu précédemment.

L'étude publiée en 2001 par Kalliomaki a montré l'effet préventif de l'administration de probiotiques sur l'apparition de l'eczéma atopique chez le nouveau-né et le nourrisson. Cette étude a consisté à administrer à la maman un supplément contenant 10^{10} UFC de

Lactobacillus rhamnosus GG pendant 2 à 4 semaines avant l'accouchement. La supplémentation a été poursuivie chez la mère allaitante ou chez le nouveau né, pendant 6 mois à la même dose. L'incidence des manifestations allergiques a été réduite de moitié et les concentrations de CD14 solubles dans le colostrum de ces mères étaient significativement corrélées aux taux d'IgA et d'IgM à 12 mois dans le sang de l'enfant [47,57].

Quelques études ont montré un effet des probiotiques dans le traitement de la dermatite atopique. Un traitement de 6 semaines par un mélange de 2 lactobacilles (*Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus reuteri*) a réduit significativement l'étendue de l'eczéma d'enfants âgés de 1 à 13 ans, et ce, d'autant plus que les sujets présentaient par ailleurs un fond allergique [100].

➤ Les probiotiques dans certains types de cancers

Plusieurs auteurs ont montré que certains probiotiques pouvaient diminuer l'activité d'enzymes, de mutagènes ou des acides biliaires secondaires dans les selles, qui pourraient chacun être impliqués dans la cancérogenèse colique. Des chercheurs ont observé un moindre risque d'adénome colique de grande taille chez les sujets consommant du yaourt plus de trois fois par semaine.

Deux essais randomisés contrôlés ont montré que l'administration orale de *Lactobacillus casei* diminuait de manière significative le risque de récurrence de tumeur superficielle de la vessie chez l'homme. Ainsi, il est intéressant de noter que le traitement de référence des tumeurs de vessie à haut risque de récurrence et de progression est des injections intravésicales de bacille de Calmette-Guérin (BCG), connu du grand public comme le vaccin contre la tuberculose, qui agissent en stimulant le système immunitaire, traitement conceptuellement proche de celui des probiotiques. Le taux de survie des patients varie alors entre 50 et 70% [540].

De façon plus étonnante encore, de récents travaux ont montré un effet bénéfique de certaines probiotiques dans l'efficacité d'un traitement chimiothérapique [541,542]. Le cyclophosphamide, l'un des médicaments les plus utilisés en chimiothérapie, entraîne une inflammation de la barrière épithéliale intestinale et perturbe l'équilibre du microbiote

intestinal. Dans ce contexte inflammatoire, certaines bactéries (bactéries à Gram positif) sont capables de passer la barrière intestinale et vont migrer dans les organes lymphoïdes secondaires (ganglions mésentérique et la rate). Ces bactéries vont alors déclencher une réponse immunitaire et permettre le recrutement de lymphocytes effecteurs qui sont différents de ceux mobilisés par la chimiothérapie et qui aident les lymphocytes anti-tumoraux à endiguer la croissance des tumeurs. Il a également été montré que le cyclophosphamide oriente les Lymphocytes T CD4 de la rate vers un lignage producteur d'IL-17. Ce mécanisme est dépendant du microbiote intestinal puisqu'un traitement avec des antibiotiques à larges spectres diminue l'efficacité du cyclophosphamide, dans un modèle de xénogreffe de sarcome et de mastocytome. Les résultats de ces études suggèrent que l'utilisation d'antibiotiques, sur la durée de vie d'un patient, pour traiter une infection ou des événements indésirables pendant le traitement du cancer, pourrait affecter l'efficacité de la chimiothérapie. Il semblerait alors possible de traiter les patients avec des probiotiques avant de subir une chimiothérapie, afin de permettre aux bactéries bénéfiques de traverser la barrière intestinale épithéliale. Ces travaux encourageant montrent bien le lien étroit entre la tumorigenèse, le système immunitaire et le microbiote. Ils sont cependant exclusivement focalisés sur une action de ces microorganismes intestinaux sur des tumeurs éloignées géographiquement de leurs lieux de résidence principale.

➤ **Les probiotiques dans les maladies hépatiques**

Dans les modèles de lésions hépatiques induites par des substances chimiques ou une surconsommation d'alcool, la supplémentation en probiotiques contenant des espèces telles que les *Lactobacillus* et les *Bifidobacterium* a permis de diminuer la translocation de composants bactériens dans la circulation portale en diminuant la proportion de bactéries aérobies telles que *E.coli*, ainsi qu'en augmentant la stabilité intestinale et en réduisant l'inflammation hépatique [543].

➤ **Les probiotiques dans les maladies psychiatriques :**

Certaines bactéries probiotiques « psychobiotiques » sont capables de fabriquer et de sécréter des neuromédiateurs, par exemple, certaines souches de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* produisent le GABA, un des principaux neurotransmetteurs inhibiteurs dont

les anomalies retentissent sur les phénomènes d'anxiété et de dépression. Chez le rat, l'ingestion de *Bifidobacterium infantis* a permis d'augmenter le taux sérique de tryptophane, un précurseur de la sérotonine, molécule très impliquée dans la régulation de l'humeur. Il a aussi été rapporté que d'autres souches sont capables de produire de l'adrénaline, de la sérotonine ou de la dopamine [390].

Plusieurs éléments de la littérature attestent l'effet bénéfique de ces psychobiotiques dans les maladies psychiatriques, à savoir la dépression, l'anxiété, l'autisme, les troubles bipolaires de l'humeur, la schizophrénie et la dépendance alcoolique. Il a été montré que l'administration de la souche *Lactobacillus rhamnosus JB-1* diminue le comportement de type dépressif des souris BALB/c. De même, la combinaison de *Lactobacillus helveticus R0052* et *Bifidobacterium longum R0175* améliore les niveaux d'anxiété et d'humeur chez les individus sains. Ainsi, l'administration de la souche *Bifidobacterium infantis 35624* améliore les performances de rats Sprague-Dawley rendus dépressifs par une séparation maternelle [390]. Par ailleurs, un traitement par *Lactobacillus casei* pendant deux mois a montré une amélioration significative de l'anxiété et des symptômes dépressifs chez 39 patients souffrant d'un syndrome de fatigue chronique. Un traitement probiotique a également montré une efficacité dans l'amélioration des symptômes du syndrome SIBO associé avec les troubles anxiodépressifs [481]. Pourtant, ces différentes études nécessitent d'être complétées par d'autres recherches pour mieux évaluer et caractériser l'intérêt des probiotiques dans les situations de stress ou de dépression.

*Malgré de nombreuses études prouvant le rôle des probiotiques dans le traitement et la prévention de diverses maladies, il semble prématuré de conclure sur leurs activités cliniques du fait des expérimentations hétérogènes et de la méconnaissance encore importante du lien entre l'espèce bactérienne et l'action induite. De plus, les probiotiques sont souvent commercialisés en mélange d'où la difficulté de « maîtriser » l'effet escompté.

3. Dans quels produits trouver des probiotiques ?

Les produits contenant des probiotiques disponibles sur le marché sont très nombreux. Il peut notamment s'agir d'aliment, mais aussi de compléments alimentaires aux compositions variées et enfin de rares médicaments disposant d'une autorisation de mise sur le marché.

NB : Les compléments alimentaires et médicaments vont être présentés dans la partie du rôle du pharmacien.

➤ **Le yaourt** : Le yaourt ou yoghourt est de loin l'aliment lactofermenté que nous consommons le plus. Il est fabriqué grâce à la fermentation du lait par deux bactéries précises : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Un yaourt contient au minimum 10 millions de ces deux bactéries lactiques vivantes par gramme. Elles sont considérées comme probiotiques car elles libèrent une enzyme bactérienne : la lactase, qui va permettre de digérer correctement le lait, même chez les personnes dépourvues de lactase physiologique. Les desserts lactés (crèmes desserts, flans, mousses, île flottante et autres crèmes brûlées) ne renferment aucune bactérie probiotique.

Autre aliment phare des rayons des supermarchés : les laits fermentés (Annexe 1 : appellation des laits fermentés dans le monde entier). La différence entre les laits fermentés et les yaourts est simplement que les laits fermentés sont issus de la fermentation de bactéries autres que *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* et de ce fait, ne peuvent pas porter l'appellation de yaourt. Le lait fermenté utilise des Bifides (*Bifidobacterium lactis*) ou des Lactobacilles (*Lactobacillus acidophilus*). Il est intéressant de noter qu'en 1919 les premiers yaourts Danone, au vu de leurs vertus, seront au départ vendus en pharmacie sur conseils des médecins [544].

➤ **Le fromage** : Les fromages fermentés, à pâte dure ou molle, contiennent des bactéries du genre *Lactobacillus* et des moisissures, en particulier au niveau de leur croûte (camembert, munster...) ou en leur sein pour les pâtes persillées (comme le roquefort) [544].

➤ **La choucroute** : La choucroute, surtout crue, apporte des bactéries, car c'est un aliment lactofermenté. Les ferments lactiques se développent et transforment une partie des sucres du chou en acide lactique. Ce qui rend au passage le chou plus digeste.

*Préparation de la choucroute : on découpe les choux en fines lamelles que l'on tasse fortement et sur lesquelles on répartit un peu de sel. On stocke ensuite cette préparation dans un pot fermé (il ne doit pas y avoir d'air). On peut lactofermenter d'autres légumes : carottes, concombre, oignon, navet [544]...

➤ **Les grains de Kéfir** : Le kéfir est quotidiennement servi à titre «d’activateur de la santé » dans les hôpitaux russes et y est utilisé comme agent thérapeutique pour certaines infections [545]. C’est une boisson naturellement gazeuse et acidulé, obtenue par fermentation de grains de kéfir dans le lait ou dans de l’eau sucrée et fruitée. Les grains sont faits de bactéries lactiques et levures actives ancrées dans une matrice de polysaccharides et de protéines de lait (Annexe 2 : composition bactérienne du Kéfir). Ils peuvent avoir différentes combinaisons de bactéries et de levures [544].

➤ **Autres** : Les préparations à base de soja (sous forme de sauce : shoyou, tamari ; de miso ; de tempeh ou encore de natto), les cornichons au vinaigre, les olives, le kimchi, des poissons, des crustacés, les fruits, les légumes verts, le pain au levain, la levure de bière,... combinent naturellement différentes souches indispensables à leur obtention [544].

c. Symbiotiques

L’association entre un probiotique et un prébiotique, nutriment qui lui est favorable, s’appelle un symbiotique ou synbiotique. Le prébiotique étant sélectionné sur la base de sa capacité à stimuler la croissance, l’activité et la stabilité du probiotique au niveau digestif, le symbiotique est alors plus efficace sur le microbiote intestinal que les probiotiques et prébiotiques utilisés seuls [520,546]. C’est par exemple le cas pour l’association bifidobactéries/FOS, lactobacilles/lactilol ou encore bifidobactéries/GOS. Une étude randomisée menée en double aveugle chez des patients diabétiques entre 50 et 60 ans, a montré une augmentation significative du taux de cholestérol-HDL ainsi qu’une réduction significative de la glycémie à jeun suite à la consommation d’un mélange symbiotique contenant *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et de l’oligofructose, en comparaison avec le groupe placebo [547]. Une publication récente, rapporte dans un modèle d’induction du diabète par la streptozotocine chez le rat, une diminution de la triglycéridémie et une augmentation du taux de cholestérol-HDL en réponse à un traitement avec un mélange de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) et de bactéries probiotiques (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus helveticus*). Par contre, ce symbiotique n’a pas diminué la glycémie des rats

[548]. Le potentiel thérapeutique de mélanges symbiotiques dans le diabète de type 2 demande aujourd'hui à être plus amplement exploré.

Un synbiotique a notamment montré son intérêt chez des patients atteints de RCH. Ce mélange contenait l'inuline et *Bifidobacterium longum*. L'administration de ce mélange pendant un mois chez 18 patients de 24 à 67 ans a permis d'accroître de façon importante le taux de bifidobactéries au niveau fécal. Les défensines qui sont exprimées de manière excessive et les cytokines ayant un rôle pro-inflammatoire ont diminué en nombre. Ainsi, l'administration d'un mélange de *Lactobacillus helveticus* M92 avec de l'inuline, ou encore du lactulose et du raffinose à raison de 10g/l chez la souris a montré que ce symbiotique avait un effet immunomodulateur, en particulier lorsque le prébiotique utilisé était l'inuline. D'ailleurs, il a été observé une augmentation du taux sérique des IgA sécrétoires et totales chez les souris recevant ce symbiotique par rapport aux souris témoins [549].

C. Transplantation de microbiote fécal :

La transplantation de microbiote fécal (TMF) ou greffe de microbiote fécal (bactériothérapie fécale, transfusion fécale), a été pour la première fois réalisée à titre expérimental aux États-Unis en 1958 dans le traitement d'entérocolite pseudomembraneuse fulminante grave. Au cours des décennies suivantes, un faible nombre d'études ont été réalisées sur la TMF, mais un regain d'intérêt de cette technique est apparu dans les dernières années. La TMF consiste en l'introduction d'une suspension fécale « filtrat microbien » obtenue à partir des selles d'un donneur sain familial ou anonyme dans le tractus gastro-intestinal d'un patient receveur afin de rééquilibrer le microbiote intestinal altéré de l'hôte [550].

L'utilisation de selles par voie orale à des fins thérapeutiques remonte cependant à plus loin encore. Ainsi, dans son manuel paru en 1697 et intitulé *Heilsame Dreck-Apotheke*, le médecin allemand Christian Franz Paullini (1643–1712) avait déjà décrit de nombreux exemples d'application de son époque. Toutefois, en Chine également, sous la dynastie des Jin orientaux, Ge Hong avait décrit au IV^e siècle, dans un traité de médecine d'urgence, l'usage de matière fécale par voie interne, préparation qui était désignée par le terme «soupe

dorée» pour être rendue appétissante aux yeux des patients de l'époque. Depuis lors, seuls quelques rares médecins avaient employé ce traitement, passant largement inaperçus [551].

C'est en 2013 que le traitement a à nouveau été remis sur la table, après la parution dans le *New England Journal of Medicine* d'une étude intitulée «*Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent Clostridium difficile*». Alors que les premiers essais utilisaient encore un lavement rétrograde dans le gros intestin, l'étude de 2013 a introduit des matières fécales d'un donneur sain dans l'intestin grêle par voie antérograde via une sonde nasale. De plus, des méta-analyses récentes ont rapporté une efficacité de plus de 90% de la TMF dans le traitement de l'infection à *Clostridium difficile*, cette technique pourrait donc représenter un traitement de troisième intention en cas d'échec de thérapie par probiotiques ou antibiotiques [481]. A l'heure actuelle, il y a un intérêt croissant pour la manipulation du microbiote à visée thérapeutique d'une manière générale et pour la TMF en particulier, y compris en dehors du traitement des infections récidivantes à *Clostridium difficile*, par exemple, en cas de maladies cardio-métaboliques, de maladies auto-immunes et d'autres affections extra-intestinales.

❖ Objectif et statut juridique :

L'objectif de la TMF est de réintroduire une communauté stable et exhaustive de micro-organismes intestinaux pour corriger un microbiote déséquilibré, et ce dernier tend à devenir le même que celui du donneur sur le long terme. En revanche, le microbiote fécal (en tant que produit) et son transfert par inoculum (en tant qu'acte) n'ont pas de statut juridique en droit français, ni européen, ni nord-américain. Saisie en 2013, l'ANSM retient en mars 2014 la qualification de médicament, dans un contexte européen d'approches diversifiées [550]. À ce jour, l'Agence européenne n'a pas encore pris position. Aux États-Unis, la FDA a en juillet 2013 opté pour la qualification de **médicament**, ce qui impliquait pour les médecins qui voulaient la pratiquer de remplir un dossier d'« Investigational New Drug ». La raison avancée était qu'une telle classification allait encourager le développement de produits commerciaux standardisés qui permettraient un accès plus facile à ce genre de traitement, tout en assurant un contrôle solide des questions de sécurité posées par les transplantations fécales. Cependant, le parcours traditionnel de développement d'un médicament est tellement long et coûteux que les experts pensent qu'une telle classification ralentit globalement la recherche

sur les risques et bénéfices potentiels des transplantations fécales plutôt qu'elle ne la favorise. D'autre part, les experts ont indiqué que la nature des transplantations fécales correspondent mal à une classification de médicament, et ont préconisé de les classer comme **tissu humain** [552].

Actuellement en France, le transfert du microbiote relève de la qualification de médicament. Il ne doit être utilisé que pour le traitement de l'infection sévère récidivante à *C.difficile*, si les thérapies standard ont échoué, et si le patient dûment éclairé a manifesté un consentement spécifique. Donc, le développement de la TMF et l'élargissement éventuel de ses indications pourrait appeler une modification du droit français actuel. Elle consisterait en un complément du livre dédié au « Don et utilisations des éléments et produits issus du corps humain » différenciant bien les produits (origine cellulaire/provenance topographique), le complément éventuel de la définition du médicament biologique, et une éventuelle dérogation complémentaire au monopole pharmaceutique pour le traitement des substances biologiques [552].

Étant donné les bénéfices mais aussi les risques potentiels associés aux transplantations fécales, il est nécessaire que les autorités de santé prévoient un cadre réglementaire qui permette à la fois d'assurer la sécurité des patients et d'avoir assez de flexibilité pour utiliser les transplantations fécales dans un cadre thérapeutique et/ou de recherche clinique. Pourquoi pas donc, une nouvelle catégorie de produits thérapeutiques ?

❖ **Indications et Contre indications :**

Indications : À l'heure actuelle, la seule indication reposant sur une certaine évidence scientifique est le traitement **des infections récidivantes ou réfractaires à *Clostridium difficile*** (tableau VI) [550].

Tableau VI : Indications pour une transplantation de matériel fécal en cas d'infections à *Clostridium difficile*

Infections récidivantes à <i>Clostridium difficile</i>	Après plusieurs récurrences
Infections réfractaires à <i>Clostridium difficile</i>	Ne répondant pas à une antibiothérapie adéquate prise depuis au moins 7 jours (Vancomycine, métronidazole, fidaxomicin).
Infections sévères à <i>Clostridium difficile</i>	Ne répondant pas à une antibiothérapie dans les 48 heures et patient dont l'état s'aggrave

Un gastro-entérologue ou un pédiatre avec des compétences spécifiques en gastro-entérologie et/ou l'infectiologie, pose l'indication d'une transplantation du matériel fécal en concertation avec le microbiologiste. En cas d'infection sévère à *Clostridium difficile* (avec menace de mégacôlon toxique), le chirurgien est également consulté. La prise de décision est documentée dans le dossier médical.

Pour toute indication autre que les trois situations cliniques décrites pour le *Clostridium difficile*, l'évidence scientifique est préliminaire et donc l'application ne peut se faire que dans le cadre d'une étude clinique. D'autres pathologies (caractérisées par une dysbiose) représentent des indications potentielles, telles que par exemple les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), les troubles fonctionnels intestinaux, l'obésité, les maladies métaboliques et auto-immunes, les désordres neuropsychiatriques et l'autisme [550]. Il s'agit essentiellement d'études cliniques de petite taille, généralement non contrôlées ou de cas isolés rapportés. Ces approches thérapeutiques restent donc à l'heure actuelle à l'état expérimental.

Contre indications : En l'état actuel des connaissances, il ne semble pas exister de contre-indications absolues à la TTMF [550]. Par contre, un nombre de contre-indications relatives doivent être considérées comme des points d'attention pour le médecin.

Il faut toujours évaluer sur une base individuelle le risque par rapport à l'avantage potentiel d'une transplantation de matériel fécal en prenant en compte notamment les éléments suivants :

- Une immunité fortement diminuée: chimiothérapie récente, médicaments immunosuppresseurs, neutropénie $<1000/\mu\text{l}$, infection par le HIV2 avec des $\text{CD43} < 250$, transplantation récente de moelle, cirrhose hépatique décompensée... si une TMF est pratiquée chez un patient immunodéprimé. Il faudra au préalable déterminer le statut sérologique concernant le CMV et le virus EBV chez le patient/receveur.
- La grossesse: Si une TMF est pratiquée chez une femme enceinte, il faudra au préalable déterminer le statut sérologique concernant le CMV, l'EBV et la rubéole chez la patiente / receveur (femme enceinte).
- Une allergie alimentaire grave: par exemple, noix, crustacés, mollusques, etc. susceptibles d'être présents dans la nourriture du donneur. Maintenir éventuellement une fenêtre suffisante entre la prise de l'allergène, le don et la transplantation.
- En cas de colonoscopie: un mégacôlon toxique menaçant. Dans ces cas, la préférence va à l'administration nasogastrique / duodénale / jéjunale.
- En cas d'administration nasogastrique: aspiration récidivante (pneumonie), vidange gastrique ralentie.
- En cas de lavements: le dysfonctionnement des sphincters peut influencer le temps de contact lors de la transplantation.

❖ **Protocole de TMF « Recommandations de l'ANSM » :**

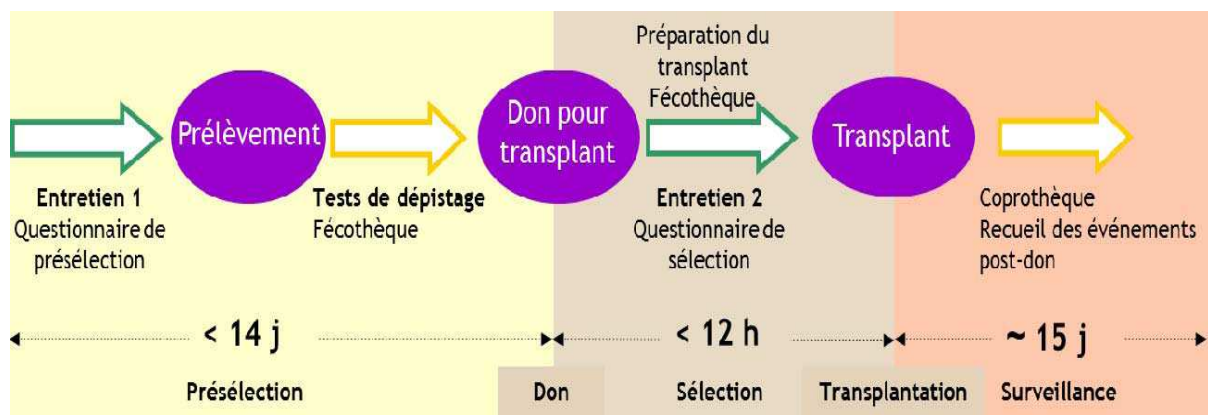


Figure N°48 : Chronologie de la TMF

1. Choix des patients :

La grande majorité des patients ayant subi une TMF étaient atteints de diarrhée à *Clostridium difficile* et en échec thérapeutique. Le reste des transplantations ont été réalisées sur des sujets porteurs de constipation, de SII, de MC, de RCH et de syndrome métabolique, cependant le nombre de cas est très faible [553].

2. Choix des donneurs :

La sélection du donneur est absolument cruciale pour minimiser le risque de transmission d'agents pathogènes inconnus (virus, bactéries ou parasites). Habituellement, il est possible de rechercher un donneur dans le cercle familial ou amical du receveur. Le don allogénique anonyme dans le contexte des banques de matériel fécal est techniquement possible et peut offrir une quantité d'avantages opérationnels en plus d'augmenter la qualité et la sécurité [551].

Actuellement, il est proposé comme protocole de screening, un interrogatoire pour les donneurs. Selon l'ANSM (Annexe 3), le profil du donneur idéal de matériel fécal est le suivant :

- Age : 18-65 ans* ;
- Indice de masse corporel (IMC) < 30 ;
- Absence de prise d'antibiotiques dans les 3 mois précédant le don ;
- Absence de pathologie chronique (exemple : IBD, SII, diabète, obésité, autisme, Syndrome de fatigue chronique, etc.) ;
- Absence de traitement curatif au long cours ;
- Absence de séjour à l'étranger dans les zones à risque dans les 3 mois précédant le don ;
- Absence de résidence de plusieurs années en zone tropicale ;
- Absence d'hospitalisation dans les 12 mois précédant le don ;
- Absence de troubles digestifs à type de diarrhée aiguë ou chronique dans les 3 mois précédant le don
- Absence d'antécédents de fièvre typhoïde ;
- Aspect macroscopique normal des selles ;
- Dépistage négatif d'agents infectieux (tableau VII).

*Si les receveurs sont des enfants, la transplantation de matériel fécal sera réalisée de préférence avec des donneurs d'âge similaire (age-matched). Il n'y a pas vraiment d'évidence scientifique à cette démarche toutefois compte tenu de l'évolution du microbiote avec l'âge.

Tableau VII : Liste des agents infectieux à dépister chez les donneurs [551]

	Sang	Matériel fécal
Bactéries	<i>Treponema pallidum</i>	Coproculture standard et orientée <i>Clostridium difficile</i> toxinogène Salmonella Shigella Bactéries multirésistantes aux antibiotiques Campylobacter spp. <i>Helicobacter pylori</i>
Virus	HIV1 et 2 HTLV I et II Virus des hépatites A (IgM), B et C CMV / EBV Syphilis	Adénovirus Astrovirus Calicivirus (norovirus, sapovirus) Picornavirus (entérovirus, Virus Aichi) Rotavirus Virus des hépatites A et E
Parasites	<i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Toxoplasma gondii</i> <i>Trichinella sp</i>	Exclusion de tout parasite pathogène

3. Préparation du patient receveur avant la transplantation :

Les contrôles sérologiques du receveur sont identiques à celui du donneur. Le receveur devra prendre connaissance et signer le document relatif au consentement éclairé. Le document comprend également une description des effets secondaires potentiels.

La préparation du receveur avant la transplantation est variable suivant la méthode employée pour l'administration des selles. Il y a 4 aspects de préparation potentiels [550,553] :

➤ Préparation de l'intestin (lavage intestinal par du PEG): dépend principalement de la voie d'administration. En cas d'administration par colonoscopie, la préparation de l'intestin doit bien entendu être réalisée mais pour d'autres techniques d'administration (rectale, nasogastrique, nasoduodénale) l'avantage n'est que théorique.

- Antibiotiques: Avant la transplantation, le patient suit une cure d'antibiotiques dans la plupart des cas. Jusqu'à présent, il n'existe pas ou trop peu de preuves que l'utilisation d'antibiotiques influence de manière significative le taux de réussite de la transplantation de matériel fécal dans le cas de l'infection à *Clostridium difficile*. Toutefois, l'administration d'antibiotiques est stoppée au plus tôt 72h et au plus tard la veille de la TMF pour ne pas influencer le transplant.
- Inhibiteur de la pompe à protons : seulement si la transplantation est effectuée par sonde nasogastrique, l'oméprazole 20 mg sera donné comme suit : au minimum le matin de la transplantation, au maximum la veille au soir et le matin de la transplantation. En théorie, le rationnel est qu'un pH acide peut détruire le microbiote administré.
- Lopéramide : il peut être indiqué d'administrer au receveur du lopéramide afin de maintenir le transplant plus longtemps dans son système gastro-intestinal. En principe, le lopéramide reste contre-indiqué chez les jeunes enfants.

4. Préparations du donneur

Tout d'abord, le donneur devra prendre connaissance et signer le document relatif au consentement éclairé. Concernant les préparations, on peut lui conseiller de ne pas manger de produits allergisants qui peuvent être potentiellement dangereux pour le receveur les jours qui précèdent le don. Ces produits sont, notamment, les noix, les arachides, les crustacés ou les mollusques. Éventuellement, le donneur peut prendre, le soir précédent, une dose unique d'un laxatif osmotique.

5. Préparation du transplant :

- Où et par qui ?

Le microbiote répondant à la définition d'un médicament, sa préparation doit être réalisée sous la responsabilité d'une pharmacie à usage intérieur (PUI) d'un établissement de santé.

Au vu des nombreux contrôles microbiologiques requis et de l'accueil des donneurs pour le don de selles au laboratoire de microbiologie de l'hôpital, il est envisageable que le contrôle des préparations de selles notamment soit effectué au laboratoire de microbiologie.

➤ Quand ?

Le don doit être effectué dans les 5 jours ouvrables qui suivent le screening. Lorsqu'on travaille avec du matériel fécal frais, l'intervalle entre l'obtention des selles du donneur et son administration au patient ne permet pas d'obtenir les résultats du dépistage dans les temps voulus (maximum 6h). Par contre, l'utilisation des selles congelées conservées pendant un maximum de 8 semaines à -80°C permet un dépistage correct et un traitement plus sûr. Ainsi, le conseil supérieur de la santé recommande le don via une banque de matériel fécal.

➤ Comment ?

La préparation va se dérouler sous une hotte à flux laminaire, et puis il faut laver les mains par friction hydro-alcoolique avant et après le port des gants.

1) Utiliser 30 g (pour une administration nasoduodénale /naso-jéjunale /nasogastrique) ou 100 à 150 g (pour une transplantation par colonoscopie) de selles fraîchement émises récupérées d'un donneur étant diluées dans du sérum physiologique (NaCl 0,9%) stérile désoxygéné et instillées dans un volume compris entre 50 et 500 ml de sérum

2) La dilution des selles peut se faire par agitation et/ écrasement, en utilisant aussi un mixer (Blender) dédié spécifiquement à cet usage. Mixer jusqu'à obtention d'une consistance liquide homogène

3) La filtration se fait en versant le mélange sur une compresse de gaze stérile pliée disposée sur un entonnoir en verre placé au-dessus d'un erlen

4) Transvaser le filtrat dans une poche de nutrition entérale puis dans une surpoche opaque ou dans une seringue d'injection fermée

5) Placer la poche dans une caisse avec un pain de glace pour son transport à froid jusqu'au service de soin.

6. Voie d'administration :

Pour faciliter la survie et pour maintenir la diversité des micro-organismes, la TMF doit être réalisée de préférence dans les 6h après le recueil, et au maximum dans les 24h. Le choix de la méthode peut varier selon les besoins et l'état de chaque patient. Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour implanter les suspensions fécales (Tableau VIII) :

Tableau VIII : Les voies d'administration

voie	Avantages	Inconvénients
Sonde nasogastrique/ duodénale/ jéjunale	Simplicité, Rapidité, Ensemencement de l'ensemble du TD	Intolérance gastrique, vomissements, reflux avec pneumopathie d'inhalation fécale. Pullulation microbienne (théorique)
Gastro duodénoscopie	Sécurité, Ensemencement de l'ensemble du TD	Lourdeur et coût, pullulation microbienne (théorique)
Coloscopie +/- iléoscopie	Meilleure efficacité. Une seule infusion suffisante	Lourdeur, coût, risque
Lavements	Simplicité, faible coût, Mieux accepté, réalisable à domicile	Moindre efficacité. Nécessité de plusieurs infusions

L'administration par voie basse (coloscopie ou lavement) permet de transplanter directement l'échantillon au niveau de la lumière intestinale avec une quantité supérieure de matériel (250 à 500ml), alors que la voie haute possède un impact psychologique important sur les patients et ne permet de transplanter que 25 à 50ml de matériel.

7. Surveillance post TMF

Pendant les premières 24 heures après la TMF, le patient receveur est interdit de déféquer dans les 4 heures suivant la transplantation, il est observé de façon intensive dont 6 heures minimum dans un contexte hospitalier.

À long terme, le patient sera observé pendant au minimum 2 ans selon les modalités précisées dans le protocole d'essai clinique, cette durée étant corrélée à celle de la conservation des coprothèques.

8. Traçabilité du produit :

Il est essentiel qu'une traçabilité rigoureuse soit mise en place par les centres investigateurs permettant d'identifier et de faire le lien entre :

- les différentes étapes : du prélèvement pour dépistage au don, et du don au transplant ;
- Noms du donneur et du receveur.

Ainsi, une coprothèque ou « fécothèque » doit être réalisée à partir des selles brutes émises par le donneur (lors du 1^{er} bilan de dépistage et le jour du don) ainsi qu'une coprothèque sur le transplant lui même, Ces échantillons doivent être conservés durant au minimum 2 ans à - 80°C.

De même, dans le cas où une congélation de selles serait prévue, il est conseillé de recueillir des données relatives au temps de décongélation et au délai entre la décongélation et la transplantation.

❖ Les pathologies concernées par la TMF:

Les résultats d'une méta-analyse (11 études et 273 patients) impliquant la TMF sur des patients atteints de **diarrhée à *C.difficile*** (DACD) se sont montrés très prometteurs. En effet, la TMF a montré une efficacité de 92% dans l'infection à *C.difficile* récidivante. Une étude randomisée, a comparé l'efficacité de la TMF, administrée par sonde nasogastrique, avec celle d'un traitement à la vancomycine. L'efficacité du traitement a été définie par la disparition de la DACD, sans rechute dans les 10 semaines. La TMF était efficace dans 82% des cas alors que la vancomycine dans seulement 31% des cas. Dans cet essai, 19% des patients ont bénéficié d'une deuxième TMF, efficace dans deux tiers des cas [553].

L'efficacité de la TMF a également été montrée dans le traitement des MICI. 76% des patients atteints de **RCH** ont une réduction de la symptomatologie de leur maladie, 76% n'ont plus recouru à la prise de leur traitement après la TMF et enfin 63% sont en rémission prolongée [553]. Par ailleurs, Son utilité dans la **MC** n'est pas encore démontrée et reste pour l'heure anecdotique. Cependant de nombreuses études récentes mettent en avant une efficacité potentielle de ce type d'intervention.

Andrews et al ont rapporté une amélioration clinique chez 40 des 45 patients atteints de **constipation chronique sévère**, associant la TMF à une amélioration de la défécation et la résolution des ballonnements et des douleurs abdominales. Après un suivi à long terme (9 à 19 mois), 60% des patients ont continué à signaler un transit normal sans laxatif [553].

Comme nous l'avons dit précédemment, le microbiote intestinal pourrait jouer un rôle dans la survenue des troubles du comportement alimentaire. Une étude récente menée chez des patientes atteintes d'anorexie mentale a montré qu'après une TMF répétée, les patientes ont pris du poids d'une manière spectaculaire. La TMF pourrait également trouver une place dans le traitement du **syndrome métabolique**, de **l'obésité** et de leurs nombreuses complications. Une étude contrôlée, randomisée, en double insu évaluant l'efficacité de la TMF chez 18 hommes atteints du syndrome métabolique. 50% des patients ont reçu des matières fécales provenant de donneurs masculins non obèses (groupe A) et l'autre moitié a été implantée avec leurs propres excréments (groupe B). Il apparaît une réduction du taux de triglycérides dans le groupe A, alors qu'aucun effet n'a été observé dans le groupe B de contrôle. De plus, la sensibilité à l'insulinorésistance a été améliorée 6 semaines dans le groupe A [553].

❖ **Composition des selles après transplantation**

À ce jour le mécanisme d'action de la TMF sur la muqueuse intestinale est inconnu. En effet, peu d'études ont essayé d'analyser les selles avant et après TMF. Ces études n'ont pas permis d'identifier les microorganismes responsables de l'efficacité de la TMF. Il a été évoqué que l'usage de la sonde nasoduodénale est favorable au développement des *Firmicutes*, notamment leur spores qui germinent dans le tractus gastro-intestinal supérieur. L'implantation de la matière fécale par la voie rectale favorise la croissance des *Bacteroides*, dénaturés par l'acidité gastrique. Or, ces deux phylums sont déficitaires chez les patients MICI et les données sur la composition du microbiote humain ne mettent pas en lumière le poids de ces phylums sur l'homéostasie intestinale [554]. D'autres études ont employé des techniques moléculaires pour caractériser l'évolution du microbiote. Ces études ont démontré une réduction des *Firmicutes* et *Bacteroides* chez un patient atteint de DACD. Suite à la transplantation, il y a eu un changement rapide au niveau du microbiote, celui-ci tendant à être similaire au microbiote du donneur [555]. Par ailleurs, une autre étude prolongée sur 24

semaines a confirmé la similitude du microbiote du receveur avec celui du donneur et a montré une stabilité des microbiotes sur cette durée, prouvant que la modification du microbiote n'était pas transitoire à l'inverse des traitements par des probiotiques ou antibiotiques [556].

❖ Conclusion

La TMF apparaît comme une approche encourageante dans le traitement de nombreuses pathologies. Pourtant, sa pratique est encore peu acceptée dans l'arsenal médical et reste extrêmement restreinte de par le risque d'introduire de nouveaux agents pathogènes chez le receveur, ainsi que l'impact psychologique sur les malades. De façon surprenante les médecins seraient plus retissant que les patients à une telle méthode. En effet, 73 médecins interrogés 34% d'entre eux déclarent qu'ils ne seraient pas prêts à se lancer dans cette procédure. Par ailleurs, l'identification de donneurs sains, l'étude des mécanismes de l'efficacité et des mécanismes de la réponse immunologique de l'hôte permettront à l'avenir de rendre cette technique plus acceptable et réalisable en pratique clinique.

**L'APPORT DU PHARMACIEN
D'OFFICINE DANS LA PRÉSERVATION
DE L'EUBIOSE**

Pendant mon stage de 4^{ème} année dans une pharmacie, un patient m'a dit « Le pharmacien est l'ami de la famille ». Après consulter son médecin, le pharmacien d'officine est le spécialiste du médicament le plus proche et disponible que le patient peut rencontrer et avoir des éclaircissements à propos de son traitement. C'est lui le garant de la santé publique, la sensibilisation, l'éducation et le suivi thérapeutique. Sa proximité avec les malades, son accessibilité et sa disponibilité sur de longues plages horaires, son contact fréquent avec le public, sa relation de confiance auprès de public et ses capacités à conseiller et à persuader font du pharmacien un allié de choix.

A. les conseils d'or du bon usage des médicaments

Le médicament est un produit de consommation pas comme les autres. Il engage la santé et la vie, il présente aussi des risques, et des effets secondaires. En effet, aucun médicament n'est bon en soi. Il ne l'est que s'il est employé à bon escient et de bonne manière. Il existe des situations de sous-traitement, de sur-traitement, de non observance de traitement, voire de non pertinence de traitement. La priorité pour tous est donc le bon usage du médicament.

⇒ **La première règle d'or : Pour éviter les interactions des médicaments de prescription et/ou d'automédication, ne prenez pas de médicaments nouveaux sans avoir signalé votre traitement à votre médecin ou à votre pharmacien.**

a. Le bon usage des antibiotiques :

Comme nous l'avons vu précédemment, toute antibiothérapie doit être parfaitement indiquée et adaptée à la situation. Ainsi, le respect des recommandations actualisées est important pour réduire l'émergence de résistances aux antibiotiques. Le pharmacien d'officine est un acteur majeur en termes de santé publique et il a un rôle à jouer important dans la sensibilisation afin d'informer ses patients et leurs familles, les prescripteurs et ses collaborateurs des règles de bonnes pratiques des antibiotiques et dans la lutte contre les phénomènes de résistance. C'est même un devoir. Des campagnes d'information, avec une mise à disposition de supports tels que des affiches et des flyers au sein de la pharmacie, ne pourraient qu'aider le pharmacien dans ses missions [51,57] :

- Pendant la période périnatale, il faut éviter de donner à la mère des antibiotiques à large spectre. Il faut préserver la diversité du microbiote rectovaginal (étant le déterminant essentiel de la qualité de la flore bactérienne colonisatrice du nouveau-né).
- Limiter la prescription des antibiotiques à large spectre comme les céphalosporines de 3^{ème} génération et les aminosides aux enfants infectés et surtout aux nourrissons.
- N'essayez jamais d'acheter des antibiotiques sans ordonnance (en automédication).
- Ne conservez jamais d'antibiotiques pour un usage ultérieur.
- N'utilisez jamais les antibiotiques non utilisés provenant de traitements précédents.
- Ne partagez jamais vos antibiotiques non utilisés avec d'autres personnes.
- Il ne faut pas non plus exiger une antibiothérapie quand ce n'est pas nécessaire, par exemple pour un simple rhume ou pour une angine virale.
- Il ne faut pas renouveler des ordonnances contenant des antibiotiques sans que cela soit expressément mentionné.
- Respecter les posologies et les modalités d'administration susceptibles d'assurer des concentrations d'antibiotiques appropriées au site de l'infection. Le sous-dosage des antibiotiques favorise l'émergence de résistances bactériennes.
- Il faut prendre son traitement antibiotique aux heures et pendant la durée prescrites, sans l'arrêter trop tôt. Si le traitement est prescrit pour sept jours et qu'on l'arrête au bout de cinq jours seulement, il n'a éliminé qu'une partie des bactéries. Celles qui restent risquent de muter et de devenir résistantes à l'antibiotique utilisé.
- Préférer, parmi les antibiotiques à activité comparable, ceux ayant le spectre le plus étroit pour limiter l'impact sur la flore commensale.
- Limiter au maximum l'utilisation de l'amoxicilline-acide clavulanique, des céphalosporines et des quinolones, notamment dans les infections urinaires ou respiratoires.
- Ne pas utiliser une quinolone en traitement probabiliste si cette classe a été utilisée au cours des 6 derniers mois dans l'infection urinaire ou des 3 derniers mois dans l'infection respiratoire.
- Éviter au maximum les antibiotiques en application locale cutanée (risque de sélection de résistances).

- L'acide fusidique en monothérapie expose à un risque élevé de sélection de résistances.
- Une antibiothérapie prolongée favorise la sélection de souches résistantes. Privilégier les traitements courts avec réévaluation du choix initial au 3^{ème} jour.
- Il faut aller jusqu'au bout dans le traitement par antibiotique, si non la rechute est garantie.
- On n'associe jamais un antibiotique bactéricide à un antibiotique bactériostatique, risque d'antagonisme
- Enfin, il faut arrêter l'antibiotique d'une façon nette, et jamais progressivement.

Il est important de noter qu'une automédication sans éducation thérapeutique contribue à la multiplication de la résistance des bactéries. La surconsommation des antibiotiques est très inquiétante au Maroc. En effet, pendant mon stage de 4^{ème} année dans une pharmacie, j'ai remarqué un mésusage d'une pommade à base de chlortétracycline. C'est la fameuse (pommade jaune pour usage ophtalmique et dermatologique). Tout le monde l'achète pour une cause ou sans cause, sans solliciter l'avis du pharmacien. Plus pire que ça, certains patients avalent la pommade pour calmer ou réguler un trouble gastrique.

⇒ **La deuxième règle d'or : L'antibiotique ce n'est pas automatique**

b. Les médicaments probiotiques et compléments alimentaires :

Les probiotiques sont surtout utilisés en prévention et en adjuvant de traitement. Ils ont un effet bénéfique sur l'écologie des bactéries intestinales et préviennent l'apparition des pathogènes. Cependant, à l'heure actuelle, les spécialités probiotiques ayant le statut de médicament ne sont pas nombreuses, et ont pour indication essentielle et démontrée, la prise en charge des troubles diarrhéiques. Toutefois, des études cohérentes sont encore nécessaires avant d'établir des recommandations officielles, et de mettre sur le marché des médicaments contenant des probiotiques, prébiotiques ou une association symbiotique de ces deux derniers.

Au Maroc, il en existe un nombre réduit de médicaments probiotiques disponibles en pharmacie. L'intérêt de ces produits oblige le pharmacien d'avoir une connaissance précise de leurs utilités et risques pour les conseiller à bon escient. On peut citer par exemple :

- Médicaments probiotique : Ultralevure® : existe sous différentes formes (sachets et gélules) contient la souche *Saccharomyces boulardii* (adulte : 1 à 2 gélules 2 fois par jour. Enfant : 1 sachet 2 fois par jour) et Enterogermina® (suspension orale).

- Complément alimentaire : Prodefen® (1 sachet par jour) contient un mélange de 7 souches probiotiques et des prébiotiques FOS, Hygiaflore® (1 à 4 comprimés par jour) contient un mélange de plantes et des ferments lactiques, et Bion3® (comprimés) contient 3 souches probiotiques (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* et *Lactobacillus gasseri*)

Il appartient au pharmacien de vérifier les avantages et les inconvénients de la composition des produits par rapport à leur indication. Il doit faire une sélection parmi les différentes gammes des compléments alimentaires contenant des probiotiques et ne retenir que les produits sérieux et ne faisant pas état d'allégations thérapeutiques non justifiées. Ainsi, il est intéressant à noter que la résistance des souches est variable selon la forme galénique choisie. Par exemple : *Lactobacillus rhamnosus* GG ne résiste pas de la même manière en fonction de la forme galénique choisie (capsule de gélatine, tablettes, laits fermentés, sachets).

❖ **Conseils généraux sur la prise de probiotiques :**

➤ Actuellement on pensera à conseiller les probiotiques dans toutes les situations où le microbiote est en péril (troubles fonctionnels intestinaux, diarrhée, constipation, ballonnements, prise d'antibiotiques, période hivernale, chez les adultes et chez les enfants). Comme le dosage peut différer selon les indications, il faudra vraiment faire un interrogatoire au patient pour déterminer ses réels besoins.

➤ Il ne faut pas multiplier la prise des probiotiques, pour éviter tout risque de surdosage. Il faut respecter la dose quotidienne recommandée par le médecin ou conseillée par le pharmacien (un sachet une à 2 fois par jour).

- Il est recommandé de prendre les probiotiques à jeun trente minutes avant le petit déjeuner ou deux heures après un repas afin qu'ils ne restent pas trop longtemps dans l'estomac et rejoignent l'intestin le plus vite possible.
- Ne mélanger pas le médicament avec un liquide ou des aliments très chauds, glacés ou alcoolisés, ces conditions ne permettent pas de garantir l'action thérapeutique des probiotiques.
- Les probiotiques doivent être pris avec un grand verre d'eau.
- Il faut toujours apporter des probiotiques après une antibiothérapie pour restaurer le microbiote et puis enchaîner sur un traitement prébiotique pour l'entretenir.
- N'abusez pas de la consommation des anti-inflammatoires non stéroïdiens comme Ibuprofène, aspirine... ils augmentent la perméabilité intestinale.
- Certains probiotiques se conservent au réfrigérateur, cela permet d'assurer une meilleure conservation car le froid permet aux bactéries de rester en latence et de sortir de ce temps de latence une fois confrontés à des températures plus élevées dans notre organisme
- En application locale, les probiotiques aident à traiter les vaginites. Après un traitement antifongique, l'usage oral de probiotiques (au moins 5 milliards de bactéries par jour) ainsi que l'application locale d'une préparation de suppositoires de probiotiques diminuent les risques de rechute.

❖ **Précautions d'emploi et Contre indication :**

Les probiotiques sont en vente libre. Le risque que peuvent présenter les probiotiques comme toute automédication, est l'absence de diagnostic précis et l'aggravation des symptômes si le problème de santé au départ ne relevait pas des compétences des probiotiques. Par exemple, prendre des probiotiques lors d'une diarrhée ne représente aucun danger à condition de consulter si le symptôme persiste.

- L'utilisation des levures est déconseillée en cas de grossesse ou d'allaitement
- Ne pas utiliser sans avis médical en cas de nausées, de fièvre, de vomissements, de diarrhées contenant du sang ou de douleurs importantes au ventre.
- La pose de cathéter veineux central est contre-indiquée, risque de fongémie

➤ Ne pas utiliser sans avis médical en cas d'affaiblissement du système immunitaire dû à une maladie (sida, lymphome) ou à un traitement médical (corticothérapie, chimiothérapie, radiothérapie).

❖ **Effets secondaires :**

➤ Augmentation temporaire des gaz intestinaux chez certaines personnes. La levure de bière vivante peut causer des ballonnements et des gaz intestinaux. Si c'est le cas, on conseille de commencer avec de petites doses qu'on augmentera progressivement afin de donner le temps à l'organisme de sécréter les enzymes appropriés. Ainsi, il ne faut pas confondre la levure de bière *boulardii* séchée à froid qui est « vivante » et la levure de bière ordinaire rendue inactive par un séchage à haute température.

➤ Une consommation élevée de suppléments de probiotiques peut également provoquer une légère irritation intestinale chez certains en début de traitement.

⇒ **La troisième règle d'or : Si besoin, prendre des probiotiques**

B. Les conseils d'or en nutrition

L'alimentation est la première des médecines, elle reste le facteur inconditionnel de toute bonne santé. Bien se nourrir est ainsi la clé pour préserver son corps et éviter de nombreuses maladies. Il est intéressant à noter que les femmes passent régulièrement à la pharmacie que les hommes, près de deux fois plus. Le rôle du pharmacien est indispensable au comptoir, il est en première ligne pour accompagner, conseiller et informer efficacement toutes les femmes enceintes des avantages de l'allaitement maternel et de sa pratique. Un allaitement exclusif au sein est fortement recommandé à la naissance, pour nourrir le nouveau-né de colostrum pendant les premiers 6 mois au minimum. Le lait maternel constitue l'aliment idéal du nourrisson. Il est le mieux adapté à ses besoins spécifiques et le préserve des maladies. Il favorise une flore abondante composée essentiellement de bifidobactéries et de bactéries acidolactiques. Lorsque l'allaitement n'est pas possible ou la mère ne souhaite pas allaiter, des préparations lactées pour nourrissons seront proposées. Les laits de suite interviennent plus tard à partir de 6 mois, lorsque la diversification alimentaire a commencé. Enfin, les laits de

croissance peuvent être conseillés de 1 à 3 ans environ. Les laits de premier âge sont destinés à des nourrissons en bonne santé et nés à terme.

An niveau nutritionnel, on ne peut privilégier un lait par rapport à un autre sous prétexte qu'il serait mieux. En revanche, des modifications ou ajouts de composants dans la formule peuvent s'avérer très intéressants pour pallier à certains problèmes. Il peut s'agir de laits acidifiés, c'est-à-dire des laits auxquels on ajoute des probiotiques, des ferments lactiques notamment *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, pouvant éventuellement permettre de prendre en charge les coliques, les régurgitations ou encore la constipation ou diarrhée du nourrisson. Il est très intéressant d'ajouter des ferments lactiques aux laits riches en caséine. Trop de caséine aboutit à un transit ralenti et à une présence plus faible de *Bifidus* et de *Lactobacillus*. L'ajout des ferments lactiques permet donc de rétablir la carence en *Bifidus* et peut permettre de sécréter plus de sels biliaires et ainsi mieux digérer les lipides. Ainsi les probiotiques ajoutés permettent de renforcer les défenses immunitaires des nourrissons. Il est important de ne pas trop chauffer les laits contenant des probiotiques afin de préserver leur viabilité et leur efficacité. On peut citer par exemple les produits : Blédilait[®], Nursie AR[®], Picot[®] AR...

De plus, des prébiotiques et des symbiotiques peuvent également être ajoutés dans la composition des laits infantiles. D'ailleurs, les principaux prébiotiques ajoutés sont des FOS et des GOS qui semblent agir en stimulant la croissance des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium* présents au niveau intestinal. L'ajout de ces prébiotiques favorise une croissance normale et permet de stimuler l'immunité, et donc protéger l'enfant de phénomènes allergiques ou encore de la dermatite atopiques. L'effet protecteur des FOS et des GOS permettrait également d'éviter la survenue de divers épisodes infectieux gastro-intestinaux ou respiratoires et améliorerait la consistance des selles des nourrissons en cas de constipation. Leur supplémentation est cependant limitée, et ne doit pas dépasser 0,8g/100ml avec 90% de GOS à chaînes courtes, et 10% de FOS à chaînes longues. On peut citer par exemple les produits : Aptamil[®], Biomil[®] plus...

Par ailleurs, il est du ressort du pharmacien d'officine d'insister sur le fait qu'une alimentation équilibrée et variée chaque jour est indispensable. Il peut souligner l'intérêt de certains aliments :

- Manger des aliments contenant des probiotiques pour réparer son microbiote : yaourt, choucroute, cornichons, kéfir et olives fermentées.
- Manger des aliments riches en fibres « prébiotiques » pour nourrir son microbiote : légumineuses (haricots, pois chiche, lentilles..), céréales complètes sans gluten (riz, avoine..), oignons, poireaux et autres légumes racines, avocat, banane, poires et autres fruits de saison.

❖ Apprendre les bonnes habitudes alimentaires, votre pharmacien vous conseille de :

- Se laver les mains avant et après chaque repas.
- Respecter des horaires de repas réguliers.
- Respecter l'importance de chaque repas (nutritif le matin, équilibré à midi, léger le soir)
- Ne sauter pas le petit-déjeuner : Capital dans la préservation de l'équilibre alimentaire, le petit-déjeuner permet de reconstituer les réserves pour bien démarrer la journée. Composez-le idéalement d'un produit laitier allégé, de féculents, de fruits ou de jus de fruits frais.
- Boire beaucoup de liquide, au moins 6 à 8 grands verres de liquide par jour (eau, jus de fruits, lait écrémé, du thé). N'attendez pas d'avoir soif pour boire.
- Varier les modes de cuisson et utiliser selon votre tolérance les épices et aromates.
- Bannir le grignotage en respectant le temps de digestion 3 à 4 h entre les repas.
- Mastiquer le plus lentement possible, Ohsawa disait qu'il faut boire ses aliments et mastiquer ses boissons
- Diminuer votre consommation de fastfood, des aliments qui se préparent vite mais qui aussi se digèrent mal. Ces aliments ne contiennent presque pas de fibres
- Manger à sa faim, ni plus ni moins.
- Éviter les associations alimentaires néfastes au bon déroulement de la digestion :
Fruits et céréales : ne pas consommer de fruits crus au cours d'un repas contenant des céréales, les fruits crus doivent être pris de préférence entre les repas.
Produits laitiers fermentés et céréales (yaourt, fromage blanc, fromage fermenté) : idem

- Boire du thé pour les flavonoïdes qui, aident à réduire les risques de maladie cardiaque.
- Manger un fruit ou un légume orange tous les jours, les caroténoïdes protègent du cancer.
- Limiter votre consommation de viande rouge et de viandes transformées, il est recommandé de consommer la viande maximum 2 fois par semaine, et envisager de consommer le poulet, le poisson, les œufs et les champignons comme source de protéine.
- Commencer à lire les étiquettes sur la composition des aliments particulièrement le gras et le sucre, il faut éviter une forte consommation de sucres, surtout les céréales enrobées de sucre. Les cellules cancéreuses aiment le sucre.
- Manger moins de gâteaux et de biscuits, ils ont une haute teneur en gras et en sucre.
- Réduire votre consommation de sel pour maintenir la pression sanguine au bon niveau.
- Éviter les eaux gazeuses (trop alcalines) pendant les repas, qui en augmentant le pH de l'estomac diminuent l'action des enzymes gastriques.
- Varier les aliments, choisir des aliments les plus naturels possible, de préférence issus de l'agriculture biologique, sans additifs : de bonnes huiles riches en acides gras essentiels mais équilibrés en oméga 6, 9 et 3 (olive, colza, noix, chanvre),
- Consommer raisonnablement : des laitages, préférer ceux à base de chèvre, de brebis, ou les remplacer par du « lait » de soja, du « lait » d'amandes, de riz, des fruits secs et des graines oléagineuses,

⇒ **La quatrième règle d'or : Reprendre en mains son alimentation, c'est aussi se réapproprier sa puissance**

C. Les conseils d'or en hygiène de vie

Comme nous l'avons vu précédemment, le stress, le tabac, l'alcool et un sommeil perturbé, peuvent déséquilibrer les bactéries intestinales et provoquer des dysbiose. Dans ce cadre, le pharmacien d'officine peut être amené à recommander quelques thérapeutiques simples mais efficaces afin d'améliorer les conditions de vie. D'ailleurs, il est menu d'un arsenal thérapeutique très large en passant par la phytothérapie, l'aromathérapie, l'homéopathie, l'oligothérapie et les compléments alimentaires enrichis en minéraux (magnésium), acides aminés ou oméga 3.

- Respecter l'heure d'endormissement physiologique.
- Éviter les excitants le soir : thé, café, vitamine C, boissons gazeuses.
- Éviter les repas copieux au dîner, l'activité physique après 20h et la télévision dans la chambre à coucher.
- Arrêter la consommation d'alcool, c'est un poison et il peut être mortel.
- Cesser de fumer est un des meilleurs services que vous pouvez rendre à votre corps. Les gommes à mâcher et les timbres à la nicotine peuvent être conseillés.
- Se frictionner les mains avec un produit hydro-alcoolique est un geste de base de l'hygiène, mais il doit être fait avec modération.
- Il faut laisser les enfants jouer dehors et caresser les animaux : faire du jardinage, reprendre le contact physique avec la nature.
- Bouger et rester actif. Une activité physique telle que 30 minutes de marche vive par jour à la limite de la sueur, favorise l'équilibre, la santé et le péristaltisme intestinal. Il faut choisir une activité ou un sport que vous adorez, de façon à ce que ne soit jamais une corvée.
- Pratiquer les exercices de relaxation au moins 20 minutes par jour au calme. Par exemple : la méditation, le Yoga, le Tai-chi ou encore la sophrologie. Les bénéfices de la relaxation et des techniques apparentées résident dans la stabilisation de l'état d'homéostasie (balance sympatho-vagale) de sorte que les événements de vie stressants n'aient pas d'effets cumulatifs et seront parfaitement bien gérés par l'organisme.

❖ Quelques produits conseils pour la gestion du stress et du sommeil :

- En cas de troubles du sommeil, des tisanes ou des médicaments à base de plantes peuvent être conseillés par le pharmacien. Par exemple : Passiflore, Tilleul, Bigaradier, Coquelicot, Lavande, Aubépine.

Les plantes à activité anxiolytique : Rhodiola, Lavande, Ballote, Camomille, Pavot de Californie, Aubépine, Millepertuis.

Les plantes à activité sédatrice/calmane : Valériane, Passiflore, Mélisse, Thym,

La spécialité **Euphytose®**, contient une association de quatre plantes : -Extrait de Ballote (10 mg) -Extrait d'Aubépine (10 mg) -Extrait de Valériane (50 mg) -Extrait de Passiflore

(40 mg). Les comprimés doivent être avalés sans être croqués avec un verre d'eau ou une boisson chaude.

Pour les troubles de sommeil : Prendre une capsule au dîner et une au coucher chez l'adulte

Pour les états anxieux chez l'adulte : prendre un ou deux comprimés, trois par jour.

➤ Les huiles essentielles (HE) sont de plus en plus reconnues pour leurs bienfaits sur le bien-être et la santé. Elles peuvent être utilisées par voie orale, cutanée ou respiratoire.

- Par voie orale, les HE sont diluées sous forme de gélules ou mélangées à une cuillère à café de miel, d'huile végétale, ou déposées sur un sucre ou un comprimé neutre.
- Par voie cutanée, les HE sont diluées dans une huile végétale ou un gel neutre, et utilisées en bain ou en massage.
- Par voie respiratoire, l'HE peut être utilisée en inhalation sèche sur un mouchoir soit en inhalation humide grâce à un inhalateur.

Cependant il faut garder en mémoire les principales contre indications de ces HE. En effet, le pharmacien doit s'assurer qu'elles ne seront pas utilisées chez l'enfant de moins de trois ans (et moins de sept ans pour la voie orale et douze ans pour la voie respiratoire), chez les asthmatiques, au cours de la grossesse ou de l'allaitement et chez les personnes épileptiques ou ayant des antécédents et allergies.

Il existe des huiles essentielles fortement apaisantes et relaxantes très utilisées dans l'anxiété, la nervosité et l'endormissement difficile. Par exemple :

- L'HE de **Lavande** (*Lavandula angustifolia* Miller.), dotée d'un pouvoir sédatif sur le système nerveux. Elle est préconisée chez l'hypertendu anxieux de tempérament plutôt mélancolique. 2 gouttes sur l'oreiller peuvent aider à dormir.
- L'HE de **Marjolaine** (*Origanum majorana* L.) qui est douée d'une forte activité calmante, rééquilibrante de l'humeur. La marjolaine combattrait l'anxiété, les maux de tête et l'insomnie.
- L'HE de **l'oranger amer** (*Citrus aurantium* L) sédatif, relaxant et antispasmodique.

➤ L'homéopathie, la médecine personnalisée qui s'adapte à chaque patient selon leurs symptômes, sans effets secondaires, et sans risque d'accoutumance, peut également être conseillée. Parmi les médicaments homéopathiques spécifiques du stress on retrouve :

-Ignatia 15CH : pour les individus fréquemment soumis à des situations contraignantes, souvent sources de contrariété (choc affectif, une déception sentimentale, un deuil...) Dominant dans ce tableau les pleurs, les soupirs, une sensation de boule dans la gorge, nœud à l'estomac une instabilité émotionnelle avec alternance de rires et larmes. On peut aussi retrouver des palpitations, des douleurs cardiaques et des difficultés respiratoires. Amélioration par la distraction.

-Gelsemium 15CH : convient à un individu paralysé par son stress, éventuellement tremblant avec souvent un besoin impérieux d'uriner de façon répétitive, tendance diarrhéique avec aggravation à la chaleur.

-Staphysagria 15CH : pour les troubles qui surviennent à la suite d'une colère, d'une vexation, d'un sentiment d'injustice. Le sujet est submergé par un flot de ruminations anxieuses, pouvant compromettre la résolution d'une crise par un défaut de verbalisation. Le sommeil est perturbé par des cauchemars. Prendre Staphysagria quotidiennement peut aider à la résolution du conflit.

-Arnica Montana : en cas de stress causé par les ruptures affectives et correspondant aussi bien à un traumatisme physique que psychique.

-Argentum Nitricum 15CH : pour les sujets souvent pressés ou impatients, phobies multiples. La crise est dominée par des troubles digestifs à type de diarrhée et gastralgies, et des sensations vertigineuses.

-Opium 15-30CH: suite de peurs intenses et soudaines avec sidération, insomnie et constipation.

-Arsenicum Album : la crise anxieuse peut déclencher une crise d'asthme, avec anxiété majeure et peur de mourir, le tout survenant souvent vers minuit. Amélioré par la chaleur.

- Aconitum 15CH : peur sans objet, avec sensation d'oppression et de mort imminente de préférence vers minuit.

Ces remèdes sont à prendre très fréquemment, 5 granules toutes les dix minutes en début de crise, de préférence en haute dilution (15 ou 30 CH), à espacer lors de l'amélioration des symptômes, et à répéter une ou deux fois le lendemain. Nous pouvons également les conseiller à titre préventif.

La spécialité **Sédatif PC®**, une association de six souches (Abrus precatorius 6 CH, Aconitum napellus 6 CH, Atropa belladonna 6 CH, Calendula officinalis 6 CH, Chelidonium majus 6 CH et Viburnum opulus 6 CH). Prendre deux comprimés à sucer 3 fois par jour (matin, midi et soir) dans les états anxieux mineurs et dépressifs chez les adultes et enfants ainsi que dans les troubles du sommeil. La durée du traitement est d'une semaine à 15 jours.

La spécialité **Quiétude®** sirop, indiqué dans la nervosité passagère et trouble mineur du sommeil chez l'enfant de plus de 1 an. Une dose de 5 ml, à l'aide de la graduation godet-doseur (matin et soir). La durée maximale du traitement est de 10 jours. Pour les enfants de moins de 30 mois, l'avis du médecin est préconisé.

➤ Le magnésium est un minéral essentiel au bon fonctionnement de l'organisme humain. Il participe à plus de 300 réactions métaboliques dans le corps. Il joue un rôle clé dans la gestion du stress par son activité anxiolytique et antidépressive [672]. À l'officine, on peut conseiller différents produits comme **Magne B6®** avec 470 mg de lactate de magnésium soit 48 mg de magnésium et 5 mg de pyridoxine chlorhydrate par comprimé. Prendre 2 comprimés 2 à 3 fois par jour avec un grand verre d'eau pendant les repas 3 fois par jour. Il existe aussi des ampoules buvables, on peut citer par exemple : **Bemag®**, **Spasmag®**, **Uvimag®**

➤ Il a été confirmé qu'une carence en oméga-3 était impliquée dans de nombreux troubles de l'humeur. L'oméga-3 permet de ralentir la production de cortisol, d'augmenter le taux de sérotonine, de maintenir un taux régulier de dopamine et de diminuer le taux des cytokines. En pharmacie, il existe des compléments alimentaires à base d'oméga-3 sous forme de capsule d'huile de poisson (d'anchois, de sardine). Prendre 3 à 4 capsules par jour au milieu des repas en cure de 2 à 3 mois)

➤ Enfin, il faut rappeler que parler avec son pharmacien est tellement important. Il ne faut pas hésiter à poser des questions et à demander des explications pour mieux comprendre le traitement et éviter les erreurs. En plus, le pharmacien d'officine est un professionnel de santé soumis au secret professionnel.

⇒ **La cinquième règle d'or : Être en bonne santé ce n'est pas une destination, c'est un mode de vie**



PERSPECTIVES D'AVENIR

Il semble aujourd'hui s'établir un consensus quant à la nécessité de préserver le microbiote digestif afin de maintenir un équilibre hôte-bactérie. La période périnatale constitue un moment particulièrement crucial dans l'implantation de cette communauté bactérienne, compte tenu des conséquences évoquées quant à la survenue de pathologie à l'âge adulte. Une prescription d'antibiotiques plus raisonnée, un accouchement par voie basse plus indiqué et un allaitement au sein prolongé constituent les éléments de base pour optimiser le développement du microbiote intestinal du nouveau-né. Ainsi, l'utilisation excessive des antibiotiques, en particulier dans les pratiques de l'agriculture, ainsi que des divers produits chimiques nocifs, doit être réduite ou même interdite immédiatement si nous voulons freiner l'augmentation des maladies chroniques dans la plupart des pays.

Les découvertes récentes mettent en évidence une association forte entre les pathologies (métaboliques, intestinales, neurologiques...) et un changement de microbiote intestinal. La possibilité de manipuler ce microbiote pour préserver la santé apparaît une perspective séduisante et peut ouvrir de nouvelles stratégies thérapeutiques ou préventives prometteuses. Une adaptation des habitudes alimentaires pourrait aider à prévenir ou traiter le déclin fonctionnel du microbiote intestinal, et restaurer l'homéostasie entre microbiote et l'intestin. Ainsi, les probiotiques ou les prébiotiques sont utilisés de longue date pour tenter de restaurer une balance normale de l'écosystème intestinal. Ces domaines font encore l'objet d'intenses recherches pour obtenir des probiotiques adaptés à notre écosystème intestinal permettant de mieux préserver la santé. Sur le plan des perspectives d'avenir. Le développement de microorganismes génétiquement modifiés (MGM) pourrait constituer l'une des avancées majeures parmi les évolutions futures des probiotiques. Les MGM pourraient être utilisés comme vecteurs de principes actifs, ou de vaccins à ADN. L'administration de MGM vivants permettrait de faire synthétiser et délivrer certaines molécules actives au niveau des muqueuses. Ce concept ouvre la voie au développement de nouveaux types de traitements beaucoup plus ciblés qu'avec les souches probiotiques naturelles. Le MGM probablement le plus abouti à l'heure actuelle est un lactocoque sécrétant de l'IL-10. Il est probable qu'il sera très prochainement le premier probiotique recombinant à visée thérapeutique humaine sur le marché.

Outre les traitements traditionnels, il a été montré récemment que la transplantation de microbiote fécal fait partie des pistes thérapeutiques les plus étranges et prometteuses. On comprend l'intérêt croissant apporté à ce type de thérapie notamment depuis l'amélioration des connaissances sur le rôle complexe du microbiote. De plus, la démonstration formelle de l'efficacité de la TMF dans l'infection à *C.difficile* a favorisé l'engouement des scientifiques et cliniciens dans la poursuite des investigations et la recherche de nouvelles indications. Ainsi, la TMF pourrait devenir un des traitements de certaines maladies comme la sclérose en plaque, l'autisme, la maladie de parkinson, le syndrome de fatigue chronique, de stéato-hépatite non alcoolique, de stéatose hépatique non alcoolique, d'obésité, d'athérosclérose, de purpura thrombopénique idiopathique, de diabète sucré de type 2, de syndrome côlon irritable et de maladie inflammatoire de l'intestin.

A l'heure actuelle, la TMF est le seul traitement qui permet de restaurer un microbiote sain et diversifié en cas de dysbiose. Son efficacité en cas d'ICD n'est plus à démontrer. En revanche, la TMF n'est pas encore un traitement bien établi. Des études portant sur les problèmes pratiques (selles fraîches/congelées, choix du donneur...) doivent encore être menées avant qu'une réponse consensuelle et définitive ne puisse être apportée à ces questions. Aujourd'hui, une réglementation rigoureuse, mais pas trop contraignante est une priorité afin de minimiser le risque d'administration de suspension fécale à partir de donneurs non sélectionnés, à la maison, sans surveillance médicale. Actuellement, des formes plus « acceptables » de TMF sous forme de produits lyophilisés ou de gélules sont en cours de développement, en attendant de trouver d'autres moyens de moduler efficacement le microbiote intestinal. La possibilité de créer un microbiote synthétique composé de phylums nécessaires et suffisants est également envisagée pour éviter tout risque infectieux.

Malgré toutes les avancées sur la connaissance du microbiote intestinal humain, de nombreux points empêchent pour l'instant la mise en place de méthodes de diagnostic biologiques de la dysbiose en routine. En effet, au niveau phylogénétique, les techniques moléculaires de séquençage à haut débit sont encore du domaine de la recherche et leurs coûts, même s'il a baissé, restent importants. De plus, ces techniques requièrent du matériel onéreux et du personnel hautement qualifié. De nos jours, les techniques bactériologiques de

routine sont essentiellement des méthodes de culture de bactéries non adaptées à rechercher une dysbiose (80% de la flore est anaérobie, proportion importante de bactéries non cultivables), mais à dépister une infection aigüe. L'apparition de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, ayant de très bon résultat pour l'identification des germes, ne pourra pour l'instant pas être utilisée car réservée à des échantillons monomicrobiens.

Au-delà des problèmes techniques, se pose le problème de l'échantillonnage du microbiote intestinal. Comme nous l'avons vu dans la partie précédemment, la communauté microbienne est différente qu'on se place au niveau du mucus ou de la lumière du côlon. Cette dernière localisation présente par contre de fortes similitudes avec les selles. Dans la majorité des études du microbiote chez l'homme, les prélèvements étaient réalisés au niveau des selles qui présentent l'avantage d'être facilement accessibles alors que la flore mucale a été peu explorée. Il paraît primordial d'analyser le microbiote présent au niveau du mucus car les interactions hôtes-bactéries se réalisent à ce niveau entraînant inflammation et dysrégulation immunitaire.

Conclusion

La compréhension du lien entre le microbiote digestif et l'état de santé des individus est un élément incontournable. Les modifications du mode de vie et les changements dans l'environnement sont responsables des perturbations de son état d'équilibre, qui peuvent être associées à des états pathologiques. C'est bel et bien le cas à l'heure actuelle et c'est pour cause qu'il faut que le Pharmacien, en tant que professionnel de santé, ne doit pas seulement être attentif aux arguments publicitaires, mais il doit être vigilant et responsable. Sa formation lui permet de comprendre, d'analyser et de synthétiser avec esprit critique les publications spécifiques. Son rôle est central dans le conseil et particulièrement dans l'utilisation abusive des antibiotiques, et comme Al Razi a dit « Si tu peux soigner avec un médicament simple, ne soigne pas avec un médicament compliqué. Si tu peux soigner avec un aliment, ne soigne pas avec un médicament ».

Annexes

Annexe 1 : Les laits fermentés dans le monde entier [544]:

Près de 400 noms différents désignent le lait fermenté. Tous portent en eux un goût, une texture, une acidité, un savoir-faire spécifiques. **Au Maroc**, le lait fermenté est nommé **rayeb** ou **lben**

- **Afrique du sud** : Ammas, maas, inkomasi
- **Arménie** : katyk, mazun
- **Balkans** : kissel mleka, naja, yaourt
- **Balkans (montagnes)** : urgotnic
- **Brésil et Portugal** : logurte
- **Bulgarie** : yogurt, kisle mliako
- **Chine** : lait acide, hogormag (Mongolie antérieure)
- **Danemark** : ymer
- **Égypte et Soudan** : zabazy ou zabade
- **Égypte** : laban rayed, laban zeer, khad
- **Éthiopie** : irgo, ergo, ititu
- **Finlande** : viili, smétana
- **France** : lait ribot
- **Grèce** : yiaourti
- **Hongrie** : tarho, taho
- **Islande** : skyr
- **Inde** : dahi, dadhi, dahee, chhash, shrikhand, lassi
- **Iran et Arghanistan** : mast, dough, doogh
- **Irak** : roba, rob, liban arbeel, liban khater, mast, mas taw
- **Italie** : cieddu
- **Japon** : laits fermentés à partir de divers lactobacilles (ex : *L.bulgaricus*, *helveticus*, *casei shirota*)
-
- **Kenya** : ghee, iria ri matti, susa
- **Liban et pays arabes** : leban, laban, laban rayed
- **Malaisie** : tairu, taire
- **Mongolie** : tarang
- **Népal** : shosim, sho, thara, churpi
- **Niger** : nono
- **Norvège** : taette ou lait de cave
- **Russie** : donskeya, varenetes, kurunga, ryzhenka, guslyanka kéfir, tarag, koumiss, prostokvasha
- **Sahara** : aoulès, takammart
- **Sardaigne** : gioddu
- **Scandinavie** : filmjolk, fillbunke, surmelk, taettemjolk, tettemelk
- **Sicile** : mezzoradu
- **Somalie** : suusaac
- **Suède** : langfil, tattermjolk
- **Turkhistan** : busa
- **Yougoslavie** : gruzoniva
- **Zimbabwe** : mukaka wakakora ou zifa ou amasi
- **Partout ailleurs dans le monde** : yoghurt, yogurt, yaort, yaourti, yahourt, yaghourt
- **Pays du moyen-orient** : labneh

Annexe 2 : Composition bactérienne du Kéfir [544]:

Le kéfir renferme un nombre très élevé de germes. La majorité d'entre eux sont courants, mais certains ferments sont très spécifiques, et participent à l'élaboration des fameux « polysaccharides », sorte de gel protecteur. C'est le cas des *Lactobacillus brevis* par exemple. Par ailleurs, l'association lactobacilles+ levures fait du kéfir, en réalité un synbiotique.

Flore bactérienne typique des grains de Kéfir			
Lactobacilles (entre 62 et 69%)	Streptococcus lactoccus (entre 11 et 12%)	Levures (entre 16 et 20%)	Acetobacter
<i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. brevis</i> <i>Lb. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> <i>Lb. Casei</i> subsp. <i>pseudopantarum</i> <i>Lb. Paracasei</i> <i>subsp. paracasei</i> <i>Lb. cellobiosus</i> <i>Lb. delbrueckii</i> <i>subsp. lactis</i> <i>Lb. fructivorans</i> <i>Lb. helveticus</i> <i>subsp. lactis</i> <i>Lb. hilgardii</i> <i>Lb. kefir</i> <i>Lb. kefiranofaciens</i> <i>Lb. kefirgranum</i> <i>sp. nov</i> <i>Lb. parakefir sp.</i> <i>nov</i> <i>Lb. lactis</i> <i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactococci lactis</i> <i>subsp. lactis</i> <i>Lc. lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i> <i>Streptococci</i> <i>salivarius</i> subsp. <i>Thermophilus</i> <i>Strept. lactis</i> <i>Enterococcus</i> <i>durans</i> <i>Leuconastoc</i> <i>cremoris</i> <i>Leuc. mesenteroides</i>	<i>Candida Kefir</i> <i>C. Pseudotropicalis</i> <i>C. Rancens</i> <i>C. Tenuis</i> <i>Kluyveromyces</i> <i>Lactis</i> <i>Kluyveromyces</i> <i>Marxianus</i> <i>Var. Marxianus</i> <i>K. bulgaricus</i> <i>K. fragilis/marxianus</i> <i>Saccharomyces</i> <i>subsp. Torulopsis</i> <i>holmii</i> <i>Saccharomyces</i> <i>lactis</i> <i>Sacc. carlsbergensis</i> <i>Sacc. unisporus</i> <i>Debaryomyces</i> <i>hansenii</i> <i>Zygosaccharomyces</i> <i>rouxii</i>	<i>Acetobacter aceti</i> <i>A. rasens</i>

Annexe 3 : Questionnaire pour les donneurs de fèces destinés à une transplantation du matériel fécal.

DONNEES PERSONNELLES :

Nom du donneur _____
Date (jour où le questionnaire a été complété) : _____
Date de naissance ____/____/____ (jj/mm/aaaa)
Sexe masculin - féminin
Adresse : _____
Numéro de téléphone : _____
Adresse e-mail : _____

Répondez aux questions suivantes en entourant “oui” ou “non. Toutes les réponses sont tenues secrètes et ne seront pas transmises à une tierce personne. Veuillez répondre aux questions posées en toute honnêteté.

Actuellement...

1. Vous vous sentez bien / en bonne santé / en forme ? OUI / NON

2. Prenez-vous des médicaments pour l'une ou l'autre affection ? OUI / NON

Si oui, quel médicament prenez-vous pour le moment ?

3. Avez-vous une des affections ou plaintes suivantes ?

Syndrome du côlon irritable (intestin sensible, mal au ventre)	OUI / NON
Obstruction (constipation)	OUI / NON
Diarrhée	OUI / NON
Maladie de Crohn	OUI / NON
Colite ulcéreuse	OUI / NON
Maladie cœliaque (hypersensibilité au gluten)	OUI / NON
Perte sanguine dans les selles	OUI / NON
HIV-SIDA	OUI / NON
Affection maligne (cancer)	OUI / NON
Autre affection chronique	OUI / NON
Si oui, laquelle ?	_____

Durant les trois derniers mois

4. Avez-vous pris des antibiotiques (comprimés, sirop) ou vous en a-t-on administré (injection, perfusion) ? OUI / NON

5. Avez-vous été hospitalisé ? OUI / NON

6. Avez-vous manifesté des signes d'une infection (fièvre, vomissement, diarrhée, etc.) ? OUI / NON

7. Avez-vous été vacciné ou avez-vous reçu une injection ? OUI / NON

8. Quelle a été votre activité professionnelle durant cette période ?

Durant l'année écoulée (12 mois)

9. Avez-vous été hospitalisé ? OUI / NON

10. Avez-vous reçu une transfusion sanguine ou autres produits sanguins ? OUI / NON

11. Avez-vous subi une transplantation d'organe ou de tissu ? OUI / NON

12. Avez-vous été directement en contact avec le sang de quelqu'un d'autre ? OUI / NON 13. Avez-vous été piqué par une aiguille d'un patient ou d'une autre personne (accident de piqûre) ? OUI / NON

14. Avez-vous eu des contacts sexuels (protégés ou non protégés) avec une personne qui est VIH séropositive ou une personne atteinte du SIDA ? OUI / NON

15. Avez-vous eu des relations sexuelles avec une prostituée ou une personne qui accepte des relations sexuelles en échange d'argent ou de drogues ? OUI / NON

16. Avez-vous eu des relations sexuelles avec une personne qui, autrefois ou à ce moment, a utilisé des drogues au moyen d'aiguilles pour injection ? OUI / NON

17. Avez-vous eu des relations sexuelles avec une personne qui souffre d'hémophilie ou qui est traitée avec des facteurs de coagulation ou autres produits sanguins ? OUI / NON

18. Avez-vous eu des relations sexuelles avec un homme qui a des rapports sexuels avec un autre homme ou avec un homme bisexuel ? OUI / NON

19. Avez-vous eu des relations sexuelles avec une personne atteinte d'hépatite (inflammation du foie) ? OUI / NON

20. Avez-vous habité avec une personne atteinte d'hépatite (inflammation du foie) ? OUI / NON

21. Vous êtes-vous fait tatouer ? OUI / NON

22. Vous êtes-vous fait placer un piercing (par exemple dans le corps ou dans l'oreille) cette année ? OUI / NON

23. Avez-vous été traité cette année pour une MST (maladie sexuellement transmissible) comme la syphilis, la gonorrhée (chaude-pisse), des verrues génitales, un Chlamydia ? OUI / NON

24. Êtes-vous resté incarcéré dans une prison plus de 3 jours au cours de l'année écoulée ? OUI / NON

Durant les 3 années écoulées....

25. Avez-vous été malade à l'étranger et avez-vous dû prendre un traitement pour cela ? OUI / NON

Si oui, pour quelle affection ? _____

26. Avez-vous été hospitalisé à l'étranger ? OUI / NON

Si oui, pour quelle affection ? _____

Dans le passé (quelle que soit la période)....

27. Avez-vous séjourné en Grande-Bretagne plus de 3 mois entre 1980 et 1996 ? OUI / NON

28. Avez-vous séjourné pour une longue durée en Afrique ou dans une autre région tropicale ? OUI / NON

29. Avez-vous été refusé comme donneur de sang ? OUI / NON

Si oui, pourquoi ? _____

30. Avez-vous reçu une transfusion sanguine ou d'autres produits sanguins ? OUI / NON

Si oui, en quelle année et dans quel pays ? _____

31. Avez-vous utilisé des drogues que vous vous êtes injectées à l'aide d'une aiguille? OUI / NON

32. Avez-vous reçu des injections qui n'ont pas été prescrites par un médecin ? OUI / NON

33. Avez-vous reçu des injections d'hormone de croissance ? OUI / NON

34. Avez-vous été traité pour une des maladies suivantes :

Hépatite virale (inflammation du foie, jaunisse)	OUI / NON
Affection maligne	OUI / NON
Leucémie ou maladie du sang	OUI / NON
Maladie auto-immune (rhumatisme, lupus, sclérose en plaques, etc.)	OUI / NON
Autisme	OUI / NON
Syndrome de la fatigue chronique et/ou fibromalgie	OUI / NON
Diabète sucré	OUI / NON
Corpulence (obésité)	OUI / NON
Tuberculose	OUI / NON

35. Avez-vous été opéré au niveau du tube digestif (par exemple enlèvement de l'appendice, de la vésicule biliaire, diminution de l'estomac, bypass) ? OUI / NON

36. Avez-vous subi une opération d'amaigrissement ? OUI / NON

37. Avez-vous travaillé comme prostitué(e) ? OUI / NON

38. Avez-vous eu la malaria ? OUI / NON

39. Quel est votre poids en kg ? _____ kg

40. Quelle est votre taille ? _____ m

41. Y-a-t-il encore des choses concernant votre santé que vous souhaitez mentionner ? OUI / NON

Si oui, lesquelles ? _____

Je soussigné, _____ déclare que les données cidessus sont vraies.

Date : ____/____/20____

Signature :

RÉSUMÉ

Titre : Microbiote digestif et santé humaine
Auteur : Majdoub Fatima zahra
Mots clés : Microbiote digestif – Dysbiose -Prébiotique – Probiotique - Transplantation de microbiote fécal

En quelques années l'étude du microbiote digestif et de son incidence sur la santé humaine est devenue un domaine de recherche majeur. Environ 100 000 milliards de bactéries sont dénombrés dans le tube digestif, soit 10 fois plus que de cellules humaines.

Le microbiote digestif est un écosystème complexe dont l'implantation, dans les premières semaines de la vie semble constituer une période critique de programmation du système immunitaire. Il exerce de nombreuses fonctions associées au bien être de l'homme. Sa grande diversité lui permet d'assurer un large panel de missions essentielles allant du métabolisme à la protection contre les pathogènes. Une modification de l'équilibre de la composition du microbiote peut provoquer des effets indésirables pour l'hôte et ce déséquilibre peut être associé à des états pathologiques.

Différentes techniques d'analyses performantes sont utilisées pour caractériser l'abondance et/ou la diversité de cet écosystème. La métagénomique a permis des avancées très importantes dans la connaissance de cet écosystème du point de vue de sa composition et de sa dynamique en terme de diversité d'espèces. Ces techniques ont pu identifier des approches pour moduler les populations microbiennes, afin d'optimiser la santé et le bien-être de chacun. De nouvelles stratégies thérapeutiques peuvent être désormais envisagées, comme une adaptation des habitudes alimentaires et/ou l'administration de probiotiques et prébiotiques. Par ailleurs, la transplantation de microbiote fécale serait l'une des thérapies les plus radicales pour restaurer une écologie microbienne afin de corriger une dysbiose intestinale.

Le pharmacien d'officine a un rôle indispensable dans le conseil, l'orientation et l'éducation thérapeutique de ses patients. Il doit souligner qu'un usage abusif des antibiotiques est associé à une altération durable du microbiote intestinal.

ABSTRACT

Title : Digestive microbiote and human health

Keywords : Digestive microbiota – Dysbiosis - Prebiotic – Probiotic – Faecal microbiota transplantation

Written by : Fatima zahra Majdoub

In recent years the study of the digestive microbiota and its impact on human health has become a major area of research. Approximately 100000 billion bacteria are counted in the digestive tract, 10 times more than human cells.

The gastrointestinal microbiota constitutes a complex ecosystem. Its establishment within the first weeks of life appears to constitute a critical period of programming of the immune system. It performs various functions related to the welfare of man. Its diversity allows it to provide a wide range of essential tasks ranging from metabolism to protection against pathogens. A change in the balance of the composition of the microbiota can cause side effects in the host and this imbalance may be associated with disease states.

The analysis techniques used to characterize the abundance and / or diversity of this ecosystem are highly efficient. Metagenomics has very significant advances in the knowledge of this ecosystem from the perspective of its composition and its dynamics in terms of species diversity. These techniques could identify approaches for modulating the microbial populations in order to optimize the health and well-being. New therapeutic strategies can now be considered as an adaptation of dietary habits and / or administration of probiotics and prebiotics. In addition, fecal microbiota transplantation would be one of the most radical therapies to restore microbial ecology in order to correct an intestinal dysbiosis.

The pharmacist has a central role in the Guidance, Counseling and therapeutic education of patients. He must emphasize that misuse of antibiotics is associated with a lasting alteration of the intestinal microbiota.

ملخص

العنوان : بكتيريات الجهاز الهضمي و صحة الإنسان
الكاتبة : فاطمة الزهراء مجدوب
الكلمات الأساسية : بروبيوتيك – بكتيريات الجهاز الهضمي- بريبيوتك - زرع البكتيريات البرازية_ - خلل في توازن البكتيريا

في السنوات الأخيرة أصبحت دراسة البكتيريات في الجهاز الهضمي وأثرها على صحة الإنسان مجالا رئيسيا للبحث. فما يقارب الـ 100000 مليار بكتيريا موجودة في الجهاز الهضمي وعددها يفوق 10 مرات عدد الخلايا البشرية.

البكتيريات المعوية هي عبارة عن نظام بيئي معقد، فمرحلة التطور في الأسابيع الأولى من الحياة تعد فترة مهمة في برمجة الجهاز المناعي. وهذه البكتيريات تقوم بالعديد من المهام المتعلقة بصحة الإنسان. تنوعها يسمح بتوفير مجموعة واسعة من المهام الأساسية بدء من عملية التمثيل الغذائي الى الحماية ضد مسببات الأمراض. و أي خلل في التوازن البكتيري يسبب اضطرابات خطيرة مرفوقة بحالات مرضية .

يمكن استخدام عدة تقنيات تحليل مختلفة و ذات كفاءة عالية لتمييز وفرة و / أو تنوع هذا النظام البيئي. فقد مكن علم الجينوم الفوقي من تحقيق تقدم هام جدا في معرفة هذا النظام البيئي من منظور تكوينه وديناميكيته من حيث تعدد الأنواع. هذه التقنيات مكنت من تحديد نهج لتعديل البكتيريات من أجل تحسين صحة كل فرد. استراتيجيات علاجية جديدة يمكن اعتمادها مثلا ضبط العادات الغذائية و / أو تقديم البروبيوتيك والبريبيوتك. و من جهة أخرى ، فإن زراعة البكتيريات البرازية ستصير من العلاجات الأكثر فعالية لاستعادة البيئة الميكروبية لتصحيح الخلل البكتيري في الأمعاء.

يلعب الصيدلي دورا مهما في الإرشاد و الاستشارة والتعليم العلاجي للمرضى. ويجب أن يؤكد أن سوء استخدام المضادات الحيوية يسبب خللا دائما في توازن البكتيريا المعوية .

**RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE ET
WEBOGRAPHIQUE**

- [1] Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *An rev microbio* 1977 ; 31: 107_33
- [2] Xu J, Gordon JI. Honor the symbionts. *Proc Nat Acad Sci USA. PNAS* 2003 ; 100(18): 10452_9
- [3] Ottman N, Smidt H, De Vos WM, BELZER C. The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front Cell Inf Microbio* 2012; 2:104
- [4] Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science NY* 2005 ; 308(5728): 1635_8
- [5] Suau A, et al. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *App environ microbio* 1999 ; 65 :4799_807
- [6] Hawrelak JA, Myers SP. The causes of intestinal dysbiosis: a review. *Altern Med Rev* 2004 ; 9: 180_97
- [7] Frontier S, Pichot-Viale D. *Ecosystèmes. Structure, fonctionnement, évolution*. Dunod, Paris 1998
- [8] Shulman ST, Friedmann HC, Sims RH. Theodor Escherich: the first pediatric infectious diseases physician? *Clin Infect Dis* 2007; 45(8) : 1025_9
- [9] Escherich T. Die Darmbakterien des Neugeborenen Und Sauglings. *Fortschr.Med* 1885; 3:515_22
- [10] Metchnikoff I. *Prolongation of life: Optimistic studies*. London: Heinemann, 1907
- [11] Conly JM, Stein K, Worobetz L, Rutledge-Harding S. The contribution of vitamin K2 (menaquinones) produced by the intestinal microflora to human nutritional requirements for vitamin K. *Am J Gastroenterol* 1994;89:915_23.
- [12] Shearer MJ. Vitamin K. *Lancet* 1995;345(8944):229_34
- [13] Savage DC. Microbial biota of the human intestine: a tribute to some pioneering scientists. *Current Issues in Intestinal Microbiology* 2001; 2(1) :1-15
- [14] Holdeman LV, Moore WE. Roll-tube techniques for anaerobic bacteria. *Am J Clin Nutr* 1972; 25(12): 1314_7
- [15] Moore WE, Holdeman LV. Identification of anaerobic bacteria. *Am J Clin Nutr* 1972; 25(12): 1306_13.
- [16] Finegold SM, Sutter VL. Fecal flora in different populations, with special reference to diet. *Am J Clin Nutr* 1978; 31(10):S116_22

- [17] Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004 ; 118 :229_41
- [18] Backhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(44):15718_23.
- [19] Woese CR, Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci U SA* 1990 ; 87: 4576_9
- [20] Woese CR. Bacterial evolution. *Microbio Rev* 1987 ; 51(2): 221_71
- [21] Zoetendal EG, von Wright A, Vilpponen-Samela T, Ben-Amor K, Akkermans AD, de Vos WM. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 3401_7
- [22] Franks AH, Harmsen HJ, Raangs GC, Jansen GJ, Schut F, Welling GW. Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. *App Environ Microbio* 1998; 64(9): 3336_45
- [23] Wikoff WR, Anfora AT, Liu J, Schultz PG, Lesley SA, Peters EC. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. *Proc Nat Acad Sci USA* 2009; 106(10): 3698_703
- [24] Bjørn Nielsen H et al. A method for identifying metagenomic species and variable genetic elements by exhaustive co-abundance binning. *Nat Biotech* 2014.
- [25] Metagenomics of the human intestinal tract. <http://www.metahit.eu>
- [26] Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, and al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464(7285): 59-65.
- [27] <http://commonfund.nih.gov/hmp/index>
- [28] Human Intestinal Microbiome in Obesity and Nutritional Transition, <https://www.jouy.inra.fr/uepsd>
- [29] <http://www.cihr-irsc.gc.ca/e/39951.html>
- [30] Thibodeau GA, Patton KT. *Anatomy and physiology*. St. Louis, MO: Mosby. 2002: 1354_72.
- [31] Sherwood L. l'appareil digestif. (Chap. 15) dans *Physiologie humaine*. 2^{ème} éd. Bruxelles : boeck ; 2006.

- [32] Reed KK, and Wickam R. Review of the gastrointestinal tract: from macro to micro. *Seminars in oncology nursing* 2009; 25(1): 3-14.
- [33] Porth C, Hannon AR, et al. Structure and function of the gastrointestinal system. (chap.36) dans *Porth physiology*. 1ère éd. London : Lippincott Williams & Wilkins ; 2009.p.858-861
- [34] Ganong W. *physiologie médicale*. 2èmeéd. Bruxelles : De Boeck Et larcier s.a. 2005.
- [35] Swidsinski A, Loening-Baucke V, Kirsch S, Doerffel Y. Functional biostructure of colonic microbiota (central fermenting area, germinal stock area and separating mucuslayer) in healthy subjects and patients with diarrhea treated with *Saccharomyces boulardii*. *Gastroenterol Clin Biol* 2010; 34:S79- S92.
- [36] Moreau D. Gastrointestinal system. In: *Anatomy and Physiology*. 2nd ed. Norristown: Lippincott Williams & Wilkins. 2002; p.130-3
- [37] Filleron A, Jumas-Bilakb E. Implantation du microbiote intestinal chez l'enfant : ontogenèse d'une niche écologique. *Revue Francophone des Laboratoires* 2015; 469: 35-43
- [38] Spor A, Koren O, and Ley R. Unraveling the effets of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011 ; 9: 279_90
- [39] Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota-masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol* 2013 ; 11(4): 227-238.
- [40] Blaser M, Bork P, Fraser C, Knight R, Wang J. The microbiomeexplored: recent insights and future challenges. *Nature RevMicrobiol* 2013;11:213_7
- [41] Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005 ; 307 : 1915_20.
- [42] Corthier G. *Bonnes bactéries et bonne santé*. Versailles: Éd. Quae INRA 2011
- [43] Bourlioux P, et al. Pourquoi la flore intestinale a-t-elle vocation à devenir médicament? *Ann Pharm Fr* 2014
- [44] Turnbaugh PJ, Gordon JI. The cores gut microbiome, energy balance and obesity. *J Physiol* 2009; 587:4153_8.
- [45] Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol Rev* 2010 ; 90 :859-904
- [46] Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:1035S_45S
- [47] Cibik R, Marcille F, Corthie G, Dore J. Bacterial intestinal flora: development characteristics and influence of the type of feeding. *Archives de pédiatre* 2004 ; 11 : 573_5

- [48] Jiménez E, Martín ML, Martín R, Odriozola, JM, Olivares M, Xaus J. Is meconium from healthy newborns actually sterile?. *Res Microbiol* 2008; 159 : 187_93.
- [49] Clemente JC, Ursell LK, Parfery LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health : an intergrative view. *Cell* 2012 ; 148 :1258_70
- [50] Orrhage K, Nord CE. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. *Acta Pediatr Suppl* 1999 ; 88:47-57
- [51] Gras-Le Guen C, Launay E, Colas H, Potel G, Caillon J. Intestinal microbiota and perinatal antibiotic treatment. *J Anti infect* 2011;13 :103_8
- [52] Campeotto F, Waligora-Dupriet A J, Doucet-Populaire F, Kalach N, Dupont C, et Butel M J. Establishment of the intestinal microflora in neonates. *Gastroentéro Clin Bio* 2007; 31(5): 533_42
- [53] Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Adv Pediatr* 1999;46:353_82
- [54] Lepage P. Le microbiote intestinal humain : interactions avec l'hôte et dysfonctions. *Feuillets de Biologie* 2015 ; 323 :41_8
- [55] Mandar R, Mikelsaar M. Transmission of mother's microflora to the new born at birth. *Biol Neonate* 1996 ; 69 : 30_5.
- [56] Dominguez-Bello et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *PNAS* 2010 ; 107(26) : 11971_5
- [57] Langhendries JP. Colonisation bactérienne de l'intestin dans l'enfance : pourquoi y accorder autant d'importance? *Archives de pédiatrie* 2006 ; 13 :1526_34
- [58] Knol J, Scholtens P, Kafka C, et al. Colon microflora in infants fed formula with galacto- and fructo-oligosaccharides: more like breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40:36-42
- [59] Palmer C, Bik EM, Digiulio DB, Relman DA, and Brown PO. Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLoS biology* 2007; 5(7): 1556_73
- [60] Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125:1401_12
- [61] Björkstén B, Naaber P, Seep E, et all. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy*. 1999 ; 29 : 342_6
- [62] Midtvedt AC, Midtvedt T. Production of Short Chain Fatty Acids by the Intestinal Microflora During the First 2 years of Humane Life. *J Ped Gastroenterol* 1992 ; 15 : 395-403
- [63] Rambaud JC, Buts JP, Corthier G, & Flourié B. Flore microbienne intestinale: Physiology et Pathologies digestives. PARIS: John Libbey Eurotext 2004.p.19-20.

- [64] Franzosa EA, Huang K, Meadow JF, Gevers D, Lemon KP, Bohannon BJM, Huttenhower C, Identifying personal microbiomes using metagenomics codes. PNAS 2015; 1-9
- [65] Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, Braesco V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host : report on the Danone symposium the intelligent intestine. Am J Clin Nutr 2003; 78:675_83
- [66] Raibaud P. Main unsolved problems in human gastrointestinal tract microecology. Microecol Ther 1996; 24: 1-9.
- [67] Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. Cell 2006; 4:837_48.
- [68] Dave M, Higgins PD, Middha S, Rioux KP. The human gut microbiome: current knowledge, chalenges, and future direction. Transl Res 2012; 160(4):246_57
- [69] Ahn J, Yang L, Paster BJ, et al. Oral microbiome profiles: 16S rRNA pyrosequencing and microarray assay comparison. PLoS One 2011; 6:e22788.
- [70] Pei Z, Bini EJ, Yang L, Zhou M, Francois F, Blaser MJ. Bacterial biota in the human distal esophagus. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101:4250_5
- [71] Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, and Huis in't Veld JH. Overview of gut flora and probiotics. Inter J food microbio 1998; 41(2): 85-101
- [72] Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, et all. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103:732_7
- [73] Porter EM, Bevins C L, Ghosh D, and Ganz T. The multifaceted Paneth cell. Cell molec life sciences 2002; 9(1): 156_70.
- [74] Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, and al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. Brit j nutr 1998; 80(1): S147_71
- [75] O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ.EMBO Rep 2006; 7: 688_93
- [76] Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. Proc Natl Acad Sci USA 2007 ; 104: 13780_5
- [77] Jansen GJ, Wildeboer-Veloo AC, Tonk RH, Franks AH, and Welling GW. Development and validation of an automated, microscopy-based method for enumeration of groups of intestinal bacteria. J Microbiol Methods 1999 ; 37 : 215_21
- [78] Sghir A, Gramet G, Suau A, Rochet V, Pochart P, Doré J. Quantification of bacterial groups within human fecal flora by oligonucleotide probe hybridization. Appl Environ Microbiol 2000 ; 66 : 2263_6

- [79] Rigottier-Gois L, Le Bourhis AG, Gramet G, Rochet V, and Doré J. Fluorescent hybridisation combined with flow cytometry and hybridisation of total RNA to analyse the composition of microbial communities in human faeces using 16S rRNA probes. *FEMS Microbiology Ecology* 2003 ; 43 : 237_45
- [80] Seksik P, Rigottier-Gois L, Gramet G, Sutren M, Pochart P, Marteau P, et al. Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut* 2003 ; 52 (2) : 237_42
- [81] Lay C, Sutren M, Rochet V, Saunier K, Dore J, and Rigottier-Gois L. Design and validation of 16S rRNA probes to enumerate members of the *Clostridium leptum* subgroup in human faecal microbiota. *Environ Microbiol* 2005 ; 7: 933_46
- [82] Harmsen HJM, Wildeboer-Veloo ACM, Grijpstra J, Knol J, Degener JE, and Welling GW. Development of 16S rRNA-Based Probes for the *Coriobacterium* Group and the *Atopobium* Cluster and Their Application for Enumeration of *Coriobacteriaceae* in Human Feces from Volunteers of Different Age Groups. *Appl Environ Microbiol* 2000 ; 66 : 4523_27
- [83] Hayashi H, Takahashi R, Nishi T, Sakamoto M, Benno Y. Molecular analysis of jejunal, ileal, caecal and recto-sigmoidal human colonic microbiota using 16S rRNA gene libraries and terminal restriction fragment length polymorphism. *J Med Microbiol* 2005;54:1093_101
- [84] Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes : the unseen majority. *Proc Acad Sci USA* 1998; 95: 6578_83
- [85] Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012 ; 486(7402): 207_14
- [86] Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. *Nature* 2007;449: 804_10
- [87] Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473:174_80
- [88] Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N, Peters WHM, Roelofs R, et al. Towards the Human Colorectal Cancer Microbiome. *PLoS ONE* 2011 ; 6(5): e20447
- [89] Walter J, Ley R. The human gut microbiome: ecology and recent evolutionary changes. *Ann Rev Microbio* 2011; 65: 411_29
- [90] Ouwerkerk JP, De Vos WM, Belzer C et al. Glycobiome: Bacteria and mucus at the epithelial Interface. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2013 ; 27 :25-38
- [91] Willing BP, Dicksved J, Halfvarson J, Andersson AF, Lucio M, Zheng Z, et al. A pyrosequencing study in twins shows that gastrointestinal microbial profiles vary with inflammatory bowel disease phenotypes. *Gastroenterol* 2010 ; 139(6): 1844_54

- [92] Sina C, Lipinski S, Gavrilova O, Aden K, Rehman A, Till A, and al. Extracellular cathepsin K exerts antimicrobial activity and is protective against chronic intestinal inflammation in mice. *Gut* 2013; 62(4): 520_30
- [93] Van den Abbeele P, Gérard P, Rabot S, Bruneau A, El Aidy S, Derrien M, et al. Arabinoxylans and inulin differentially modulate the mucosal and luminal gut microbiota and mucin-degradation in humanized rats. *Environ microbio* 2011; 13(10): 2667_780
- [94] Nava GM, Friedrichsen HJ, Stappenbeck TS. Spatial organization of intestinal microbiota in the mouse ascending colon. *ISME J* 2011 ; 5(4): 627_38
- [95] Zoetendal EG, Ben-Amor K, Harmsen HJ, Schut F, Akkermans AD, De Vos WM. Quantification of uncultured *Ruminococcus obeum*-like bacteria in human fecal samples by fluorescent in situ hybridization and flow cytometry using 16S rRNA targeted probes. *Appl Environ Microbiol* 2002 ; 68: 4225_32
- [96] Lepage P, Seksik P, Sutren M, De la Cochetiere MF, Jian R, Marteau P et al. Biodiversity of the mucosa-associated microbiota is stable along the distal digestive tract in healthy individuals and patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2005 ; 11: 473_80
- [97] Marteau P, Pochart P, Doré J, Béra-Maillet C, Bernalier A, Corthier G. Comparative study of bacterial groups within the human cecal and fecal microbiota. *Appl Environ Microbiol* 2001 ; 67 :4939_42
- [98] Gillevet P, Sikaroodi M, Keshavarzian A, Mutlu EA. Quantitative assessment of the human gut microbiome using multitag pyrosequencing. *Chem Biodivers* 2010 ; 7:1065_75
- [99] Walker AW, Duncan SH, Harmsen HJM, Holtrop G, Welling GW, Flint HJ. The species composition of the human intestinal microbiota differs between particle-associated and liquid phase communities. *Environ Microbiol* 2008;10:3275_83
- [100] Coudeyras S, Forestier C. Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine. *Rev can microbiol* 2010 ; 56 :611_50
- [101] Zoetendal EG, Rajilic-Stojanovic M, de Vos WM. High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. *Gut* 2008 ; 57 :1605_15
- [102] Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:16731_6
- [103] 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* 2009;15:1183_9
- [104] Duncan SH, Louis P, Flint HJ. Cultivable bacterial diversity from the human colon. *Let App Microbiol* 2007 ; 44(4) : 343_50

- [105] Ventura M, Canchaya C, Tauch A, Chandra G, Fitzgerald GF, and al. Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. *Microbiol Molec Bio Rev* 2007; 71(3): 495-548
- [106] Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, De Vos WM. *Akkermansia muciniphila* gen nov sp nov. a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Inter J Syst Evol Microbiol* 2004; 54(5): 1469_76
- [107] Zoetendal EG, Plugge CM, Akkermans ADL, De Vos WM. *Vectivallis vadensis* gen nov, sp nov, a sugar-fermenting anaerobe from human faeces. *Inter J Syst Evol Microbiol* 2003 ; 53(1) : 211_5
- [108] Boone DR, Castenholz RW. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2^{ème} éd. New York : Springer-Verlag. 2001
- [109] Dridi B, Raoult D, Drancourt M. Archaea as emerging organisms in complex human microbiomes. *Anaerobe* 2011 ; 17(2): 56-63
- [110] Brochier-Armanet C, Boussau B, Gribaldo S, Forterre P. Mesophilic Crenarchaeota: proposal for a third archaeal phylum, the Thaumarchaeota. *Nat rev* 2008 ; 6: 245_52
- [111] Nam YD, Chang HW, Kim KH et al. Bacterial, archaeal, and eukaryal diversity in the intestines of Korean people. *J Microbiol* 2008 ; 46(5): 491-501
- [112] Ott SJ, Kühbacher T, Musfeldt M, Rosenstiel PL, Hellmig S, Rehman A, et al. Fungi and inflammatory bowel diseases: Alterations of composition and diversity. *Scand J Gastroenterol* 2008 ; 43(7): 831_41
- [113] Scanlan PD, Shanahan F, O'Mahony C, et Marchesi JR. Culture-independent analyses of temporal variation of the dominant fecal microbiota and targeted bacterial subgroups in Crohn's disease. *J Clin Microbiol* 2006 ; 44(11): 3980_8
- [114] Scanlan PD, Shanahan F, Marchesi JR. Human methanogen diversity and incidence in healthy and diseased colonic groups using mcrA gene analysis. *BMC Microbiol* 2008 ; 8: 79
- [115] LaTuga MS, Ellis JC, Cotton CM, Goldberg RN, Wynn JL, and al. Beyond bacteria: a study of the enteric microbial consortium in extremely low birth weight infants. *PLoS One* 2011 ; 6: e27858
- [116] Scanlan PD, Marchesi JR. Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota: qualitative assessment using culture-dependent and-independent analysis of faeces. *ISME J* 2008; 2(12):1183_93
- [117] Marchesi JR. Prokaryotic and eukaryotic diversity of the human gut. *Adv app microbiol* 2010 ; 72: 43-62
- [118] Breitbart M, Hewson I, Felts B, Mahaffy JM, Nulton J, and al. Metagenomic analyses of an uncultured viral community from human feces. *J Bacteriol* 2003 ; 185(20): 6220_3

- [119] Breitbart M, and al. Viral diversity and dynamics in an infant gut. *Res Microbiol* 2008; 159(5): 367_73
- [120] Angly F, Tyson G. Are divergent viral communities controlling individual gut microbiota? *M/S* 2011 ; 27(3): 229_31
- [121] Reyes A, and al. Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature* 2010; 466(7304): 334_8
- [122] Lederberg J, McCray A. Ome sweet 'omics : A genealogical treasury of words. *The Scientist* 2001; 15:8
- [123] Corthier G, Doré J. A new era in gut research concerning interactions between microbiota and human health. *Gastroentérol Clin Bio* 2010; 34 (1): S1-6
- [124] Nelson KE, Weinstock GM, Highlander SK, Worley KC. A catalog of reference genomes from the human microbiome. *Science* 2010 ; 328: 994_9
- [125] Sokol H. Microbiote, ce qu'il faut savoir. *Colon Rectum* 2014; 8:136_40
- [126] Neish AS. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterol* 2009 ; 136 : 65-80
- [127] Leclerc M, Juste C, Blottière H, Doré D. Le microbiote: microbiote intestinal : un univers méconnu. *Cah Nutr Diét* 2007; 42(2): 2S22_7
- [128] Zoetendal EG, Akkermans AD, de Vos WM. Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and hostspecific communities of actives bacteria. *Appl Environ Microbiol* 1998 ; 64(10) :3854_59
- [129] Vanhoutte T, Huys G, De Brandt E, Swings J. Temporal stability analysis of the microbiota in human feces by denaturing gradient gel electrophoresis using universal and group-specific 16S rRNA gene primers. *FEMS Microbiol Ecol* 2004; 48: 437_46.
- [130] Turnbaugh PJ, Stintzi A. Human health and disease in a microbial world. *Front Microbiol* 2011 ; 2:190
- [131] Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, and al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012;489(7415):220_30
- [132] Relman DA. The human microbiome : ecosystem resilience and health. *Nutr Rev* 2012;70(1) :S2-9
- [133] McCartney AL, Wenzhi W, Tannock GW. Molecular analysis of the composition of the bifidobacterial and lactobacillus microflora of humans. *Appl Environ Microbiol* 1996 ; 62 : 4608_13

- [134] Kimura K, McCartney AL, McConnell A, Tannock G.W. Analysis of fecal populations of bifidobacteria and lactobacilli and investigation of the immunological responses of their human hosts to the predominant strains. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63 : 3394_8
- [135] De la Cochetière MF, Durand T, Lepage P, Bourreille A, Galmiche JP, Doré J. Resilience of the dominant human fecal microbiota upon shortcourse antibiotic challenge. *J Clin Microbiol* 2005; 43 :5588_92
- [136] Farthing MJ. Bugs and the gut: an unstable marriage. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004 ; 18 : 233_9
- [137] Burcelin R, Luche E, Serino M, Chabo C. Flore intestinale : de nouveaux concepts pour la régulation du métabolisme énergétique. *STV* 2009 ; 21(7) : 322_33
- [138] Pardi DS, Loftus EVJ, Smyrk TC, Kammer PP, Tremaine WJ, Schleck CD, and al. The epidemiology of microscopic colitis: a population based study in Olmsted County, Minnesota. *Gut* 2007 ; 56(4): 504_8
- [139] Gustafsson RJ, Ahrné S, Jeppsson B, Benoni C, Olsson C, and al. The *Lactobacillus* flora in vagina and rectum of fertile and postmenopausal healthy Swedish women. *BMC Women's Health* 2011 ; 11(1): 17
- [140] Heinemann C, Reid G. Vaginal microbial diversity among postmenopausal women with and without hormone replacement therapy. *Can J Microbiol* 2005; 51(9): 777_81
- [141] Markle JGM, Frank DN, Mortin-Toth S, Robertson CE, Danska JS, and al. Sex Differences in the Gut Microbiome Drive Hormone-Dependent Regulation of Autoimmunity. *Scienceexpress* 2013 ; 1-8
- [142] Cherbuy C, et al. Le microbiote intestinal : une composante santé qui évolue avec l'âge. *Inn Agro* 2013 ; 33 : 37-46
- [143] Van de Merwe JP, Stegeman JH, Hazenberg MP. The resident faecal flora is determined by genetic characteristics of the host. Implications for Crohn's disease? *Antonie Leeuwenhoek* 1983 ; 49(2) : 119_24
- [144] Toivanen P, Vaahtovuori J, Eerola E. Influence of major histocompatibility complex on bacterial composition of fecal flora. *Inf Imm* 2001 ; 69 (4): 2372_7
- [145] Turnbaugh PJ, Quince C, Faith JJ, McHardy AC, Yatsunenko T, Niazi F, and al. Organismal, genetic, and transcriptional variation in the deeply sequenced gut microbiomes of identical twins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010 ; 16:7503_8
- [146] Ley RE, Lozupone CA, Hamady M, Knight R, Gordon JL. Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6(10) : 776_88

- [147] Hufeldt MR, Nielsen DS, Vogensen FK, Tore Midtvedt T, Hansen AK. Variation in the gut microbiota of laboratory mice is related to both genetic and environmental factors. *Comparative Medicine* 2010; 60 (5): 336_47
- [148] Doty RL, Shaman P, Applebaum SL, Giberson R, Siksorski L, Rosenberg L. Smell identification ability: changes with age. *Science* 1984 ; 226: 1441_3
- [149] Newton JP, Yemm R, Abel RW, Menhinick S. Changes in human jaw muscles with age and dental state. *Gerodontology* 1993; 10: 16-22
- [150] Russell RM. Changes in gastrointestinal function attributed to aging. *Am J Clin Nutr* 1992; 55(6) :1203S_7S
- [151] Woodmansey EJ. Intestinal bacteria and ageing. *J Appl Microbiol* 2007; 102 :1178_86
- [152] Schiffrin E, Morley JE, Donnet-Hughes A, Guigoz Y. The inflammatory status of the elderly: the intestinal contribution. *Mutat Res* 2009; 690 :50_6
- [153] Bolnick DI, Snowberg LK, Hirsch PE, Lauber CL, and al. Individual diet has sex-dependent effects on vertebrate gut microbiota. *Nature Communications* 2014 ; 5: 1-13
- [154] Faça-Berthon P, Michel C, Pagniez A, Rival M, Van Seuningen I, Darmaun D, and al. Intrauterine growth restriction alters postnatal colonic barrier maturation in rats. *Pediatr Res* 2009 ; 66 :47-52
- [155] Faça-Berthon P, Hoebler C, Mouzet E, David A, Michel C. Intrauterine growth restriction not only modifies the cecocolonic microbiota in neonatal rats but also affects its activity in young adult rats. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010 ; 51:402_13
- [156] Wisniewsky JA, Doré J, Clement K. Modifications de la flore intestinale après chirurgie bariatrique : état des connaissances et mécanismes impliqués. e-mémoires de l'Académie Nationale de Chirurgie 2012; 11 (4) : 69-76
- [157] Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, Yu Y, and al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106(7):2365_70
- [158] Furet JP, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL, and al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes* 2010 ; 59(12):3049_57
- [159] Bongaerts GP, Tolboom JJ, Naber AH, Sperl WJ, Severijnen RS, Bakkeren JA, and al. Role of bacteria in the pathogenesis of short bowel syndrome-associated D-lactic acidemia. *Microb Pathog* 1997 ; 22:285_93
- [160] Kaneko T, Bando Y, Kurihara H, Satomi K, Nonoyama K, Matsuura N. Fecal microflora in a patient with short-bowel syndrome and identification of dominant lactobacilli. *J Clin Microbiol* 1997 ; 35:3181_5

- [161] Joly F, Mayeur C, Bruneau A, Noordine ML, Meylheuc T, Langella P, and al. Drastic changes in fecal and mucosa-associated microbiota in adult patients with short bowel syndrome. *Biochimie* 2010;19
- [162] Goulet O, Joly F. Microbiote intestinal dans le syndrome du grêle court. *Gastrentérol Clin Bio* 2010 ; 34 :41_7
- [163] Cook GC. Hypochlorhydria and vulnerability to intestinal infection. *Eur J Gastrenterol Hepatol* 1994 ; 6 : 693_5
- [164] Federici L, Henoun Loukili N, Zimmer J, Affenberger S, Maloisel F, Andrès E. Manifestations hématologiques de la carence en vitamine B12 : données personnelles et revue de la littérature. *Rev méd int* 2007; 28 :225_31
- [165] Marteau P, Minekus M, Havenaar R, and al. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine : validation and the effects of bile. *J Dairy Sci* 1997; 80: 1031_7
- [166] Flourié B. Colonisation bactérienne chronique du grêle. In: Rambaud JC, ed. *Traité de Gastro-entérologie*. Paris : Flammarion, 2000 :459_66
- [167] Sherwood L. l'appareil digestif. (Chap. 15) dans *Physiologie humaine*. 2^{ème} éd. Bruxelles : boeck ; 2006.p.486.
- [168] Drouault S, Corthier G, Ehrlich SD, and al. Survival, physiology, and lysis of *Lactococcus lactis* in the digestive tract. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 4881_6
- [169] Rambaud JC, Buts JP, Corthier G, Flourié B. Flore microbienne intestinale: Physiology et Pathologies digestives. PARIS: John Libbey Eurotext.2004.p. 39-40.
- [170] Ganz T. Defensins : antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2003; 3 :710_20
- [171] Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol* 2010; 10:159_69
- [172] Kaplan JL, Shi HN, Walker WA. The role of microbes in developmental immunologic programming. *Pediatr Res* 2011 ; 69:465_72
- [173] Han YW, Shen T, Chung P, and al. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J Clin Microbiol* 2009 ; 47:38-47
- [174] Stout MJ, Conlon B, Landeau M, Lee I, Bower C, Zhao Q, and al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 208 : 226.e1_e7
- [175] Aagaard K, and al. The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Sci Transl Med* 2014; 6 : 237ra65

- [176] Neu J, Young CM, Mai V. The developing intestinal microbiome: implications for the neonate. In: Cleason CA, Devaskar S, editors. Avery's diseases of the newborn. 9th edition. Philadelphia: Elsevier. 2012; 1016_21.
- [177] Ege MJ, Bieli C, Frei R, and al. Prenatal farm exposure is related to the expression of receptors of the innate immunity and to atopic sensitization in school-age children. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:817_23
- [178] Penders J, Stobberingh EE, Thijs C, and al. Molecular fingerprinting of the intestinal microbiota of infants in whom atopic eczema was or was not developing. *Clin Exp Allergy* 2006;36:1602_8
- [179] Wegienka G, Havstad S, Zoratti EM, et al. Regulatory T cells in prenatal blood samples: variability with pet exposure and sensitization. *J Reprod Immunol*. 2009;81:74_81
- [180] Aichbhaumik N, Zoratti EM, Strickler R, and al. Prenatal exposure to household pets influences fetal immunoglobulin E production. *Clin Exp Allergy*. 2008;38: 1787_94
- [181] Schaub B, Liu J, Hoppler S, and al. Maternal farm exposure modulates neonatal immune mechanisms through regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123:774_82
- [182] Fujimura KE, Slusher NA, Cabana MD, and al. Role of the gut microbiota in defining human health. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010;8:435_54
- [183] Huurre A, Kalliomaki M, Rautava S, Rinne M, Salminen S, Isolauri E. Mode of delivery: effects on gut microbiota and humoral immunity. *Neonatology* 2008; 93:236_40
- [184] Grönlund MM, Salminen S, Mykkanen H, and al. Development of intestinal bacterial enzymes in infants_relationship to mode of delivery and type of feeding. *APMIS*. 1999;107(7):655_60
- [185] Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, and al. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr Suppl* 2003;91:48-55
- [186] Bager P, Wohlfahrt J, Westergaard T. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses. *Clin Exp Allergy* 2008;38:634_42
- [187] Thavagnanam S, Fleming J, Bromley A, and al. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 2008;38: 629_33
- [188] Eggesbo M, Botten G, Stigum H, et and al. Is delivery by cesarean section a risk factor for food allergy? *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:420_6
- [189] Cardwell CR, Stene LC, Joner G, and al. Caesarean section is associated with an increased risk of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Diabetologia* 2008 ; 51:726_35
- [190] Decker E, Engelmann G, Findeisen A, and al. Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. *Pediatrics* 2010; 125:e1433_40

- [191] Tilg H, Kaser A. Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. *J Clin Invest* 2011 ; 121:2126_32
- [192] Zhou L, He G, Zhang J, et al. Risk factors of obesity in preschool children in an urban area in China. *Eur J Pediatr* 2011 ; 170:1401_6
- [193] Huh SY, Rifas-Shiman SL, Zera CA, and al. Delivery by caesarean section and risk of obesity in preschool age children: a prospective cohort study. *Arch Dis Child* 2012 ; 97(7):610_6
- [194] Wilkinson C, McIlwaine G, Boulton-Jones C, and al. Is a rising caesarean section rate inevitable? *Br J Obstet Gynaecol* 1998 ; 105:45-52
- [195] Lorenz M. The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cell Microbiol* 2001 ; 3 : 1-11
- [196] Zijlmans MAC, Korpela K, Riksen-Walraven JM, de Vos WM, de Weerth C. Maternal prenatal stress is associated with the infant intestinal microbiota. *Psychoneuroendo* 2015; 53 : 233_45
- [197] Gareau MG, Silva MA, Perdue MH. Pathophysiological mechanisms of stress-induced intestinal damage. *Curr Mol Med* 2008 ; 8 :274_81
- [198] Gareau MG, Jury J, Yang PC, MacQueen G, Perdue MH. Neonatal maternal separation causes colonic dysfunction in rat pups including impaired host resistance. *Pediatr Res* 2006; 59:83_8
- [199] Gareau MG, Jury J, Perdue MH. Neonatal maternal separation of rat pups results in abnormal cholinergic regulation of epithelial permeability. *Am J Physiol* 2007 ; 293 : G198-203
- [200] Schwetz I, Bradesi S, McRoberts JA, Bradesi S, Gale G, Fanselow M, and al. Delayed stress-induced colonic hyper-sensitivity in male Wistar rats: role of neurokinin-1 and corticotropinreleasing factor-1 receptors. *Am J Physiol* 2004 ; 286:G683_91
- [201] Barreau F, Salvador-Cartier C, Houdeau E, Bueno L, Fioramonti J. Long-term alterations of colonic nerve-mast cell interactions induced by neonatal maternal deprivation in rats. *Gut* 2008 ; 57 :582_90
- [202] Estienne M, Claustre J, Clain-Gardechaux G, Paquet A, Taché Y, Fioramonti J, et al. Maternal deprivation alters epithelial secretory cell lineages in rat duodenum: role of CRF-related peptides. *Gut* 2010;59:744_51
- [203] Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, and al. Stool microflora in extremely low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 1999 ; 80: F167_73
- [204] Penders J, Thijs C, Vink C, and al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006;118:511_21

- [205] Strachan DP. Family size, infection and atopy : the first decade of the hygiene hypothesis. *Thorax* 2000 ; 55 :S2-10
- [206] Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease : 4 year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003 ; 361 :1869_71
- [207] Sepp E, Naaber P, Voor T, et al. Development of intestinal microflora during the first month of life in Estonian and Swedish infants. *Microb Ecol Health Dis* 2000 ; 12 :22-6
- [208] Nowrouzian F, Hesselmar B, Saalman R, Strannegård IL, Åberg N, Adlerberth I. *Escherichia coli* in infants'intestinal microflora: colonization rate, strain turnover, and virulence gene carriage. *Pediatr Res* 2003 ; 54 :8-14
- [209] Adlerberth I, Lindberg E, Åberg N, Hesselmar B, Saalman R, Wold AE. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization –an effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res* 2006 ; 59: 96-101
- [210] Matamoros S, Gras-Le guen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere M-F. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health . *Trends in Microbiology* 2013 ; 21 (4) : 167_73
- [211] Lindberg E, Adlerberth I, Hesselmar B, Saalman R, Strannegård IL, Åberg N, Wold AE. High rate of transfer of *Staphylococcus aureus* from parental skin to infant gut flora. *J Clin Microbiol* 2004 ; 42, 530_4
- [212] Fallani M, Young D, Scott J, Norin E, and al. Microbiota of 6-week-old infants Across Europe : Geographic influence Beyond Delivery Mode, Breast-feeding, and Antibiotics. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2010 ; 51(1) : 77-84
- [213] Warner JO. The Hygiene Hypothesis. *Pediatr Aller Immunol* 2003 ; 14 : 145_6
- [214] Martín V, Maldonado-Barragán A, Moles L, Rodriguez-Baños M, del Campo R, Fernández L. Sharing of Bacterial Strains Between Breast Milk and Infant Feces. *J Hum Lact* 2012 ; 28(1) :36-44
- [215] Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Breast milk : a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology* 2007 ; 92 : 64_6
- [216] Martin R, Langa S, Reviriego C et al. : Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr* 2003 ; 143 : 754-8
- [217] Diaz-Ropero MP, Martin R, Sierra S et al. Two *Lactobacillus* strains, isolated from breast milk, differently modulate the immune response. *M J Appl Microbiol* 2007 ; 102 : 337_43
- [218] Perez P, Doré J, Leclerc M et al. Bacterial Imprinting of the Neonatal Immune System : Lessons From Maternal Cells? *Pediatrics* 2007 ; 119 : e724

- [219] Vandenplas Y. Oligosaccharides in infant formula. *Br J Nutr* 2002 ; 87(2):S293_6
- [220] Le Huërou-Luron I, Blat S, Boudry G. Breast-v formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. *Nutr Res Rev* 2010 ; 23 : 23-36.
- [221] Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, and al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000 ; 30: 61_7
- [222] Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe* 2011 ; 17 : 478_82
- [223] Martin F, Savage SAH, Parret AM, Gramet G, Edwards C, Doré J. Dynamics of colonization of the colon in breast-fed infants. *Reprod Nutr Dev* 2000 ; 40 :180_1
- [224] Hasselbalch GH, Jeppesen DL, Engelman M, Michaelsen KF, Nielsen MB. Decreased thymus size in formula-fed infants compared with breastfed infants. *Acta Pediatr* 1996 ; 85 : 1029_32
- [225] Tackoen M. Le lait maternel : composition nutritionnelle et propriétés fonctionnelles. *Rev Med Brux* 2012 ; 309_17
- [226] Coppa GV, Bruni S, Morelli L, Soldi S, Gabrielli O. The first prebiotics in humans: human milk oligosaccharides. *J Clin Gastroenterol* 2004 ; 38(6) : S80_3
- [227] Haarman M, Knol J. Quantitative real-time pcr assays to identify and quantify fecal bifidobacterium species in infants receiving a prebiotic infant formula. *Appl Environ Microbiol* 2005 ; 71 : 2318_24
- [228] Kunz C, Rudloff S, Baier W, Klein N, Strobel S. Oligosaccharides in human milk: Structural, functional, and metabolic aspects. *Annu Rev Nutr* 2000 ; 20 : 699-722
- [229] Heeinig MJ, Dewey KG. Health advantage of breast-feeding for infants : a critical review. *Nutr Res Rev* 1996 ; 9 : 89-110
- [230] Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery : permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999 ; 28:19-25
- [231] Hehemann JH, Correc G, Barbeyron T, Helbert W, Czejek M, Miche G. Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota. *Nature* 2010 ; 464 : 908_12
- [232] De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, and 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* 2010 ; 107: 14691_6

- [233] Hayashi H, Sakamoto M, Benno Y. Fecal microbial diversity in a strict vegetarian as determined by molecular analysis and cultivation. *Microbiol Immunol* 2002 ; 46 : 819_31
- [234] De Palma G, Nadal I, Collado MC, Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects. *Br J Nutr* 2009 ; 102(8) : 1154_60
- [235] Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006 ; 444 (7122) : 1022_3
- [236] Duncan SH, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone AM, Flint HJ, Lobley GE. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl Environ Microbiol* 2007 ; 73(4) : 1073_8
- [237] Cani PD, Amar J, Iglesias MA, and al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007 ; 56 : 1761_72
- [238] Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, and al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 2008 ; 57 : 1470_81
- [239] Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, and al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 2007 ; 50(11) : 2374_83
- [240] Cani PD, Knauf C, Iglesias MA, and al. Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide 1 receptor. *Diabetes* 2006 ; 55 : 1484_90
- [241] Fak F, Karlsson CL, Ahn  S, Molin G, Weström B. effects of a high-fat diet during pregnancy and lactation are modulated by E.coli in rat offspring. *Int J Obes* 2012 ; 36 :744_51
- [242] Karlsson CL, Molin G, Fak F, Johansson Hagsl tt ML, Jakesevic M, Hakansson A, and al. Effects on weight gain and gut microbiota in rats given bacterial supplements and a high-energy-dense diet from fetal life through to 6 months of age. *Br J Nutr* 2011 ; 106: 887_95
- [243] Francavilla R, Calasso M, Calace L, Siragusa S, and al. Effect of lactose on gut microbiota and metabolome of infants with cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2012 ; 23(5):420_7
- [244] Suez J, Korem T, Zeevi D, and al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature* 2014 ; 1-17
- [245] Whelan K, Judd PA, Tuohy KM, Gibson GR, Preedy VR, Taylor MA. Fecal microbiota in patients receiving enteral feeding are highly variable and may be altered in those who develop diarrhea. *Am J Clin Nutr* 2009 ; 89 :240_7

- [246] Schneider SM. Pathologies liées au microbiote: Nutrition entérale et microbiote. *Gastroentérol Clin Bio* 2010 ; 34 : 61_6
- [247] Phares CR, Lynfield R, Farley MM, Mohle-Boetani J, Harrison LH, Petit S, and al. Active Bacterial Core surveillance/Emerging Infections Program Network. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA* 2008 ; 299 :2056_65
- [248] Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease revised guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep* 2010 ; 59 : 1-36
- [249] Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 2001; 292:1115_8
- [250] Bennet R, Eriksson M, Nord CE. The fecal microflora of 1-3-month-old infants during treatment with eight oral antibiotics. *Infection* 2002 ; 30 : 518_60
- [251] Schumann A, Nutton S, Donnicola EM, Mansourian R, cherbuy C, and al. Neonatal antibiotic treatment alters gastro-intestinal tract developmental gene expression and intestinal barrier transcriptome. *Physiol Genomics* 2005 ; 23 :235_45
- [252] Fak F, Ahrné S, Molin G, Jeppsson B, Weström B. Maternal consumption of *Lactobacillus plantarum* 299v affects gastro-intestinal growth and function in the suckling rat. *Br J Nut* 2008 ; 100 :332_8
- [253] Fak F, Ahrné S, Linderöth A, Molin G, Jeppsson B, Weström B. Age-related effects of the probiotic bacterium *Lactobacillus plantarum* 299v on gastro-intestinal function in suckling rat. *Dig Dis Sci* 2008 ; 53 :664_71
- [254] Alm B, Erdes L, Möllborg P, and al. Neonatal antibiotic treatment is a risk factor for early wheezing. *Pediatrics* 2008 ; 121: 697-702
- [255] Marra F, Lynd L, Coombes M, and al. Does antibiotic exposure during infancy lead to development of asthma?: a systematic review and metaanalysis. *Chest* 2006 ; 129 :610_8
- [256] Verhulst SL, Vael C, Beunckens C, and al. A longitudinal analysis on the association between antibiotic use, intestinal microflora, and wheezing during the first year of life. *J Asthma* 2008 ; 45 :828_32
- [257] Johnson CC, Ownby DR, Alford SH, and al. Antibiotic exposure in early infancy and risk for childhood atopy. *J Allergy Clin Immunol* 2005 ; 115 : 1218_24
- [258] 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* 2008 ; 6 :e280

- [259] Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108(1):4554_61
- [260] Britton RA, Young VB. Interaction between the intestinal microbiota and host in *Clostridium difficile* colonization resistance. *Trends Microbiol* 2012 ; 20 : 313_9
- [261] Jernberg C, Lofmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *Isme J* 2007; 1: 56-66
- [262] Corpet DE. Mécanismes de la promotion de croissance des animaux par les additifs alimentaires antibiotiques. *Rev Méd Vét* 2000 ; 151(2) : 99-104
- [263] Huffnagle GB. The microbiota and allergies/asthma. *PLoS Pathog* 2010 ; 6 : e1000549
- [264] Canani RB, Cirillo P, Roggero P, and al. Therapy with gastric acidity inhibitors increases the risk of acute gastroenteritis and community-acquired pneumonia in children. *Pediatrics* 2006; 117:e817_20
- [265] Zwielehner J, and al. Changes in Human Fecal Microbiota Due to Chemotherapy Analyzed by TaqMan-PCR, 454 Sequencing and PCR-DGGE Fingerprinting. *PLoS ONE* 2011 ; 6(12): e28654
- [266] Elinav E, Thaiss CA, and al. Transkingdom Control of Microbiota Diurnal Oscillations Promotes Metabolic Homeostasis. *Cell* 2014 ; 159 : 514_29
- [267] Zhai Q, Wang G, Zhao J, Liu X, Tian F, Zhang H, and al. Protective effects of *Lactobacillus plantarum* CCFM8610 against acute cadmium toxicity in mice. *Appl Environ Microbiol* 2013 ; 79(5):1508_15
- [268] Kannan S, Carruth BR, Skinner J. Cultural Influences on Infant Feeding Beliefs of Mothers. *J Am Diet Assoc* 1999 ; 88-90
- [269] Mela DJ. Food choice and intake: the human factor. *Proc Nutr Soc* 1999 ; 58 : 513_21
- [270] Hendricks K, Briefel R, Novak T, Ziegler P. Maternal and child characteristics associated with infant and toddler feeding practices. *J Am Diet Assoc* 2006 ; 106 : S135_48
- [271] Bailey MT, Coe CL. Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys. *Developmental psychobiology* 1999 ; 35(2): 146_55
- [272] Freestone PP, and al. Stimulation of bacterial growth by heat-stable, norepinephrine-induced autoinducers. *FEMS Microbiol Lett* 1999 ; 172(1): 53_6
- [273] Clarke SF, and al. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut* 2014 ; 1-8

- [274] Begon J, Juillerat P, Cornuz J, Clair C. Smoking and digestive tract: a complex relationship. Part 2: Intestinal microbiota and cigarette smoking. *Rev Med Suisse* 2015; 11(478) : 1304_6
- [275] Biedermann L, Zeitz J, Mwinyi J, Sutter-Minder E, Rehman A, and al. Smoking Cessation Induces Profound Changes in the Composition of the Intestinal Microbiota in Humans. *PLoS ONE* 2013 ; 8(3): e59260
- [276] Cosnes J. Tobacco and IBD: relevance in the understanding of disease mechanisms and clinical practice. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004 ; 18: 481_96
- [277] Benjamin JL, and al. Smokers with active Crohn's disease have a clinically relevant dysbiosis of the gastrointestinal microbiota. *Inflamm Bowel Dis* 2012 ; 18(6): 1092_100
- [278] Minemura M, Shimizu Y. Gut microbiota and liver diseases. *World J Gastroenterol* 2015 ; 21:1691_702
- [279] Mutlu EA, Gillevet PM, Rangwala H, and al. Colonic microbiome is altered in alcoholism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012 ; 302: G966_78
- [280] Buch S, Stickel F, Trépo E, and al. A two-stage genome-wide association study identifies TM6SF2 and MBOAT7 as risk loci for alcoholic liver cirrhosis. *J Hepatol* 2015 ; 62 : LB-4277
- [281] Leclercq S, and al. Role of intestinal permeability and inflammation in the biological and behavioral control of alcohol-dependent subjects. *Brain, Behavior, and Immunity* 2012 ; 26 : 911_8
- [282] Queipo-Ortuño MI, and al. Influence of red wine polyphenols and ethanol on the gut microbiota ecology and biochemical biomarkers. *Am J Clin Nutr* 2012 ; 1-12
- [283] Fraher MH, O'Toole PW, and Quigley EMM. Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2012 ; 9 : 312-322
- [284] Peterson DA, Frank DN, Pace NR, Gordon JI. Metagenomic approaches for defining the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Cell Host Microbe* 2008 ; 3 : 417_27
- [285] Hamady M, Walker JJ, Harris JK, Gold NJ, Knight R. Errorcorrecting barcoded primers for pyrosequencing hundreds of samples in multiplex. *Nat Methods* 2008 ; 5: 235_7
- [286] afssaps, Agence française de sécurité sanitaire et des produits de santé. Concept paper: le séquençage à haut débit méthodes et enjeux en médecine, pharmacologie et toxicologie 2011. [En ligne] [http:// ansm.sante.fr/var/ ansm_site/storage/ original/ application/ 0edd877424b6f7301df42c2aff2a9a5a](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0edd877424b6f7301df42c2aff2a9a5a) consulté le 10 octobre 2015.

- [287] Osborn AM, Moore ER, Timmis KN. An evaluation of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics. *Environ Microbiol* 2000 ; 2: 39-50
- [288] Huybens N, Mainil J, Marlier D. Les techniques de biologie moléculaire d'analyse des populations bactériennes complexes. *Ann Méd Vét* 2009 ; 153 : 112_28
- [289] Paliy O, Agans R. Application of phylogenetic microarrays to interrogation of human microbiota. *FEMS Microbio Eco* 2012 ; 79(1): 2-11
- [290] Rigsbee L, and al. Optimizing the analysis of human intestinal microbiota with phylogenetic microarray. *FEMS Microbio Eco* 2011 ; 75(2): 332_42
- [291] Bergström A, and al. Introducing GUT Low-Density Array (GULDA) – a validated approach for qPCR-based intestinal microbial community analysis. *FEMS Microbio Lett* 2012 ; 38-47
- [292] DeAngelis KM, and al. PCR Amplification-Independent Methods for Detection of Microbial Communities by the High-Density Microarray PhyloChip. *App Environ Microbio* 2011 ; 77(18): 6313_22
- [293] Tottey W, and al. The Human Gut Chip "HuGChip", an Explorative Phylogenetic Microarray for Determining Gut Microbiome Diversity at Family Level. *PLoS ONE* 2013 ; 8(5) :e62544
- [294] Harmsen HJ, Raangs GC, He T, Degener JE, Welling GW. Extensive set of 16S rRNA-based probes for detection of bacteria in human feces. *Appl Environ Microbiol* 2002 ; 68: 2982_90
- [295] Jalanka-Tuovinen J, and al. Intestinal Microbiota in Healthy Adults: Temporal Analysis Reveals Individual and Common Core and Relation to Intestinal Symptoms. *PLoS ONE* 2011 ; 6(7): e23035
- [296] Ponnusamy K, et al. Microbial community and metabolomic comparison of irritable bowel syndrome faeces. *J Med Microbio* 2011 ; 60(6): 817_27
- [297] Zwielehner J, and al. Combined PCR-DGGE fingerprinting and quantitative-PCR indicates shifts in fecal population sizes and diversity of Bacteroides, bifidobacteria and Clostridium cluster IV in institutionalized elderly. *Exper Geront* 2009 ; 44(6-7): 440_6
- [298] Maron PA, and al. Metaproteomics: A New Approach for Studying Functional Microbial Ecology. *Microb Eco* 2007 ; 53(3): 486_93.
- [299] Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem Biol* 1998 ; 5 : R245_9

- [300] Rondon MR, Raffel SJ, Goodman RM, Handelsman J. Toward functional genomics in bacteria: analysis of gene expression in *Escherichia coli* from a bacterial artificial chromosome library of *Bacillus cereus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96 : 6451_5
- [301] Verberkmoes NC, Russell AL, Shah M, Godzik A, Rosenquist M, Halfvarson J, and al. Shotgun metaproteomics of the human distal gut microbiota. *ISME J* 2009 ; 3: 179_89
- [302] Han J, Danell RM, Patel JR, Gumerov DR, Scarlett CO, Speir JP, and al. Towards highthroughput metabolomics using ultrahigh-field Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Metabolomics* 2008 ; 4: 128_40
- [303] Cummings JH, Macfarlane GT. Colonic microflora: nutrition and health. *Nutrition* 1997 ; 13 : 476_8
- [304] Duncan SH, Louis P, Flint HJ. Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major product. *Appl Environ Microbio* 2004 ; 70 : 5810_17
- [305] Srikanth CV, McCormick BA Interactions of the intestinal epithelium with the pathogen and the indigenous microbiota: a three-way crosstalk. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2008 ; 626_27
- [306] Bernalier-Donadille A. Fermentative metabolism by the human gut microbiota. *Gastroenterol clin bio* 2010 ; 34 (1) : S16-22
- [307] Coles LT, Moughan PJ, Awati A, Darragh AJ, Zou ML. Predicted apparent digestion of energy-yielding nutrients differs between the upper and lower digestive tracts in rats and humans. *J nutr* 2010 ; 140 : 469_76
- [308] Bernalier A, Rochet V, Leclerc M, Doré J, Pochart P. Diversity of H₂/CO₂- utilizing acetogenic bacteria from feces of non-methane-producing humans. *Curr Microbiol* 1996 ; 33: 94_9
- [309] Macfarlane GT, Cummings JH. The colonic flora, fermentation and large bowel digestive function. In: Phillips SF, Pemberton JH, Shorter RG (ed). *The large intestine: physiology, pathophysiology and disease*. New York: Raven Press 1991 ; 51-92
- [310] Howard FA, Henderson C. Hydrogenation of polyunsaturated fatty acids by human colonic bacteria. *Lett Appl Microbiol* 1999 ; 29 :193_6
- [311] Schmiel DH, Miller VL. Bacterial phospholipases and pathogenesis. *Microbes Infect* 1999 ; 1 : 1103_12
- [312] Freier TA, Beitz DC, Li L, Hartman PA. Characterization of *Eubacterium coprostanoligenes* sp nov a cholesterol-reducing anaerobe. *Int J Syst Bacteriol* 1994 ; 44 : 137_42
- [313] Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J Lipid Res* 2006 ; 47 : 241_59

- [314] Baron SF, Hylemon PB. Biotransformation of bile acids, cholesterol and steroid hormones. In : Mackie RI, White BA. (ed). gastro-intestinal microbiology, gastro-intestinal ecosystems and fermentations. New York : Chapman & Hall 1997 ; 470-510
- [315] Kersten S, Mandard S, Tan NS, and al. Characterization of the fasting induced adiposefactor FIAF, a novel peroxisome proliferator-activated receptor target gene. J Biol Chem 2000 ; 275 : 28488_93
- [316] Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. Proc Natl Acad Sci USA 2007 ; 104 : 979_84
- [317] Aronsson L, Huang Y, Parini P, Korach-André M, Håkansson J, Gustafsson JA, and al. Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4). PloS One 2010 ; 5(9) : e13087
- [318] Kim HK, Youn BS, Shin MS, Namkoong C, Park KH, Baik JH, and al. Hypothalamic Angptl4/Fiaf is a novel regulator of food intake and body weight. Diabetes 2010 ; 59(11): 2772_80
- [319] Samuel BS, Shaito A, Motoike T, Rey FE, Backhed F, Manchester Jk, and al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. Proc Natl Acad Sci USA 2008 ; 105(43): 16767_72
- [320] Sousa T, Paterson R, Moore V, Carlsson A, Abrahamsson B, Basit AW. The gastrointestinal microbiota as a site for the transfor-mation of drugs. Int J Pharm 2008 ; 363 :1-25
- [321] Haiser HJ, Turnbaugh PJ. Developing a metagenomic view of xenobiotic metabolism. Pharmacol Res 2013 ; 69(1) : 21-31
- [322] Aura AM, Mattila I, Hyotylainen T, Gopalacharyulu P, Bounsay-thip C, Oresic M, and al. Drug metabolome of the Simvastatin formed by human intestinal microbiota in vitro. Mol Biosyst 2011 ; 7 : 437_46
- [323] Haiser HJ, Gootenberg DB, Chatman K, Sirasani G, Balskus EP, Turnbaugh PJ. Predicting and manipulating cardiac drug inacti-vation by the human gut bacterium *Eggerthella lenta*. Science 2013 ; 341 :295_8
- [324] Aziz RK, Saad R, Rizkallah MR. PharmacoMicrobiomics or how bugs modulate drugs: an educational initiative to explore the effects of human microbiome on drugs. BMC Bioinforma 2011 ; 12 :A10
- [325] Hill MJ. Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. Eur J Cancer Prev 1997 ; 6(1) : S43_5
- [326] Yatsunencko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, and al. Human gut microbiome viewed across age and geography. Nature 2012 ; 486 : 222_7

- [327] Endt K, and al. The microbiota mediates pathogen clearance from the gut lumen after non-typhoidal Salmonella diarrhea. *PLoS Pathog* 2010 ; 6(9): e1001097
- [328] Stecher B, Hardt WD. Mechanisms controlling pathogen colonization of the gut. *Curr Opin Microbiol* 2010 ; 14(1): 82-91
- [329] Gantois I, and al. Butyrate specifically down-regulates Salmonella pathogenicity island 1 gene expression. *Appl Environ Microbiol* 2006 ; 72(1): 946_9
- [330] Marteyn B, and al. Modulation of Shigella virulence in response to available oxygen in vivo. *Nature* 2010 ; 465(7296): 355_8
- [331] Gomes DA, and al. Comparison of antagonistic ability against enteropathogens by G+ and G- anaerobic dominant components of human fecal microbiota. *Folia Microbiol* 2006 ; 51(2): 141_5
- [332] Gallo RL, Hooper LV. Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine. *Nat Rev Immunol* 2012 ; 12 : 503_16
- [333] Lawley TD, Walker AW. Intestinal colonization resistance. *Immunology* 2013 ; 138(1): 1-11.
- [334] Dobson A, Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocin production: a probiotic trait? *Appl Environ Microbiol* 2012 ; 78 : 1-6
- [335] Medellin-Pena MJ, Griffiths MW. Effect of molecules secreted by *Lactobacillus acidophilus* strain La-5 on *Escherichia coli* O157:H7 colonization. *Appl Environ Microbiol* 2009 ; 75(4): 1165_72
- [336] Sit CS, Vederas JC. Approaches to the discovery of new antibacterial agents based on bacteriocins. *Biochemistry and cell biology* 2008 ; 86 : 116_23
- [337] Vaishnava S, Behrendt CL, Ismail AS, Eckmann L, Hopper LV. Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 20858_63
- [338] Smith PM, Garrett WS. The gut microbiota and mucosal T cells. *Frontiers in Microbiology* 2011 ; 2 : 111
- [339] Ismail AS, Behrendt CL, Hooper LV. Reciprocal interactions between commensal bacteria and gamma delta intraepithelial lymphocytes during mucosal injury. *J Immunol* 2009 ; 182(5): 3047_54
- [340] Round JL, et Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009 ; 9(5): 313_23
- [341] Korn T, Bettelli E, Oukka M, et Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Ann Rev Immunol* 2009 ; 27 : 485-517

- [342] Sellge G, Magalhaes JG, Konradt C, Fritz JH, and al. Th17 cells are the dominant T cell subtype primed by *Shigella flexneri* mediating protective immunity. *J Immunol* 2010 ; 184(4): 2076_85
- [343] Heczko U, Abe A, Finlay BB. Segmented Filamentous Bacteria Prevent Colonization of Enteropathogenic *Escherichia coli* O103 in Rabbits. *J Infect Dis* 2000 ; 181 (3): 1027_33
- [344] Prakash S, Rodes L, M Coussa-Charley M, Tomaro-Duchesneau C. Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics. *Biologics: Targets & Therapy* 2011 ; 5: 71-86
- [345] Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol* 2004 ; 4 : 478_85
- [346] Chung H, and al. Gut immune maturation depends on colonization with a host-specific microbiota. *Cell* 2012 ; 149 (7) : 1578_93
- [347] Verdu EF, and al. Specific probiotic therapy attenuates antibiotic induced visceral hypersensitivity in mice. *Gut* 2006 ; 55(2) :182_90
- [348] Bouskra D, and al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature* 2008 ; 456(7221): 507_10
- [349] Kamada N, Seo SU, and al. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat rev Immunol* 2013 ; 13(5) : 321_35
- [350] Maynard CL, and al. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature* 2012 ; 489(7415) :231_41
- [351] Cerf-Bensussan N, Gaboriau-Routhiau V. The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nat rev Immunol* 2010 ; 10(10) :735_44
- [352] Purchiaroni F, and al. The role of intestinal microbiota and the immune system. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013 ; 17(3) :323_33
- [353] He B, and al. Intestinal bacteria trigger T cell-independent immunoglobulin A(2) class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. *Immunity* 2007 ; 26(6): 812_26
- [354] Ivanov II, and al. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing Thelper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe* 2008 ; 4(4): 337_49
- [355] Hall JA, and al. Commensal DNA limits regulatory T cell conversion and is a natural adjuvant of intestinal immune responses. *Immunity* 2008 ; 29(4): 637_49
- [356] Mazmanian SK, and al. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* 2005 ; 122(1): 107_18

- [357] Christensen HR, Frøkiær H, Pestka JJ. *Lactobacilli* differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. *J Immunol* 2002 ; 168(1) :171_8
- [358] O'Mahony C, Scully P, O'Mahony D, and al. Commensal-induced regulatory T cells mediate protection against pathogen-stimulated NF-kappaB activation. *PLoS Pathogens* 2008 ; 4(8): e1000112
- [359] Atarashi K, Umesaki Y, Honda k. Microbial influence on T cell subset development. *Seminars in Immunology* 2011 ; 23(2): 146_53
- [360] Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature* 2008 ; 453(7195): 620_5
- [361] Smith PM, Howitt MR, Panikov N, and al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* 2013 ; 341:569_73
- [362] Brandtzaeg P. Homeostatic impact of indigenous microbiota and secretory immunity. *Benef Microbes* 2010 ; 1(3): 211_27
- [363] Bouladoux N, Hand TW, Naik S, Belkaid Y. Microbiota and T lymphocytes: the best enemy. *Med Sci* 2013 ; 4(29) : 1-6
- [364] Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. *MMBR* 1998 ; 62 :1157_70
- [365] Hinnebusch BF, Henderson JW, Siddique A, Malo MS, Zhang W, Abedrapo MA, and al. Transcriptional activation of the enterocyte differentiation marker intestinal alkaline phosphatase is associated with changes in the acetylation state of histone H3at a specific site within its promoter region in vitro. *J Gastrointest Surg* 2003 ; 7 : 237_44
- [366] Lallès JP. Phosphatase alcaline intestinale : une enzyme très protectrice par ses propriétés anti-inflammatoires puissantes. *Cah nutr diét* 2014 ; 49 : 81_7
- [367] Cherbuy C, Andrieux C, Ide C, and al. Expression of mitochondrial MHGCoA synthase and glutaminase in the colonic mucosa is modulated by bacterial species. *Eur J Biochem* 2004 ; 271:87-95
- [368] Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 2001 ; 291(5505) : 881_4
- [369] Bär F, Von Koschitzky H, Roblick U, Bruch HP, Schulze L, Sonnenborn U, and al. Cell-free supernatants of *Escherichia coli* Nissle 1917 modulate human colonic motility: evidence from an in vitro organ bath study. *Neurogastroenterol Motil* 2009 ; 21(5) : 559_66
- [370] Forsythe P, Sudo N, Dinan T, Taylor VH, Bienenstock J. Mood and gut feelings. *Brain Behav Immun* 2010 ; 24(1) : 9-16

- [371] Shanahan F. The host-microbe interface within the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002 ; 16 :915_31
- [372] Stappenbeck TS, Hooper LV, Gordon JI. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99(24): 15451_5
- [373] Reinhardt C, Bergentall M, Greiner TU, Schaffner F, Ostergren-Lunden G, and al. Tissue factor and PAR1 promote microbiota-induced intestinal vascular remodelling. *Nature* 2012 ; 483 : 627_31
- [374] Moran AP, Gupta A, Joshi L. Sweet-talk: role of host glycosylation in bacterial pathogenesis of the gastrointestinal tract. *Gut* 2011 ; 60 : 1412_25
- [375] Bry L, Falk PG, Midtvedt T, Gordon JI. A model of host-microbial interactions in an open mammalian ecosystem. *Science* 1996 ; 273 : 1380_3
- [376] Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr* 2002 ; 22 : 283-307
- [377] Lutgendorff F, Akkermans LM, Soderholm JD. The role of microbiota and probiotics in stress-induced gastro-intestinal damage. *Curr Mol Med* 2008 ; 8(4) : 282_98
- [378] Ukena SN, and al. Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 inhibits leaky gut by enhancing mucosal integrity. *PLoS One* 2007 ; 2(12):e1308
- [379] Heijtz RD, Wang S, Anuar F, Qian Y, Bjorkholm B, Samuelsson A, and al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Nat Acad Sci USA* 2011 ; 108 : 3047_52
- [380] Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms : The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2012 ; 13 :701_12
- [381] Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 2008 ; 9 : 46-56
- [382] Sternberg EM. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2006 ; 6 : 318_28
- [383] Goehler LE, Park SM, Opitz N, Lyte M, Gaykema RP. *Campylobacter jejuni* infection increases anxiety-like behavior in the holeboard: possible anatomical substrates for viscerosensory modulation of exploratory behavior. *Brain Behav Immun* 2008 ; 22 : 354_66
- [384] Bravo JA, and al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc. Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108 : 16050_5

- [385] Bercik P, and al. The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut– brain communication. *Neurogastroenterol Motil* 2011 ; 23 : 1132_9
- [386] de Lartigue G, de La Serre CB, Raybould HE. Vagal afferent neurons in high fat diet-induced obesity; intestinal microflora, gut inflammation and cholecystokinin. *Physiol Behav* 2011 ; 105 : 100_5
- [387] Bercik P, and al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice. *Gastroenterology* 2011 ; 141 : 599-609e3
- [388] Lyte M. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *Bioessays* 2011 ; 33 : 574_81
- [389] Barrett E, Ross RP, O'Toole PW, Fitzgerald, GF, Stanton C. γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J Appl Microbiol* 2012 ; 113 : 411_7
- [390] Dinan TG, Stanton C, Cryan JF. Psychobiotics: A Novel Class of Psychotropic. *Biol Psychiatry* 2013 ; 74(10) : 720_6
- [391] Friedrich MJ. Unraveling the Influence of Gut Microbes on the Mind. *JAMA* 2015 ; 313(17) : 1699_701
- [392] Fanning S, and al. Bifidobacterial surface-exopolysaccharide facilitates commensal–host interaction through immune modulation and pathogen protection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : 2108_13
- [393] Forsythe P, Kunze WA. Voices from within: gut microbes and the CNS. *Cell Mol Life Sci* 2013 ; 70(1):55-69
- [394] Clarke G, and al. Tryptophan degradation in irritable bowel syndrome: evidence of indoleamine 2,3-dioxygenase activation in a male cohort. *BMC Gastroenterol* 2009 ; 9 : 6
- [395] Ruddick JP, and al. Tryptophan metabolism in the central nervous system: medical implications. *Expert Rev Mol Med* 2006 ; 8 : 1-27
- [396] Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Bienenstock J, Dinan TG. The probiotic *Bifidobacteria infantis*: an assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J Psychiatr Res* 2008 ; 43 : 164_74
- [397] Amaral FA, and al. Commensal microbiota is fundamental for the development of inflammatory pain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105(6): 2193_7
- [398] Sudo N, and al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol* 2004 ; 558(1): 263_75
- [399] Breton J, Daniel C, Dewulf J, Pothion S, Froux N, Sauty M, and al. Gut microbiota limits heavy metals burden caused by chronic oral exposure. *Toxicol Lett* 2013; 222(2):132_8

- [400] Sjögren K, Engdahl C, Henning P, Lerner UH, Tremaroli V, Lagerquist MK, and al. The gut microbiota regulates bone mass in mice. *J Bone Miner Res* 2012 ; 1357_67
- [401] Pluznick JL, Protzko RJ, Gevorgyan H, Peterlin Z, Sipos A, Han J, and al. Olfactory receptor responding to gut microbiota-derived signals plays a role in renin secretion and bloodpressure regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; 110(11) : 4410_5
- [402] Crawford PA, et al. Regulation of myocardial ketone body metabolism by the gut microbiota during nutrient deprivation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009 ; 106(27): 11276_81.
- [403] OMS, Organisation Mondiale de la Santé. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/fr/> consulté le 24 Novembre 2015
- [404] HCP, Haut-Commissariat au Plan. Les principaux points de l'intervention de M. Ahmed Lahlimi Alami, Haut Commissaire au Plan à l'occasion de la présentation des résultats de l'Enquête Nationale sur l'Anthropométrie (ENA) réalisée en 2011 par la HCP. [En ligne] http://www.hcp.ma/Les-principaux-points-de-l-intervention-de-M-Ahmed-Lahlimi-Alami-Haut-Commissaire-au-Plan_a1098.html consulté le 24 Novembre 2015
- [405] Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006 ; 444(7122): 1027_31
- [406] Ley RE. Obesity and the human microbiome. *Curr opin gastroenterol* 2010 ; 26(1):5-11
- [407] Schwartz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, and al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity* 2010 ; 18(1): 190_5
- [408] Duncan SH, Lobley GE, Holtrop G, Ince J, Johnstone AM, and al. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Inter J Obes* 2008 ; 32(11): 1720_4
- [409] Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JI. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Trans Med* 2009 ; 1(6): 6ra14
- [410] Fleissner CK, Huebel N, Abd El-Bary MM, Loh G, Klaus S, Blaut M. Absence of intestinal microbiota does not protect mice from diet-induced obesity. *Br J Nutr* 2010 ; 104(6): 919_29
- [411] Santacruz A, Collado MC, García-Valdés L, Segura MT, Martín-Lagos JA, Anjos T, and al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *Br J Nutr* 2010 ; 104(1): 83-92
- [412] Kalliomäki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr* 2008 ; 87(3): 534_8

- [413] Armougom F, Henry M, Vialettes B, Raccach D, Raoult D. Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and Methanogens in anorexic patients. *PloS One* 2009 ; 4(9): e7125
- [414] Santacruz A, Marcos A, Wärnberg J, Martí A, Martín-Matillas M, Campoy C, and al. Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents. *Obesity* 2009 ; 17(10): 1906_15
- [415] Delzenne NM, Neyrinck AM, Cani PD. Modulation of the gut microbiota by nutrients with prebiotic properties: consequences for host health in the context of obesity and metabolic syndrome. *Microb Cell Fact* 2011; 10(1): S10
- [416] Everard A, Cani PD. Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Prac Res Clin Gastroenterol* 2013 ; 27(1) :73-83
- [417] Dewulf EM, and al. Inulin-type fructans with prebiotic properties counteract GPR43 overexpression and PPAR γ -related adipogenesis in the white adipose tissue of high-fat diet-fed mice. *J nutr biochem* 2011 ; 22(8) :712_22
- [418] Anderson PD, and al. Innate immunity modulates adipokines in humans. *J Clin Endocrino Metab* 2007 ; 92(6) :2272_9
- [419] Ghanim H, and al. Increase in plasma endotoxin concentrations and the expression of toll-like receptors and suppressor of cytokine signaling-3 in mononuclear cells after a high-fat, highcarbohydrate meal implications for insulin resistance. *Diabetes care* 2009 ; 32(12) :2281_7
- [420] Amar J, and al. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am J Clin Nutr* 2008 ; 87(5) :1219_23
- [421] Erridge C, and al. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr* 2007 ; 86(5) :1286_92
- [422] Deopurkar R, and al. Differential effects of cream, glucose, and orange juice on inflammation, endotoxin, and the expression of Toll-like receptor-4 and suppressor of cytokine signaling-3. *Diabetes care* 2010 ; 33(5) : 991_7
- [423] Vijay-Kumar M, and al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science* 2010 ; 328(5975): 228_31
- [424] Lakhan SE, Kirchgessner A. Gut microbiota and sirtuins in obesity-related inflammation and bowel dysfunction. *J Transl Med* 2011 ; 9:202
- [425] Cani PD, Delzenne NM. The gut microbiome as therapeutic target. *Pharmacology & therapeutics* 2011 ; 130(2) :202_12

- [426] Cani PD, and al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut* 2009; 58(8):1091_103
- [427] Muccioli GG, and al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol syst bio* 2010 ; 6(1):392-407
- [428] Alhouayek M, Muccioli GG. The endocannabinoid system in inflammatory bowel diseases: from pathophysiology to therapeutic opportunity. *Trends in molecular medicine* 2012 ; 18(10):615_25
- [429] Cani PD, Geurts L, Matamoros S, Plovier H, Duparc T. Glucose metabolism: Focus on gut microbiota, the endocannabinoid system and beyond. *Diabetes & Metabolism* 2014 ; 1-12
- [430] Wu X, Ma C, Han L, Nawaz M, Gao F, and al. Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes. *Curr Microbio* 2010 ; 61(1): 69-78
- [431] Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FWJ, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, and al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PloS One* 2010 ; 5(2): e9085
- [432] Dumas ME, Barton RH, Toye A, Cloarec O, Blancher C, et al. Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proc Nat Acad Sci USA* 2006 ; 103(33): 12511_6
- [433] Blasco-Baque V, Serino M, Burcelin R. la thérapie métabolique à l'interface entre l'homme et le microbiote intestinal. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 2013 ; 71 :34-41
- [434] Brugman S, Klatter FA, Visser JTJ, Wildeboer-Veloo ACM, Harmsen HJM, Rozing J, et Bos NA. Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the Bio-Breeding diabetes-prone rat. Is the gut flora involved in the development of type 1 diabetes? *Diabetologia* 2006 ; 49(9): 2105_8
- [435] Wen L, and al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature* 2008 ; 455(7216): 1109_13
- [436] Brown CT, Davis-Richardson AG, Giongo A, Gano KA, Crabb DB, Mukherjee N, et al. Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PloS One* 2011 ; 6(10): e25792
- [437] Calcinaro F, and al. Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Diabetologia* 2005 ; 48(8): p. 1565_75
- [438] Boursier J, Diehl AM. Implication of Gut Microbiota in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *PLoS Pathog* 2015 ; 11(1): e1004559

- [439] Burcelin R, Serino M, Chabo C, Blasco-Baque V, Amar J. Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective. *Acta diabetolog* 2011 ; 48 : 257_73
- [440] Hartmann P, Chen WC, Schnabl B. The intestinal microbiome and the leaky gut as therapeutic targets in alcoholic liver disease. *Frontiers in physiology* 2012 ; 3 : 402
- [441] Mathurin P, Deng QG, Keshavarzian A, Choudhary S, Holmes EW, Tsukamoto H. Exacerbation of alcoholic liver injury by enteral endotoxin in rats. *Hepatology* 2000 ; 32 :1008_17
- [442] Adachi Y, Moore LE, Bradford BU, Gao W, and Thurman RG. Antibiotics prevent liver injury in rats following long-term exposure to ethanol. *Gastroenterol* 1995 ; 108 : 218_24
- [443] Llopis M, Cassard AM, Wrzosek L, Boschats L, Bruneau A, Ferrere G, and al. Intestinal microbiota contributes to individual susceptibility to alcoholic liver disease. *Gut* 2015 ; 1-10
- [444] Chassaing B, Darfeuille-Michaud A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol* 2011 ; 140 (6): 1720_8
- [445] Van Gossum A. Probiotics and Inflammatory Bowel Diseases (IBD). *Nutrition clinique et métabolisme* 2007 ; 21 : 81_4
- [446] Uzan A, Jolly D, Berger E, Diebold MD, Geoffroy P, Renard P, and al. Protective effect of appendectomy on the development of ulcerative colitis. A case-control study. *Gastroenterol clin biol* 2001 ; 25 : 239_42
- [447] Cortot A, Pineton de Chambrun G, Vernier-Massouille G, Vigneron B, Gower Rousseau C. Inflammatory bowel disease: genetic or environmental diseases? *Gastroenterol clin bio* 2009 ; 33 : 681_91
- [448] Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol* 2008 ; 134(2): 577_94
- [449] Kaur N, Chen CC, Luther J, Kao JY. Intestinal dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut microbes* 2011 ; 2 : 211_6
- [450] Kostic AD, Ramnik JX, Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterol* 2014 ; 146: 1489_99
- [451] Hold GL, Smith M, Grange C, Watt ER, El-Omar EM, Mukhopadhyay I. Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: What have we learnt in the past 10 years? *World J Gastroenterol* 2014; 20(5): 1192_210
- [452] Dey N, Soergel DA, Repo S, Brenner SE. Association of gut microbiota with post-operative clinical course in Crohn's disease. *BMC gastroenterol* 2013 ; 13 :131
- [453] Seksik P. Gut microbiota and IBD. *Gastroentérol Clin Biol* 2010 ; 34 (1): S44-51

- [454] Varela E, Manichanh C, Gallart M, Torrejon A, Borruel N, Casellas F, and al. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Alim pharmacotherap* 2013 ; 38, 151_61
- [455] Vigsnaes LK, van den Abbeele P, Sulek K, Frandsen HL, Steenholdt C, Brynskov J, and al. Microbiotas from UC patients 154 display altered metabolism and reduced ability of LAB to colonize mucus. *Scientific reports* 2013 ; 3 : 1110
- [456] Lee BJ, Bak YT. Irritable bowel syndrome, gut microbiota and probiotics. *J Neurogastroenterol Motil* 2011 ; 17(3): 252_66
- [457] Ducrotté P. Microbiote et syndrome de l'intestin irritable. *La Lettre de l'Hépatogastroentérologie* 2011 ; 14(4) : 155_9
- [458] Salonen A, de Vos WM, Palva A. Gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome: present state and perspectives. *Microbiology* 2010 ; 156 : 3205_15
- [459] Rinttilä T, Lyra A, Krogius-Kurrika L, Palva A. Real-time PCR analysis of enteric pathogens from fecal samples of irritable bowel syndrome subjects. *Gut Pathog* 2011; 3:6
- [460] Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, Clemente MG, Tripathi A, Sapone A, Manjusha Thakar, and al. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroentero* 2006 ; 41(4): 408_19
- [461] Verdu EF, Galipeau HJ, and Jabri B. Novel players in coeliac disease pathogenesis: role of the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepato* 2015 ; 12 :497_50
- [462] Caminero A, Nistal E, Herrán AR, Pérez-Andrés J, Ferrero MA, Vaquero Ayala L, and al. Differences in gluten metabolism among healthy volunteers, coeliac disease patients and first-degree relatives. *Br J Nutr* 2015 ; 114(8):1157_67
- [463] Mulder SJ, Mulder-Bos GC. Most probable origin of coeliac disease is low immune globulin A in the intestine caused by malfunction of Peyer's patches. *Medical Hypotheses* 2006 ; 66(4): 757_62
- [464] Joly F, Coffin B, Messing B. Role de la flore dans les pathologies digestives (maladie de Crohn, rectocolite ulcérohémorragique, cancer colorectal exclus). *Nutr clin métab* 2007 ; 21 : 89-94
- [465] Surawicz CM. Le microbiote dans les diarrhées infectieuses. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 2010 ; 34 : 31-40
- [466] Vael C, Vanheirstraeten L, Desager KN, Goossens H. Denaturing gradient gel electrophoresis of neonatal intestinal microbiota in relation to the development of asthma. *BMC Microbiol* 2011; 11 : 68

- [467] Nakayama J, Kobayashi T, Tanaka S, Korenori Y, Tateyama A, Sakamoto N, and al. Aberrant structures of fecal bacterial community in allergic infants profiled by 16S rRNA gene pyrosequencing. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2011 ; 63 : 397-406
- [468] Bisgaard H, Li N, Bonnelykke K, Chawes BL, Skov T, Paludan-Müller G, and al. Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy is associated with increased risk of allergic disease at school age. *J Allergy Clin Immunol* 2011 ; 128 : 646_52
- [469] Thompson-Chagoyan OC, Vieites JM, Maldonado J, Edwards C, Gil A. Changes in faecal microbiota of infants with cow's milk protein allergy-a Spanish prospective case-control 6-month follow-up study. *Pediatr Allergy Immunol* 2010 ; 21 : e394-400
- [470] Schmidt B, and al. Establishment of normal gut microbiota is compromised under excessive hygiene conditions. *PLoS One* 2011 ; 6(12): e28284
- [471] Nimwegen V, and al. Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy. *J Allergy Clin Immunol* 2011 ; 128(5): 948_55
- [472] Hsiao EY, and al. Microbiota Modulate Behavioral and Physiological Abnormalities Associated with Neurodevelopmental Disorders. *Cell* 2013 ; 155 : 1-13
- [473] Seneff S, Swanson N, Li C. Aluminum and Glyphosate Can Synergistically Induce Pineal Gland Pathology: Connection to Gut Dysbiosis and Neurological Disease. *AS* 2015 ; 6(1) : 42-70
- [474] Ochoa-Repáraz J, Mielcarz DW, Haque-Begum S, Kasper LH. Induction of a regulatory B cell population in experimental allergic encephalomyelitis by alteration of the gut commensal microflora. *Gut Microbes* 2010 ; 1(2): 103_8
- [475] Lee YK, Menezes JS, Umesaki Y, Mazmanian SK. Proinflammatory T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Nat Acad Sci USA*. 2011 ; 108(1): 4615_22
- [476] Miyake S, Kim S, Suda W, Oshima K, Nakamura M, Matsuoka T, and al. Dysbiosis in the Gut Microbiota of Patients with Multiple Sclerosis, with a Striking Depletion of Species Belonging to Clostridia XIVa and IV Clusters. *PLoS ONE* 2015 ; 10(9): e0137429
- [477] Bhargava P, Mowry EM. Gut Microbiome and Multiple Sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2014 ; 14: 492
- [478] Scheperjans F, and al. Gut Microbiota Are Related to Parkinson's Disease and Clinical Phenotype. *Mov Disord* 2015 ; 30 (3) : 350_8
- [479] Derkinderen P, Shannon KM, Brundin P. Gut feelings about smoking and coffee in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2014 ; 29(8) : 976_9

- [480] De Palma G, Blennerhassett P, Lu J, Deng Y, Park AJ, Bercik P, and al. Microbiota and host determinants of behavioural phenotype in maternally separated mice. *Nat comm* 2015 ; 6: 7735
- [481] Fond G, and al. Le rôle potentiel du microbiote intestinal dans les troubles psychiatriques majeurs: mécanismes, données fondamentales, comorbidités gastro-intestinales et options thérapeutiques. *Presse Med* 2016 ; 45(1) : 7-19
- [482] Dinan TG, Borre1 YE, Cryan JF. Genomics of schizophrenia: time to consider the gut microbiome. *Molecular Psychiatry* 2014 ; 19 : 1252_7
- [483] Rath HC, Herfarth HH, Ikeda JS, Grenther WB, Hamm TE Jr, Balish E, and al. Normal luminal bacteria, especially *Bacteroides* species, mediate chronic colitis, gastritis, and arthritis in HLA-B27/human beta2 microglobulin transgenic rats. *J Clin Invest* 1996 ; 98 : 945_53
- [484] Scher JU, Sczesnak A, Longman RS, Littman DR, and al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *Elife* 2013 ; 2 : e01202
- [485] Stoll ML, and al. Altered microbiota associated with abnormal humoral immune responses to commensal organisms in enthesitis-related arthritis. *Arth Res Ther* 2014; 16: 486
- [486] Costello ME, et al. Intestinal dysbiosis in ankylosing spondylitis. *Arth Rheum* 2015 ; 67(3) : 686_91
- [487] Scher JU, Abramson SB. The microbiome and rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheum* 2011 ; 7(10): 569_78
- [488] Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, Kanda H, Sato S, Oyadomari S, and al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature* 2013 ; 499 :97-101
- [489] Dapito DH, Mencin A, Gwak GY, Pradere JP, Jang MK, Mederacke I, and al. Promotion of hepatocellular carcinoma by the intestinal microbiota and TLR4. *Cancer Cell* 2012 ; 21 : 504_16
- [490] Chen GY, Shaw MH, Redondo G, Nunez G. The innate immune receptor Nod1 protects the intestine from inflammation-induced tumorigenesis. *Cancer Res* 2008 ; 68 : 10060_7
- [491] Ma J, Liu W, Zhang L, Pan K, Zhao H, Zhou T, and al. A placebo-controlled trial of 10-day bismuth-based quadruple therapy to eradicate *Helicobacter pylori* infection; a pilot study for the large Linqu County trial. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010 ; 22 : 597-601
- [492] Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, and al. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004 ; 291 : 187_94

- [493] Pradere JP, Dapito DH, Schwabe RF. The Yin and Yang of Toll-like receptors in cancer. *Oncogene* 2014 ; 33 : 3485_95
- [494] Peek RM Jr, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer* 2002 ; 2 : 28-37
- [495] Fox JG, Wang TC. Inflammation, atrophy, and gastric cancer. *J Clin Invest* 2007 ; 117 : 60_9
- [496] Serban DE. Gastrointestinal cancers: Influence of gut microbiota, probiotics and prebiotics. *Cancer Lett* 2014 ; 345(2): 258_70
- [497] Yu LX, Yan HX, Liu Q, Yang W, Wu HP, Dong W, and al. Endotoxin accumulation prevents carcinogen-induced apoptosis and promotes liver tumorigenesis in rodents. *Hepatology* 2010 ; 52 : 1322_33
- [498] Seki E, De Minicis S, Osterreicher CH, Kluwe J, Osawa Y, Brenner DA, and al. TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis. *Nat Med* 2007 ; 13 : 1324_32
- [499] Wiest R, Garcia-Tsao G. Bacterial translocation (BT) in cirrhosis. *Hepatology* 2005 ; 41 : 422_33
- [500] Michaud DS. Chronic inflammation and bladder cancer. *Urol Oncol* 2007 ; 25 : 260_8
- [501] Arthur JC, Perez-Chanona E, Muhlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan TJ, and al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science* 2012 ; 338 : 120_3
- [502] Boleij A, Hechenbleikner EM, Goodwin AC, Badani R, Stein EM, Lazarev MG. The *Bacteroides fragilis* toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients. *Clin Infect Dis* 2015 ; 60(2):208_15
- [503] Huycke MM, Abrams V, Moore DR. *Enterococcus faecalis* produces extracellular superoxide and hydrogen peroxide that damages colonic epithelial cell DNA. *Carcinogenesis* 2002 ; 23(3): 529_36
- [504] Nougayrède JP, Oswald E. Microbiota and colorectal cancer: genotoxic bacteria in the intestinal tract, *Bull. Acad Natl Med* 2011 ; 195 : 1295_304
- [505] Lafay L, Ancellin R. Alimentation et cancer colorectal. *Cahiers de nutrition et de diététique* 2015 ; 50 (5) : 262_70
- [506] Sandek A, Anker SD, von Haehling S. The gut and intestinal bacteria in chronic heart failure. *Curr Drug Metab* 2009 ; 10(1): 22_8
- [507] Koren O, and al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108 (1): 4592_8

- [508] Backhed F. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: the normal gut microbiota in health and disease. Clin Exp Immunol 2010 ; 160(1): 80_4
- [509] Ayada K, and al. Chronic infections and atherosclerosis. Clin Rev Allergy Immunol 2009 ; 37(1): 44_8
- [510] Zhang H, Liao X, Sparks JB, Luob XM. Dynamics of gut microbiota in autoimmune lupus. AEM 2014 ; 80(24): 7551_60
- [511] Lakhan SE, Kirchgessner A. Gut inflammation in chronic fatigue syndrome. Nutrition & Metabolism 2010 ; 7 : 79
- [512] Nicolas G. Le syndrome de Guillain-Barré : nouveaux concepts et conséquences pratiques. Pratique Neurologique FMC 2015 ; 6(2) :80_6
- [513] Guarneri F, Dario C, Saraceno G, Trimarchi F, Benvenga S. Bioinformatics support the possible triggering of autoimmune thyroid diseases by Yersinia enterocolitica outer membrane proteins homologous to the human thyrotropin receptor. Thyroid: Off J Ame Thyroid Asso 2011 ; 21 (11): 1283_4
- [514] Effraïmidis G, Tijssen JGP, Strieder TGA, Wiersinga WM. No causal relationship between Yersinia enterocolitica infection and autoimmune thyroid disease: evidence from a prospective study. Clin Exper Immunol 2011 ; 165(1): 38-43
- [515] Cozon GJN. Carence en fer et troubles digestifs. Trans Clin Bio 2014 ; 21 : 189_92
- [516] Fetissov SO, and al. Gut Commensal E. coli Proteins Activate Host Satiety Pathways following Nutrient-Induced Bacterial Growth. Cell 2016 ; 23(2) : 324_34
- [517] Ounnas F, and al. P191 : La consommation de seigle complet augmente les acides gras à chaîne longue oméga-3 et modifie le profil du microbiote intestinal chez le rat. Nutr clin métab 2014 ; 28 : S168
- [518] Roberfroid M, Gibson GR, Hoyles L, McCartney AL, Rastall R, Rowland I, and al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. Brit J Nutr 2010 ; 104 (2): S1-63
- [519] Marteau P. Microbiote intestinal. EMC Gastroenterol 2013 ; 8 (2): 1-8
- [520] Choque Delgado GT, and al. The putative effects of prebiotics as immunomodulatory agents. Food Research International 2011 ; 44(10) : 3167_73
- [521] Al-Sheraji SH, Ismail A, Manap MY, and al. Prebiotics as functional foods: A review. J func foods 2013 ; 5 : 1542_53
- [522] Dewulf EM, Cani PD, Claus SP, Fuentes S, Delzenne NM, and al. Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. Gut 2013 ; 62(8): 1112_21

- [523] Slavin J. fiber and prebiotics : Mechanisms and Health benefits. *Nutrients* 2013 ; 5(4) : 1417_35
- [524] Binns N. Probiotics, prebiotics and the gut microbiota. *ILSI Europe* 2013 ; 1-32
- [525] USDA, U.S. Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference [en ligne]. www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/ consulté le 15 Février 2016
- [526] Membrez M, and al. Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J* 2008. 22(7): 2416_26
- [527] Bech-Nielsen GV, and al. Manipulation of the gut microbiota in C57BL/6 mice changes glucose tolerance without affecting weight development and gut mucosal immunity. *Res Vet Sci* 2012 ; 92(3): 501_8
- [528] Ajslev TA, et al. Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: the role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics. *Int J Obes Lond.* 2011 ; 35(4): 522_9.
- [529] Soczynska JK, Mansur RB, Brietzke E, Swardfager W, Kennedy SH, Woldeyohannes HO, et al. Novel therapeutic targets in depression: minocycline as a candidate treatment. *Behav Brain Res.* 2012 ; 235: 302_17
- [530] Miyaoka T, Wake R, Furuya M, Liaury K, Ieda M, Kawakami K, et al. Minocycline as adjunctive therapy for patients with unipolar psychotic depression: an open-label study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012 ; 37: 222_6
- [531] FAO/WHO, Food and Agriculture Organization/ World Health Organization. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. In: Pineiro M, & Schlundt J, eds. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, 1-4 October, 2001, Cordoba, Argentina. Roma: FAO, http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf consulté le 23 février 2016
- [532] Règlement (CE) n°1924/2006 du Parlement européen et du Conseil du 20 décembre 2006 concernant les allégations nutritionnelles et de santé portant sur les denrées alimentaires. *J Off Union Eur, L* 12, 3-18
- [533] Shinohara K. Functional foods for specific health use. The needs for compositional data. In: Greenfield H, ed. Quality and accessibility of food related data. *Proc Inter food data base, USA: AOAC International.* 1993; 305_10
- [534] Dahir n° 1-06-151 du 30 chaoual 1427 portants promulgation de la loi n° 17-04 portant code du médicament et de la pharmacie. (BO. n° 5480 du 7 décembre 2006)
- [535] Flourié B, Nancey S. Propriétés fonctionnelles des probiotiques. *Cah Nutr Diet* 2007 ; 42 : 38-44

- [536] Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab* 2012 ; 61(2) : 160_74
- [537] Gao XW, Mubasher M, Fang CH, Reifer C, Miller LE. Dose-response efficacy of a proprietary probiotic formula of *Lactobacillus acidophilus* CL1285 and *Lactobacillus casei* LBC80R for antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile*-associated diarrhea prophylaxis in adult patients. *Am J Gastroenterol* 2010 ; 105 (7): 1636_41
- [538] Carré D, Simon F, Hance P, Coton T, Delpy R, Guisset M. Diarrhée du voyageur. *EMC-Hépatogastro-entérologie* 2005 ; 2(3) : 249_63
- [539] McFarland LV. Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients. *WJG* 2010 ; 16(18) : 2202_22
- [540] LaRue H, Ayari C, Bergeron A, Fradet Y. Toll-like receptors in urothelial cells--targets for cancer immunotherapy. *Nat Rev Urol* 2013 ; 10 : 537_45
- [541] Viaud S, and al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013 ; 342(6161): 971_6
- [542] Iida N, and al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* 2013 ; 342(6161): 967_70
- [543] Kirpich IA, and McClain CJ. Probiotics in the treatment of the liver diseases. *J Am Coll Nutr* 2012 ; 31 : 14-23
- [544] Festy D. Le grand livre des probiotiques et des prébiotiques : Allergies, immunité, candidose... Le guide de référence pour rééquilibrer sa flore intestinale et retrouver santé et bien-être. Paris : Leduc.s Éditions ; 2014
- [545] Farnworth ER. Kefir: from folklore to regulatory approval. *J Nutraceuticals Funct Med Foods* 1999 ; 1 : 57-68
- [546] Kootte RS, and al. The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab* 2012 ; 14(2): 112_20
- [547] Moroti C, and al. Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. *Lipids Health Dis* 2012 ; 11: 29
- [548] Roselino MN, and al. A potential synbiotic product improves the lipid profile of diabetic rats. *Lipids Health Dis* 2012 ; 11(1): 114
- [549] Frece J, Kos B, Svetec IK, Zgaga Z, Beganović J, Lebos A, and al. Synbiotic effect of *Lactobacillus helveticus* M92 and prebiotics on the intestinal microflora and immune system of mice. *J Dairy Res* 2009 ; 76(1):98-104

- [550] ANSM, Agence nationale de sécurité du médicament et de produits de santé. La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques; 2014. www.ansm.sante.fr consulté le 29 février 2016
- [551] Vavrickaa S, Biedermannb L, Wilhelmic M. Une approche thérapeutique ancienne remise au goût du jour : Transplantation fécale. EMH MEDIA 2015 ; 15(49) :1147_54
- [552] Megerlin F, Fouassier E. le transfert de microbiote intestinal à finalité thérapeutique : quel droit applicable en France ? Ann Pharm Fr 2014 ; 72(5) : 363_74
- [553] Fumery M, and al. Intérêt et technique de la transplantation fécale. J anti-infect 2013 ; 15 :187_92
- [554] Damman CJ, Miller SI, Surawicz CM, and Zisman TL. The microbiome and inflammatory bowel disease: is there a therapeutic role for fecal microbiota transplantation? Am J Gastroenterol 2012 ; 107 : 1452_9
- [555] Khoruts A, Dicksved J, Jansson JK, Sadowsky MJ. Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. J Clin Gastroenterol 2010; 44 (5) : 354_60
- [556] Grehan MJ, Borody TJ, Leis SM, Campbell JC, Mitchell H, et Wettstein A. Durable alteration of the colonic microbiota by the administration of donor fecal flora. J Clin Gastroenterol 2010 ; 44 (8) : 551_61
- [557] Whittle N, Li L, Chen WQ, Yang JW, Sartori SB, Lubec G, and al. Changes in brain protein expression are linked to magnesium restriction-induced depression-like behavior. Amino

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis

Fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes

Confrères si je manquais à mes engagements.



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
الرياضة -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم
والله اعلم بالصواب

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاو مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد



بكتيريات الجهاز الهضمي
وصحة الإنسان
أطروحة:

قدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرف

الآنسة : فالحة الزهرى مجدوب

المزودة في 22 مارس 1989 بالدار البيضاء

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية : بروبوتيك – بكتيريات الجهاز الهضمي – بريبيوتيك – زرع البكتيريات البرازية – خلل في توازن البكتيريا.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد : ميمون الزهدي

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

مشرف

السيد : ياسين سخوخ

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

السيدة : سعيدة طلال

أستاذة في الكيمياء الحيوية

السيدة : مريم شادلي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

السيد : أحمد كوزي

أستاذ في طب الأطفال

أعضاء