

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE: 2018

THESE 2018/TOU3/2040

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par

Emilie Dolié

Rôle de la flore intestinale dans l'immunité : usage actuel des
probiotiques et futures indications

Le Lundi 9 juillet 2018

Directeur de thèse :

Mme le Docteur Anne-Dominique TERRISSE

Jury :

Président : Mr le Professeur Gérard CAMPISTRON
1er assesseur : Mme le Docteur Anne-Dominique TERRISSE
2ème assesseur : Mme le Docteur Brigitte MONSARRAT

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 08 janvier 2018

Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SIE P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
Mme BENDERBOUS S.	Mathématiques – Biostat.
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique	Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme DE MAS MANSAT V. (*)	Hématologie	Mme AUTHIER H.	Parasitologie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique	M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique	Mme BON C.	Biophysique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique	M. BOUAJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme SERONIE-VIVIEN S.	Biochimie	Mme BOUTET E. (*)	Toxicologie - Sémiologie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie	M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
		Mme CABOU C.	Physiologie
		Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
		Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
		Mme COLACIOS-VIATGE C.	Immunologie
		Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
		M. DELCOURT N.	Biochimie
		Mme DERAËVE C.	Chimie Thérapeutique
		Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
		Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F.	Toxicologie
		Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
		Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
		Mme LEFEVRE L.	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
		M. LEMARIE A.	Biochimie
		M. MARTI G.	Pharmacognosie
		Mme MIREY G. (*)	Toxicologie
		Mme MONFERRAN S.	Biochimie
		M. OLICHON A.	Biochimie
		Mme REYBIER-VUATTOUX K. (*)	Chimie Analytique
		M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
		M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
		Mme TOURRETTE-DIALO A.	Pharmacie Galénique
		Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
		Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires	
Mme COOL C.	Physiologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. METSU D.	Pharmacologie
Mme PALUDETTO M.N.	Chimie thérapeutique
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
M. PERES M.	Immunologie
Mme SALABERT A.S	Biophysique

Remerciements :

Je tiens tout particulièrement à remercier,

Les membres du jury, d'avoir accepté de juger mon travail : Mr le Professeur Campistron, Mme le Docteur Monsarrat, et en particulier Mme le Docteur Terrisse, pour avoir été ma directrice de thèse. Je vous remercie pour le temps que vous m'avez accordé et pour vos précieux conseils.

Maman, Papa,

Grâce à vous, j'ai pu réaliser mes études dans les meilleures conditions. Je vous remercie également pour votre soutien lors de ce travail mais aussi durant toutes ces années d'études. Votre exemple m'a aidé à atteindre mes objectifs.

Mes frères, Nicolas, Quentin, Gaspard et Félix,

Pour les moments de détente partagés ensemble les weekends.

Mes grands-parents maternels,

Pour votre soutien tout au long de ces années ainsi que pour votre accueil lors de mes révisions de la première année de concours jusqu'à cette année de thèse. Aux bons repas de Mamie et aux promenades avec Papi entre deux chapitres.

Mes grands-parents paternels,

Pour leur bienveillance, leur soutien et les heureux repas partagés en famille.

Tous les autres membres de ma famille,

Qui m'ont soutenue de près ou de loin durant ces années et pour les bons moments partagés ensemble.

Yoann,

Je te remercie pour ton aide et ta patience lors de la rédaction de cette thèse. Mais également pour tout le soutien et le bonheur que tu m'apportes chaque jour.

Mes amis,

Anais et cette expérience inoubliable au Laos, Cindy pour tous ces moments depuis la P1, Estelle pour sa bonne humeur, Gwenaël pour nos footings et les repas au RU, Julien pour nos restaurants du vendredi.

Merci pour toutes ces années et au plaisir de partager les prochaines.

Table des matières :

Table des figures :	7
Liste des abréviations :	9
Introduction :	12
PARTIE 1 : Le microbiote intestinal	13
I. Flore intestinale, définition :	14
A. L'épithélium intestinal :	14
B. Analyse :	15
C. Composition :	16
D. Mise en place :	18
II. Les fonctions de la flore intestinale :	21
A. Fonction de barrière et de protection :	21
B. Fonction métabolique :	22
• Le métabolisme des glucides :	22
• Le métabolisme des gaz :	22
• Le métabolisme des protéines :	23
• Le métabolisme des lipides :	23
C. Fonction immunitaire :	23
III. Le système immunitaire digestif :	25
• L'immunité innée :	25
• L'immunité adaptative :	27
IV. Interactions hôte – microbiote dans l'intestin : homéostasie intestinale :	29
V. Variation de la flore au cours du temps :	30
• L'alimentation :	30
• L'usage de médicaments tels que les antibiotiques :	30
• Les hospitalisations :	30
• Certaines situations cliniques :	30
• L'âge :	31
PARTIE 2 : Relation entre microbiote et pathologies	32
I. Pathologies gastro-intestinales :	33
A. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin :	33
1. La maladie de Crohn :	33
2. La rectocolite hémorragique :	37
B. Les infections à Clostridium difficile :	40

II.	Pathologies extra-digestives : -----	44
A.	Surpoids, obésité et diabète : -----	44
B.	Les maladies auto-immunes : -----	56
1.	Le lupus érythémateux disséminé :	56
2.	La polyarthrite rhumatoïde :	60
C.	Les troubles du spectre de l'autisme : -----	69
 PARTIE 3 : Usage actuel des probiotiques et nouvelles stratégies thérapeutiques		74
I.	Les probiotiques : -----	75
A.	Définition : -----	75
1.	Historique :	75
2.	Définition actuelle :	75
3.	Mécanismes d'action :	76
4.	Effets indésirables :	78
5.	Survie des bactéries lactiques dans le tractus digestif :	79
B.	Usage actuel des probiotiques : -----	81
1.	La diarrhée associée aux antibiotiques :	83
2.	La diarrhée aiguë :	85
3.	Le syndrome du côlon irritable :	86
4.	La constipation :	87
5.	La colique du nourrisson :	88
C.	Nouveaux usages des probiotiques : -----	89
1.	La maladie de Crohn :	89
2.	La rectocolite hémorragique :	90
3.	Les infections à C. difficile :	91
4.	La polyarthrite rhumatoïde :	93
II.	La transplantation de microbiote fécal : -----	94
A.	Historique : -----	94
B.	Indications : -----	94
C.	Sélection du donneur et mode opératoire : -----	94
D.	Règlementation : -----	95
E.	Résultats actuels : -----	96
1.	Infections à C. difficile :	96
2.	Maladie de Crohn :	97
3.	Rectocolite hémorragique :	97
4.	Syndrome métabolique :	98
5.	Troubles du spectre de l'autisme :	99
 SYNTHESE :		101
 Conclusion générale :		103
 Bibliographie :		105

Table des figures :

<u>Figure 1</u> : L'épithélium intestinal. (Abreu 2010)	14
<u>Figure 2</u> : Concentration en bactéries le long du tube digestif. (Le Lay 2015).....	16
<u>Figure 3</u> : Composition de la flore intestinale. (Cheng et al. 2013)	17
<u>Figure 4</u> : Les cellules immunitaires intestinales. (Muniz et al. 2012)	26
<u>Figure 5</u> : Abondance relative des phyla bactériens dominants dans les échantillons fécaux de sujets témoins en bonne santé, chez les patients présentant un épisode initial d'ICD et chez les patients atteints d'une forme récurrente d'ICD. (Chang et al. 2008).....	43
<u>Figure 6</u> : Corpulence selon l'Indice de Masse Corporelle (IMC) (Alliance Apnées du sommeil 2017).....	44
<u>Figure 7</u> : Représentation schématique d'un « bypass ». (HAS, 2009)	46
<u>Figure 8</u> : Comparaison de souris élevées de manière conventionnelle (CONV-R) à des souris axéniques colonisées à l'âge adulte par le microbiote caecal de souris élevées de manière conventionnelle (CONV-D). Souris témoins axéniques (GF). (Bäckhed et al. 2004).....	49
<u>Figure 9</u> : Impact d'une alimentation riche en graisse sur la concentration d'ADN bactérien dans différents tissus chez la souris : sang (blood), tissu adipeux (MAT) et nodules lymphoïdes associés (MLN). Rôle des récepteurs NOD1, NOD2 et CD14. (Amar et al. 2011)	52
<u>Figure 10</u> : Représentation des phylums composant le microbiote d'échantillons fécaux de sujets témoins (HC) et de sujets atteints de lupus (SLE). (Hevia et al. 2014)	58
<u>Figure 11</u> : Représentation des articulations de la main d'un patient touché par la PAR en comparaison à un sujet non atteint. (« Polyarthrite rhumatoïde et Micro-Immunothérapie » 2015).....	61
<u>Figure 12</u> : Abondance relative des phyla de Firmicutes et Bacteroidetes dans 4 groupes de patients (NORA : PAR nouvellement diagnostiquée et non traitée, HLT : témoins sains, CRA : PAR chronique traitée, PsA : rhumatisme psoriasique). (Scher et al. 2013)	63
<u>Figure 13</u> : Abondance relative des familles de Firmicutes et Bacteroidetes dans les 4 groupes de patients. (Scher et al. 2013)	63
<u>Figure 14</u> : Abondance relative des familles bactériennes entre les souris gavées avec le milieu seul et les souris gavées avec P. copri. (Scher et al. 2013)	64
<u>Figure 15</u> : Composition bactérienne des microbiotes fécaux des souris RA-SKG et HC-SKG. (Maeda et al. 2016).....	65

<u>Figure 16</u> : Comparaison du nombre de lymphocytes T CD4 ⁺ retrouvés dans le gros intestin de souris RA ou HC. (Maeda et al. 2016)	66
<u>Figure 17</u> : Comparaison du score d'arthrite et du gonflement des chevilles entre les souris RA et HC pendant les 8 semaines suivant l'injection de zymosan. (Maeda et al. 2016).....	67
<u>Figure 18</u> : Tests comportementaux chez la progéniture MIA. S = solution saline + véhicule, P = poly (I: C) + véhicule, P + BF = poly (I: C) + B. fragilis. (Hsiao et al. 2013)	71
<u>Figure 19</u> : Transplantation de microbiote fécal dans le syndrome métabolique. (Vrieze et al. 2012).....	98
<u>Figure 20</u> : Transplantation de microbiote fécal chez des enfants souffrants de TSA. (Kang et al. 2017).....	100

Liste des abréviations :

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGCC : Acides Gras à Courtes Chaines

AIEC : Adherent-invasive Escherichia coli

AINS : Anti Inflammatoire Non Stéroïdien

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

ARN : Acide ribonucléique

CD14 : cluster of differentiation 14

CI : Complexe Immun

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

CRA : Chronic Rheumatoid Arthritis

DAA : Diarrhée Associée aux Antibiotiques

DSS : Dextran Sulfate Sodium

FR : facteur rhumatoïde

GALT : tissu lymphoïde associé au tube digestif

GF : Germ Free

GLP-1 : glucagon-like peptide-1

HAS : Haute Autorité de Santé

HbA1c : Hémoglobine glyquée

HC : Healthy control

HD : alpha defensin

HFD : High-Fat Diet

HLA : human leukocyte antigen

HLT : Healthy control

ICD : Infections à Clostridium difficile

IgA : Immunoglobulines A

IL : Interleukine

ILC : Cellules Lymphoïdes Innées

IMC : Indice de Masse Corporelle

INF : Interféron

INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

IV : Intraveineux

LED : Lupus Erythémateux Disséminé

LPS : Lipopolysaccharide
MALT : tissu lymphoïde associé aux muqueuses
MAM : Microbial Anti inflammatory Molecule
MAP-K : Mitogen-Activated Protein Kinase
MC : Maladie de Crohn
MDP : Muramyl dipeptide
MIA : Activation Immunitaire Maternel
MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin
MTT : Microbiota Transfert Therapy
NF- κ B : nuclear factor-kappa B
NLR : NOD-like receptors
NOD : Nucleotide-binding Oligomerization Domain
NORA : New-Onset Rheumatoid Arthritis
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAMPs : motifs associés aux pathogènes
PAR : Polyarthrite Rhumatoïde
PG : Peptidoglycanes
pH : Potentiel Hydrogène
PPAR : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor
PRR : Pattern Recognition Receptor
PsA : Rhumatisme Psoriasique
PUCAI : Paediatric Ulcerative Colitis Activity Index
RA : Rheumatoid Arthritis
RCH : Rectocolite Hémorragique
RLR : RIG-I-like receptors
RYGB : Roux-en-Y Gastric Bypass
SHGM : Standardized Human Gut Microbiota
SII : Syndrome de l'Intestin Irritable
TGF : Transforming growth Factor
TLR : Toll Like Receptor
TMF : Transplantation de Microbiote Fécal
TNBS : l'acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique
TNF : Tumor Necrosis Factor
TSA : Trouble du spectre de l'autisme

UCDAI : l'Ulcerative Colitis Disease Activity Index

UFC : Unité Formant Colonie

Introduction :

De nombreux compléments alimentaires à base de probiotiques sont vendus en pharmacie de nos jours. On retrouve beaucoup d'indications différentes, mais les probiotiques qui traitent les maux de la sphère gastro-intestinale sont les plus représentés.

Il s'agit pourtant d'un sujet que nous avons très peu abordé lors de nos études de pharmacie, et c'est pour cela qu'il me paraît intéressant d'étudier en détail la composition et les fonctions principales de la flore intestinale.

On entend souvent dire que l'intestin est notre deuxième cerveau, et la flore intestinale participe fortement à cet effet. Le microbiote intestinal est un environnement complexe qui semble jouer un rôle clé dans le bien-être de notre organisme.

De plus, malgré l'avancée des recherches, le microbiote intestinal est un écosystème sur lequel il y a encore beaucoup à découvrir.

En effet, les recherches se tournent vers des maladies dont les causes ne sont pas complètement établies et où la flore intestinale semble altérée. Faire un point sur ces recherches semble intéressant pour comprendre le rôle clé du microbiote.

Actuellement, les probiotiques sont utilisés sur les maux de la sphère digestive, comme pour le traitement de troubles digestifs ou en prévention lors de la prise d'antibiotiques.

Mais on peut se demander si l'on pourrait traiter d'autres maladies que les maux digestifs avec les probiotiques ?

De plus, y aurait-il d'autres stratégies pour rétablir un équilibre au niveau de la flore intestinale ? Comme l'administration directe d'une nouvelle flore aux patients ayant un microbiote altéré ?

Ce sont à ces questions que nous allons répondre tout au long de cette thèse.

PARTIE 1

Le microbiote intestinal

I. Flore intestinale, définition :

La flore, ou microbiote, est l'ensemble des micro-organismes non pathogènes dits commensaux, vivant dans un environnement spécifique appelé microbiome, chez un hôte qui peut être animal ou végétal ou une matière pouvant être elle-même d'origine animale ou végétale (Burcelin et al. 2016).

Notre organisme est composé de plusieurs microbiotes, notamment au niveau de la peau, de la bouche et du vagin, mais le microbiote intestinal est le plus important d'entre eux.

Les principaux micro-organismes qui composent le microbiote intestinal sont des bactéries, mais on y trouve aussi des archées, des virus et des champignons.

Le microbiote se localise entre la lumière du tube digestif et le mucus présent à la surface de l'épithélium intestinal, il est présent tout au long du tube digestif mais sa concentration est maximale au niveau de l'intestin grêle et du côlon. Au total, un individu abrite dans son tractus intestinal 10^{14} micro-organismes.

A. L'épithélium intestinal :

L'épithélium retrouvé le long de l'intestin grêle et du côlon est un épithélium prismatique simple constitué de plusieurs types cellulaires (Muniz et al. 2012). La structure particulière, sous forme d'invaginations et de cryptes, ainsi que la présence de microvillosités permet à ce tissu d'avoir une surface d'absorption très importante.

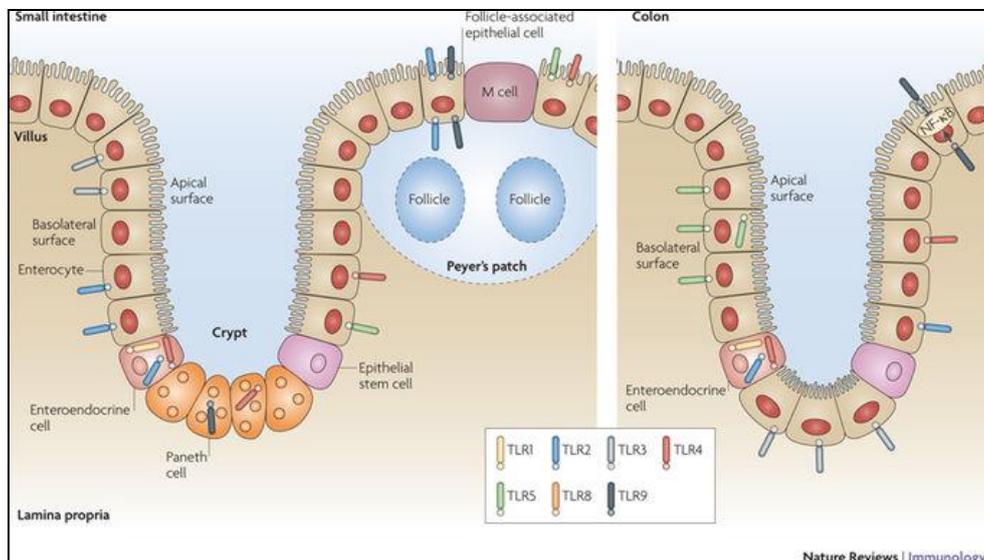


Figure 1 : L'épithélium intestinal. (Abreu 2010)

Les cellules majoritairement retrouvées sont les entérocytes (ou colonocytes au niveau du côlon). Ce sont des cellules pourvues de microvillosités ayant différentes fonctions. Elles permettent l'absorption des nutriments, grâce notamment à la production d'enzymes spécifiques et jouent également un rôle de protection par un effet barrière.

Les autres cellules sont des cellules sécrétrices :

- les cellules caliciformes qui sécrètent le mucus,
- les cellules endocrines,
- dans l'iléon les cellules M sont retrouvées au niveau des plaques de Payer où elles reconnaissent et captent les antigènes et les micro-organismes présents dans la lumière intestinale,
- au fond des cryptes de l'intestin grêle on retrouve les cellules de Paneth participant au système immunitaire inné en sécrétant des peptides antimicrobiens.

Sous l'épithélium de revêtement se situe un tissu conjonctif de soutien appelé lamina propria ou chorion. Ce tissu comporte un réseau vasculaire et lymphatique très dense qui permet l'absorption des nutriments digérés. Il renferme également de nombreux éléments cellulaires participant au système immunitaire, qui servent de ligne de défense contre les microbes qui auraient franchi l'épithélium intestinal.

B. Analyse :

Pendant de nombreuses années, le microbiote intestinal n'a pu être étudié qu'en partie, car la majorité des espèces qui le composent (notamment anaérobies strictes) ne sont pas cultivables in vitro ou nécessitent des milieux de cultures très spécifiques. Il a été estimé que seulement 30% des espèces de notre flore commensale sont cultivables in vitro.

Grâce à l'avènement de la biologie moléculaire et le développement du séquençage, la composition du microbiote intestinal a pu être étudiée plus en détail.

Le séquençage de l'ADN (Claude et al. 2011) consiste à déterminer l'enchaînement des nucléotides d'un fragment d'ADN donné. Depuis plus de 30 ans, le séquençage de l'ADN était réalisé par la méthode de synthèse enzymatique de Sanger. A partir des années 2000 sont apparus les premiers appareils à séquençage haut débit permettant d'effectuer le séquençage à une vitesse beaucoup plus rapide.

Dans un premier temps, les molécules d'ADN à analyser sont amplifiées. La seconde étape permet l'incorporation des bases complémentaires du brin à séquencer, puis on termine par la lecture de la séquence.

Pour déterminer la composition du microbiote intestinal (Qin et al. 2010), le séquençage du gène codant l'ARN ribosomal 16S est majoritairement utilisé.

L'ARN ribosomal 16S est une molécule présente dans toutes les bactéries. Elle possède des régions conservées communes à l'ensemble du domaine Bacteria, des régions variables communes aux bactéries d'un groupe bactérien et des régions hypervariables spécifiques d'une espèce.

L'analyse métagénomique est l'analyse de l'ensemble des génomes bactériens présent dans un écosystème donné. Le but est de découvrir l'ensemble des organismes qui composent un mélange complexe.

L'étude MetaHIT, lancée en 2008 et coordonnée par l'INRA, a eu pour objectif d'identifier l'ensemble des génomes microbiens intestinaux (métagénome) par séquençage haut débit.

Cette étude a été fondée sur l'analyse d'échantillons de selles recueillies auprès de 124 personnes. Elle a ainsi identifié un total de 3,3 millions de gènes différents, appartenant à plus de 1 000 espèces différentes, dont une large majorité est d'origine bactérienne.

Au plan individuel, cette étude a montré que chaque individu portait en moyenne 540 000 gènes microbiens, soient plus d'une centaine d'espèces, réparties en sept phyla différents. Il y a donc 150 fois plus de gènes dans le génome du microbiote que dans le génome humain. Ce fut surtout la première étude à démontrer l'extrême richesse de la flore intestinale, en identifiant des centaines d'espèces bactériennes inconnues jusque-là.

C. Composition :

Chaque individu abrite dans son tube digestif 10^{14} micro-organismes qui composent son microbiote intestinal (CDU-HGE 2014), ce qui est 10 fois plus important que le nombre total de cellules eucaryotes dans le corps humain.

Des variations qualitatives et quantitatives de la flore intestinale sont observées tout au long du tube digestif (Barbut et Joly 2010) de la bouche à l'anus. La flore buccale est très diversifiée et comprend des bactéries aérobies et anaérobies, la flore gastrique est en revanche limitée quantitativement et qualitativement. Les concentrations varient de manière croissante, en effet, au niveau de l'estomac il y a quelques centaines de bactéries par gramme de contenu alors qu'au niveau du côlon distal on retrouve 10^{11} bactéries par gramme de contenu.

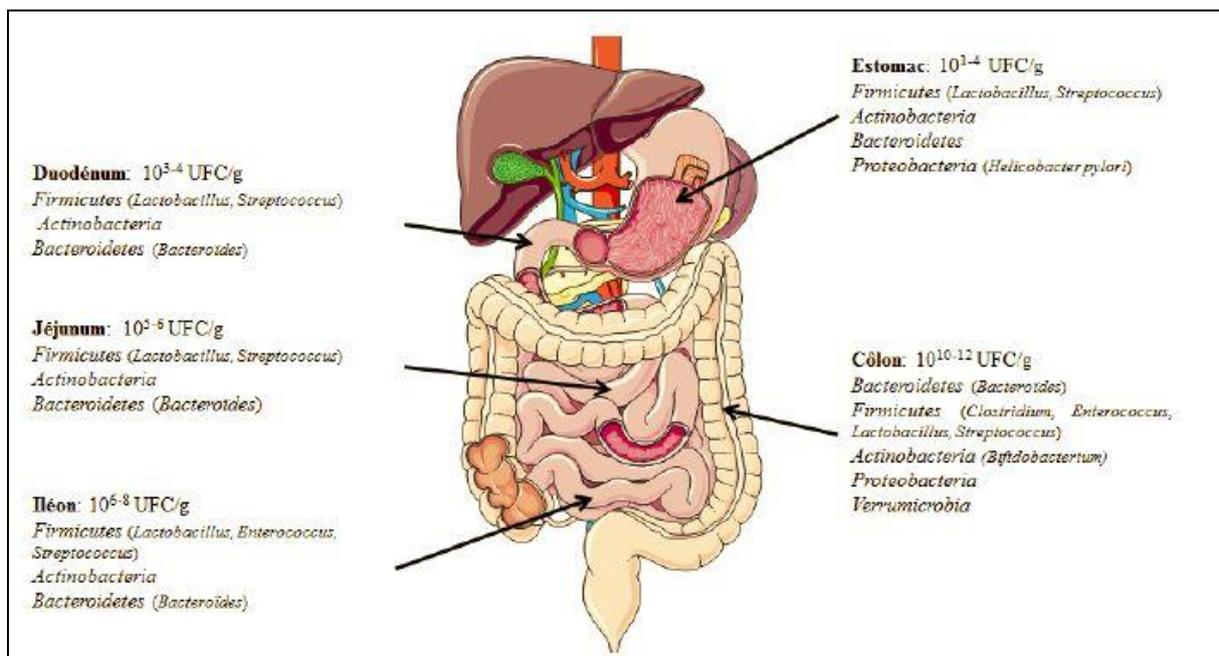


Figure 2 : Concentration en bactéries le long du tube digestif. (Le Lay 2015)

Le microbiote intestinal est propre à chaque individu, d'un point de vue qualitatif et quantitatif. Les micro-organismes majoritairement retrouvés sont les bactéries. On estime que chez chaque individu on retrouve près de 400 espèces bactériennes différentes de type anaérobie strict ou anaérobie facultatives.

Certaines espèces dominantes, qui sont présentes chez la majorité des individus, restent stables et permettent d'effectuer les fonctions essentielles du microbiote, elles sont associées à des populations minoritaires qui sont propres à chacun d'entre nous.

Les bactéries dominantes du microbiote peuvent être réparties en 3 phyla bactériens majeurs (Barbut et Joly 2010) :

- le phylum des Firmicutes :

Les Firmicutes sont des bactéries à gram positif. Elles représentent habituellement plus de la moitié des micro-organismes de la flore.

Ce phylum comporte 3 classes de bactéries :

- la classe I des Clostridia qui contient les genres Clostridium, Ruminococcus et Faecalibacterium,
- la classe II des Mollicutes contenant les bactéries du genre Mycoplasma
- la classe III des Bacilli contenant les genres Listeria, Staphylococcus, Lactobacillus, Enterococcus et Streptococcus.

- le phylum des Bacteroidetes :

Ce phylum représente jusqu'à 30% de la population bactérienne.

On y retrouve notamment les bactéries du genre Bacteroides qui sont des bactéries sous forme de bacille gram négatif anaérobie et le genre Prevotella.

- le phylum des Actinobacteria :

Les Actinobacteria représentent en général moins de 10% de la population du microbiote.

Ce sont des bactéries gram positif, notamment des genres Actinomyces, Mycobacterium ou Bifidobacterium.

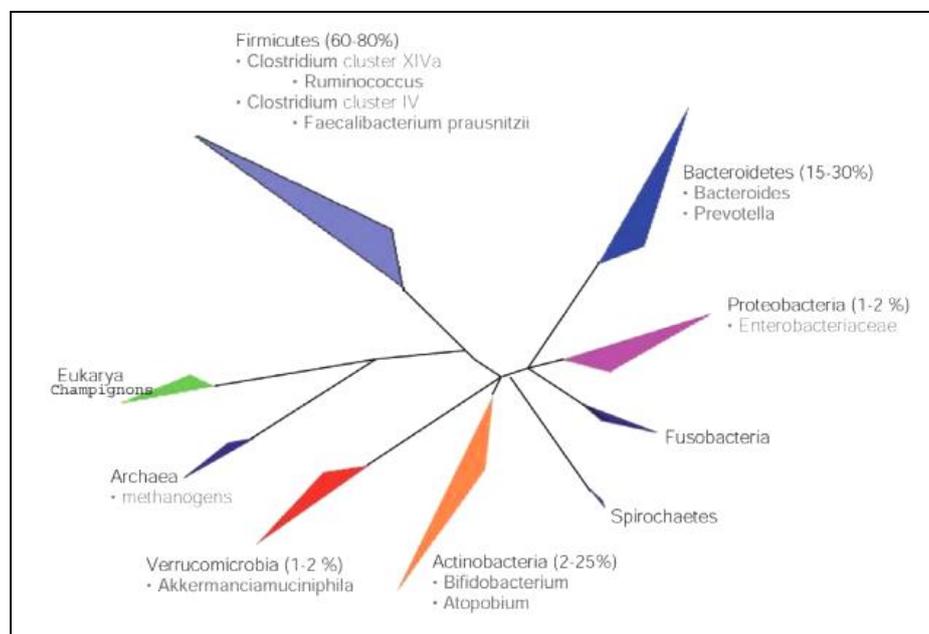


Figure 3 : Composition de la flore intestinale. (Cheng et al. 2013)

- On trouve également des bactéries du phylum des Proteobacteria, contenant l'ordre des Entérobacterales qui sont des bactéries anaérobies facultatives que l'on retrouve en faible quantité.

De façon minoritaire, on retrouve des bactéries des phyla Fusobacteria, Verrucomicrobia et Spirochaetes.

- La composante fongique est constituée de champignons et de levures.

- Des archées sont également retrouvées : ce sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes. Elles ont longtemps été considérées comme des bactéries mais les analyses génétiques et les méthodes de classification phylogénétiques ont permis de justifier la création d'un groupe à part entière.

Dans le tractus digestif humain, ces archées sont en grande majorité méthanogènes.

- Les virus sont des agents infectieux qui nécessitent un hôte. Ils utilisent le métabolisme et les constituants de son hôte pour se répliquer.

On retrouve une importante quantité de virus bactériophages, archaéphages ou prophages, insérés dans certains génomes bactériens. Les phages, en infectant et en lysant certaines bactéries sont impliqués dans le maintien de la diversité des espèces microbiennes.

Il a été établi que l'ensemble des individus peuvent être répartis en 3 groupes ou entérotypes distincts selon la signature bactérienne caractérisée par un genre bactérien dominant parmi Prevotella, Bacteroides et Ruminococcus.

D. Mise en place :

Le nouveau-né (Campeotto et al. 2007) est stérile in utero et la colonisation bactérienne débute dès l'accouchement avec une flore simple à partir des flores de sa mère et de l'environnement proche.

Sa mise en place va commencer selon l'exposition aux micro-organismes d'origine maternelle, avec un contact beaucoup plus élevé lors d'un accouchement par voie basse que lors d'une césarienne, ainsi que d'origine environnementale selon le lieu de naissance et le contact avec l'équipe médicale.

Chez l'enfant à terme, les premières bactéries implantées sont des organismes aérobies-anaérobies facultatifs : les entérobactéries (principalement l'espèce E. coli), les entérocoques et les staphylocoques. Ces premières bactéries vont rapidement consommer l'oxygène contenu dans la lumière intestinale, permettant l'implantation des genres anaérobies stricts (Bifidobacterium, Clostridium, Bacteroides) ainsi que celle des Lactobacilles, microaérophiles.

Par la suite, le nouveau-né est continuellement exposé à de nouvelles bactéries provenant de l'environnement, de la nourriture et des bactéries cutanées des adultes.

Une flore complexe et stable, qui se rapproche de celle de l'adulte, propre à chaque individu, semble être obtenue entre les âges de 2 à 4 ans.

Facteurs influençant la mise en place :

+ le mode d'accouchement :

L'implantation de la flore est différente entre les nouveau-nés nés par césarienne et ceux nés par voie basse (Rutayisire et al. 2016). Les enfants nés par césarienne ne rencontrent pas en premier lieu les bactéries de leur mère à cause des conditions d'hygiène strictes de la césarienne. Ils seront d'abord en contact avec les bactéries de leur environnement, c'est-à-dire celles contenues dans l'air et au contact du personnel soignant.

Quel que soit le mode d'accouchement, les premières bactéries implantées sont toujours les anaérobies facultatifs (Entérobactérie, Entérocoques, Staphylocoques), mais la flore anaérobie stricte s'implante beaucoup plus tardivement pour les enfants nés par césarienne (jusqu'à six mois de retard pour le genre Bacteroides).

+ l'environnement :

Dans les pays industrialisés, les conditions strictes d'hygiène lors de l'accouchement réduisent l'exposition de l'enfant aux flores fécale et vaginale de sa mère.

Certaines études ont mis en évidence la colonisation à plus haut niveau et plus fréquente chez les enfants nés dans les pays en voie développement par les Bifidobactéries.

+ l'alimentation :

La flore qui s'implante chez le nouveau-né allaité est moins diversifiée que celle du nouveau-né nourri au lait artificiel (Campeotto et al. 2007).

Chez le nouveau-né allaité, on retrouve notamment une dominance du genre Bifidobacterium alors que l'implantation des Entérobactériales et surtout des Clostridium et des Bacteroides est retardée et se fait à un niveau moins élevé.

On a découvert que les oligosaccharides sont les composants responsables de la colonisation dominante du genre Bifidobacterium. Il s'agit quantitativement du 3^e constituant du lait humain après le lactose et les lipides. En raison de leur structure complexe, ils ne sont pas digérés dans la partie supérieure de l'intestin grêle et se retrouve donc au niveau du côlon où ils vont être pris en charge par les bactéries fibrolytiques que sont les bactéries du genre Bifidobacterium, constituant ainsi les véritables facteurs bifidogènes du lait maternel.

Dès la diversification alimentaire, la flore semble reprendre un profil de flore de nouveau-né nourri au lait artificiel.

+ le terme de naissance :

Chez les nouveau-nés prématurés, il a été observé (Westerbeek et al. 2006) un retard de colonisation important par rapport aux enfants nés à terme ainsi qu'une colonisation par un nombre plus réduit d'espèces bactériennes. Le retard de colonisation est surtout marqué pour la flore anaérobie (Bifidobacterium et Bacteroides) alors que la flore aérobie (Entérobactéries, Entérocoques, Staphylocoques) colonise assez rapidement le prématuré.

On peut expliquer en partie ce retard d'implantation par le fait que ces enfants sont plus fréquemment nés par césarienne, sont rapidement séparés de leur mère et placés dans un environnement de soins intensifs très aseptisé et souvent soumis à une antibiothérapie à large spectre.

l'usage de l'antibiothérapie :

L'antibiothérapie (Campeotto et al. 2007) administrée à la mère per partum peut aussi influencer l'implantation de la flore du nouveau-né. Notamment lors de l'antibioprophylaxie per partum de l'infection néonatale à streptocoque du groupe B.

Des études ont montré d'une part une augmentation des infections néonatales à germes résistants à l'antibiotique, d'autre part une modification de l'implantation de la flore chez le nouveau-né avec diminution de la colonisation par les genres *Bifidobacterium* et *Clostridium*. Cette modification de flore pourrait être responsable d'une altération de l'effet barrière favorisant la colonisation par des micro-organismes résistants.

II. Les fonctions de la flore intestinale :

Le microbiote participe à la synthèse vitaminique, les bactéries de la flore peuvent notamment produire de la biotine (vit B8), des folates (vit B9) et de la vitamine B12. Elles participent également à la production de vitamine K, vitamine essentielle de la coagulation. Le microbiote peut de plus intervenir dans le métabolisme des xénobiotiques.

Par certaines de ses fonctions, la flore intestinale joue notamment un rôle de support pour l'épithélium intestinal.

En effet, elle assiste l'épithélium intestinal dans ses fonctions de digestion et d'absorption des nutriments, en permettant la digestion des nutriments qui ne sont pas pris en charge par les enzymes humaines. Le microbiote va avoir un rôle de fermentation et la putréfaction des résidus alimentaires non digestibles, en produisant des acides gras à courtes chaînes (AGCC), sources d'énergie.

La flore participe également au rôle de barrière, pour maintenir un équilibre stable au sein de la muqueuse intestinale et constituer une ligne de défense face aux agressions de l'environnement.

Pour finir la flore a un rôle majeur dans le développement du système immunitaire intestinal, mais aussi général et dans sa maturation.

A. Fonction de barrière et de protection :

La surface de la muqueuse intestinale se compose d'entérocytes, cellules pourvues de villosités et liées les unes aux autres par des jonctions serrées (CDU-HGE 2014).

Les jonctions serrées sont des jonctions étanches entre les cellules épithéliales qui déterminent une barrière physiologique entre les compartiments extérieur et intérieur de l'organisme. Elles bloquent la circulation de fluides entre les cellules et assurent ainsi l'étanchéité entre les deux compartiments tissulaires.

A la surface de cette muqueuse viennent se fixer les bactéries de la flore intestinale s'opposant à la colonisation de la muqueuse par les bactéries pathogènes par un phénomène de compétition sur les sites d'adhérence. Les bactéries commensales étant plus adaptées à l'écosystème intestinal que les pathogènes. Cela forme un film protecteur à la surface de l'épithélium intestinal.

Lorsqu'elles détectent des bactéries pathogènes, les bactéries de la flore intestinale peuvent stimuler la synthèse de peptides antimicrobiens par les cellules de l'épithélium intestinal, telles que des bactériocines. Ces peptides possèdent une activité de type antibiotique par effet bactéricide ou bactériostatique.

Le microbiote peut également stimuler la production par le système immunitaire d'IgA sécrétoires.

Lorsque cette barrière est altérée, dû à une flore trop pauvre par exemple, les antigènes présents dans la lumière intestinale se retrouvent directement en contact avec les villosités des entérocytes, qui peuvent se rétracter et entraîner une hyperperméabilité. La muqueuse intestinale n'est plus suffisamment étanche et peut laisser passer des macronutriments qui peuvent s'avérer être des allergènes, des toxines, des virus ou des bactéries.

B. Fonction métabolique :

Les fibres alimentaires non digérées dans la partie supérieure du tube digestif, qui arrivent dans le côlon vont être prises en charge par les bactéries du microbiote. (CDU-HGE 2014) En effet, celles-ci sont équipées d'enzymes absentes chez l'homme et capables de métaboliser ces fibres. Elles vont alors former des métabolites pouvant être utilisés par l'hôte ou même produire leur propre source d'énergie.

+ Le métabolisme des glucides :

Le processus de fermentation va conduire à la formation d'acides organiques et de gaz à partir des sucres complexes non digérés.

Les polysaccharides, que l'on trouve dans les fruits, les légumes, les céréales, sont constitués de longues chaînes de sucres complexes. Ils vont être pris en charge au niveau du côlon par différents groupes bactériens du microbiote qui s'associent pour former une chaîne de dégradation anaérobie des polymères glucidiques en métabolites fermentaires.

Dans un premier temps, les polymères sont dégradés en fragments plus petits par des hydrolases produites par des bactéries fibrolytiques (Bacteroides, Bifidobacterium).

Ces fragments de sucres vont par l'intermédiaire des bactéries glycolytiques, être utilisés dans la voie de la glycolyse et ainsi former du pyruvate.

Le pyruvate va être métabolisé en acides gras à chaînes courtes (AGCC). La majorité des espèces du microbiote va produire de l'acétate (Bacteroides, Clostridium), mais on trouve également du propionate (Bacteroides) ou du butyrate (Eubacterium), selon les espèces rencontrées.

Ces AGCC, produits par les bactéries de la flore vont avoir de nombreux rôles dans l'homéostasie intestinale. Dans un premier temps ce sont des substrats énergétiques pour l'épithélium colique, ils ont un rôle immuno-modulateur, et semblent être impliqués dans le maintien d'un état anti-inflammatoire au niveau intestinal.

+ Le métabolisme des gaz :

Les processus fermentaires produisent de grandes quantités d'hydrogène dans le côlon. L'efficacité de la fermentation dépend de la capacité de l'écosystème à éliminer cet hydrogène. Pour cela différentes voies vont être utilisées.

Une partie de l'hydrogène est éliminée par voie pulmonaire et par les gaz rectaux, mais la majorité est métabolisée par les micro-organismes du microbiote dits hydrogénotrophes.

Ils sont de 3 types qui utilisent chacun une voie métabolique différente : les archées méthanogènes (présentes chez 40% des adultes) produisent du méthane, les bactéries acétogènes produisent de l'acétate et les bactéries sulfatoréductrices produisent des sulfures qui sont potentiellement délétères pour le colonocyte.

Le métabolisme des protéines :

Le phénomène de putréfaction va également produire des AGCC, mais aussi des corps aromatiques, potentiellement toxiques pour l'hôte.

La biodégradation des protéines va faire intervenir plusieurs espèces bactériennes aux activités complémentaires.

Dans un premier temps, les bactéries dites protéolytiques (Bacteriodes, Clostridium, Streptococcus, Lactobacillus) vont hydrolyser les protéines en petits peptides grâce à leur activité protéasique.

Certaines espèces vont assimiler ces peptides et les transformer en acides aminés libres.

La fermentation des acides aminés par des réactions d'oxydation et de réduction aboutit à la production d'AGCC : acétate, propionate et butyrate (comme la fermentation des glucides), mais aussi d'ammoniaque et d'autres composés potentiellement toxiques pour l'hôte qui vont être absorbés et détoxifiés dans la muqueuse colique puis excrétés dans les urines.

L'ammoniaque quant à elle est absorbée dans le côlon et rejoint le foie par la circulation portale où elle est convertie en urée, qui est éliminée par voie urinaire. Elle est également utilisée comme source d'azote par des bactéries pourvues d'activité aminotransférase qui l'utilisent pour la synthèse d'acides aminés.

Le métabolisme des lipides :

Dans la lumière colique, les lipides proviennent de trois origines : les lipides arrivants du tractus intestinal en amont, les lipides provenant de la desquamation des cellules épithéliales coliques et les lipides bactériens.

Les acides gras non absorbés dans l'intestin grêle sont transformés dans le côlon par les bactéries du microbiote par des phénomènes d'hydrolyse, d'oxydation, de réduction et d'hydroxylation.

Le cholestérol colique est transformé en coprostanol par le microbiote, il n'est pas absorbé et est donc éliminé dans les fèces.

Les acides biliaires sont un produit de transformation du cholestérol par le foie. Ils sont également conjugués, et vont être réabsorbés dans l'iléon terminal puis retournent au foie via le système porte, avant d'être à nouveau sécrétés dans la bile (cycle entérohépatique des acides biliaires). Seuls 5 % des acides biliaires sécrétés dans la bile parviennent au côlon et y sont métabolisés par les bactéries du microbiote en acides biliaires secondaires selon des réactions de déconjugaison, oxydation et épimérisation.

C. Fonction immunitaire :

L'étude de souris axéniques (sans microbiote) (CDU-HGE 2014) a démontré le rôle essentiel joué par la flore intestinale dans le développement et la maturation du système immunitaire.

En effet, ces animaux ont présenté de nombreuses anomalies au niveau du système immunitaire intestinal, mais aussi au niveau de la rate et des ganglions lymphatiques qui n'étaient pas structurés et présentaient des zones lymphocytaires atrophiées.

Au niveau intestinal, on a retrouvé une diminution du nombre des plaques de Payer, une altération de la maturation des follicules lymphoïdes isolés, une diminution des lymphocytes intra-épithéliaux, une diminution des sécrétions intestinale d'IgA, de la concentration d'Ig sériques et de la production de cytokines.

L'ensemble de ces anomalies peut être « réparé » en quelques semaines en inoculant un microbiote complexe à ces souris axéniques, ou en inoculant seulement des espèces spécifiques choisies.

Par exemple avec les bactéries filamenteuses segmentées, cela entraîne la différenciation des lymphocytes Th17 qui sont des cellules pro-inflammatoires.

L'homéostasie intestinale est sous la dépendance d'un équilibre entre les lymphocytes T effecteurs et les lymphocytes T régulateurs. Certaines bactéries vont stimuler l'une ou l'autre des populations lymphocytaires notamment par l'intermédiaire des AGCC qu'elles produisent.

III. Le système immunitaire digestif :

Le tube digestif constitue une porte d'entrée pour les micro-organismes extérieurs. Le GALT, tissu lymphoïde associé au tube digestif, est une localisation particulière du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT). Il constitue le principal support du système immunitaire au niveau du tube digestif et sa fonction première est de protéger l'organisme contre l'invasion par des microbes ou des parasites ingérés. Plusieurs structures composent le GALT, des structures organisées, telles que les plaques de Payer ou les ganglions mésentériques, mais également des structures diffuses, comme les follicules lymphoïdes isolés.

Le système immunitaire peut être séparé en deux composantes. D'une part une composante innée qui peut donner une réponse immédiate mais non spécifique, comme l'élimination d'agents infectieux par des macrophages. D'autre part une réponse adaptative, plus lente, car elle nécessite une reconnaissance spécifique de l'agent infectieux, mais qui apporte une protection spécifique et durable, notamment par la production d'anticorps. Les 2 réponses interagissent et se régulent mutuellement.

La composante innée est permise par les macrophages, les cellules épithéliales, les cellules présentatrices de l'antigène et les cellules lymphoïdes innées.

La composante adaptative est orchestrée par les lymphocytes. Il y a des sites inducteurs de la réponse adaptative : les plaques de Peyer et les follicules lymphoïdes isolés ; et des sites effecteurs qui sont les cellules immunitaires contenues dans la muqueuse intestinale.

L'efficacité de la réponse immune implique donc un grand nombre de types cellulaires dont les interactions mutuelles sont modulées par un groupe de protéines appelées cytokines. Ces protéines peuvent être sécrétées par la plupart des cellules, et notamment par toutes les cellules immunitaires. Les cytokines se lient à des récepteurs spécifiques sur leurs cellules cibles et déclenchent ainsi une cascade de signalisation intracellulaire qui modifie l'expression des gènes de ces cellules. Elles peuvent avoir une action pro-inflammatoire, comme le TNF-alpha, l'interleukine 1 (IL-1) ou l'interleukine 6 (IL-6) ou anti-inflammatoire comme l'IL-10 ou le TGF-beta.

L'immunité innée :

L'épithélium intestinal est une barrière physique et chimique face aux agressions potentielles de l'environnement (CDU-HGE 2014).

La composante physique de la barrière est représentée par l'épithélium intestinal qui a une capacité permanente de renouvellement et est remplacé tous les 4-5 jours. Il est associé d'une part aux jonctions serrées que l'on retrouve entre les cellules épithéliales mais également à la couche de mucus, produite par les cellules caliciformes.

Dans le côlon, où la densité des bactéries est maximale, le nombre de cellules à mucus augmente, ce qui permet la formation d'un film muqueux épais qui se présente en deux couches : une couche externe fluide, où s'accumulent les bactéries qui y puisent les substrats nécessaires à leur croissance, et une couche interne très dense et quasiment stérile, limitant les contacts directs des bactéries avec la surface épithéliale.

La composante chimique est représentée par la capacité de synthèse par les cellules épithéliales de molécules antimicrobiennes ayant la capacité de détruire ou d'inhiber la

Les récepteurs de l'immunité innée (PRR) sont des récepteurs transmembranaires qui vont reconnaître spécifiquement ces motifs. Plusieurs de ces récepteurs PRR ont été caractérisés, tels que les Toll-like receptors (TLR), les NOD-like receptors (NLR) ou les RIG-I-like receptors (RLR), ils reconnaissent de nombreux PAMPs bactériens, fongiques, parasitaires et viraux.

L'activation des PRRs va induire une cascade de signalisation intracellulaire qui conduit ensuite à la translocation nucléaire du facteur NF- κ B et à la transcription de gènes.

Les TLRs induisent l'expression de gènes très variés, incluant des gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires, des chémokines, des facteurs anti-microbiens tels que la NO synthase inductible et les peptides antimicrobiens, des molécules co-stimulatrices à la surface des cellules présentatrices d'antigènes : les molécules du CMH.

Les TLR semblent contrôler la balance entre les différentes communautés bactériennes et expliquent sans doute la capacité du système immunitaire inné à établir une différence entre les bactéries pathogènes, les bactéries commensales ou encore les probiotiques.

Les cellules lymphoïdes innées (ILC) (Sonnenberg et al. 2015) ont été identifiées plus récemment. Elles ont certaines caractéristiques des lymphocytes T effecteurs, mais elles n'ont pas de récepteur membranaire de reconnaissance des antigènes, donc ne sont pas spécifiques d'un antigène.

Les ILC de type 3 jouent un rôle particulier dans l'interaction avec le microbiote. En effet, leur activation est induite par des cytokines : l'IL-25 produite par l'épithélium ou l'IL-23 produite par les cellules dendritiques suite à des signaux bactériens.

L'IL-23 régule la production par les ILC3 de l'IL-22 qui stimule la production de mucus et la réparation de l'épithélium intestinal.

L'immunité adaptative :

Les antigènes présents dans la lumière intestinale peuvent être captés de 3 manières : soit par les plaques de Payer, soit par les cellules dendritiques grâce à leurs prolongements, soit directement par les cellules épithéliales.

Les plaques de Payer sont des sites inducteurs de l'immunité adaptative. En regard des plaques de Payer, un dôme de cellules épithéliales entre lesquelles sont enchâssées des cellules M délimite le follicule. Les cellules M présentent de nombreuses microvésicules et une forme particulière. Au niveau de leur membrane basale, elles ont un contact étroit avec des cellules dendritiques, des macrophages et des lymphocytes.

La cellule M incorpore par endocytose les antigènes endoluminaux puis leur font traverser son cytoplasme sous forme de vésicules et les libère au niveau de sa membrane basale au contact des cellules dendritiques qui les présentent aux lymphocytes. Les lymphocytes B et T naifs présents sont ainsi informés et sélectionnés.

Les cellules B prolifèrent et forment un centre germinatif au niveau des plaques de Payer, de nodules lymphoïdes isolés ou des ganglions mésentériques.

Les lymphocytes B ainsi produits vont rejoindre via la circulation lymphatique, la circulation systémique, puis coloniser tous les territoires muqueux.

Ils se différencient alors en plasmocytes et produisent des IgA spécifiques de l'antigène. Au niveau de la muqueuse intestinale, les entérocytes vont capter ces IgA et les faire traverser leur cytoplasme puis les libérer sous forme d'IgA sécrétoires dans la lumière intestinale où elles peuvent se fixer aux antigènes qui leur sont spécifiques.

Après présentation des antigènes par les cellules présentatrices des antigènes aux lymphocytes T résidents de la lamina propria, les lymphocytes T sont activés. Selon l'environnement inflammatoire, les lymphocytes T naïfs prendront un phénotype effecteur (pro-inflammatoire) ou régulateur (anti-inflammatoire). Ils produisent des cytokines comme les interleukines ou les interférons.

- Les lymphocytes T effecteurs sont les lymphocytes Th1, Th2 et Th17 :

Les Th1 vont apporter une réponse aux infections bactériennes intracellulaires, ils produisent de l'IL-2 et de l'IFN- γ qui favorise l'activité phagocytaire des macrophages.

Les Th2 sont impliqués dans la réponse aux infections parasitaires, ils synthétisent les IL-4, IL-5 et IL-13.

Les Th17 sont impliqués dans la réponse aux infections bactériennes extracellulaires et fongiques, ils produisent l'IL-6 et l'IL-17 qui recrute et active les polynucléaires neutrophiles.

- Les lymphocytes T régulateurs sont les lymphocytes iTreg et les Treg1 :

Les T régulateurs induits (iTreg) synthétisent du TGF- β et les T régulateurs 1 (Treg1) synthétisent de l'IL-10 qui évite l'emballement des réponses pro-inflammatoire.

Une fois l'agent infectieux éliminé, le nombre de lymphocytes T spécifiques du pathogène diminue fortement, et seule une petite fraction demeure, formant les lymphocytes T mémoires. Ils constituent une protection à long terme de l'hôte et pourront agir plus rapidement et plus efficacement lors d'une rencontre ultérieure avec le même pathogène.

IV. Interactions hôte – microbiote dans l'intestin : homéostasie intestinale :

L'homéostasie se définit comme la capacité de l'organisme à maintenir un état de stabilité relative entre les différentes composantes de son milieu interne et ce malgré les variations constantes de l'environnement externe.

Le microbiote intestinal est composé de nombreux micro-organismes qui sont tolérés par le système immunitaire intestinal et qui vivent en synergie avec leur hôte.

Ce microbiote peut être considéré comme un organe à part entière ayant coévolué avec son hôte pour parvenir à une relation symbiotique menant à l'homéostasie physiologique. L'hôte fournit un environnement riche en nutriments que les bactéries commensales utilisent pour effectuer leurs fonctions telles que la production de certaines vitamines, la digestion de polysaccharides complexes grâce à des activités enzymatiques non présentes chez l'hôte et la mise en place d'un système immunitaire efficace.

Les bactéries de la flore intestinale favorisent la mise en place des défenses immunitaires innées et adaptatives. Mais le système immunitaire intestinal doit maintenir en permanence un état de tolérance vis-à-vis de la flore intestinale tout en étant capable d'induire des réponses immunes pro-inflammatoires protectrices contre les pathogènes gastro-intestinaux.

Le maintien d'un tel équilibre repose sur l'existence de mécanismes de régulation garantissant une réactivité réduite du système immunitaire intestinal vis-à-vis des bactéries commensales inoffensives.

A l'état physiologique, on retrouve un phénomène de tolérance des bactéries du microbiote et des protéines alimentaires par le système immunitaire intestinal. Les PAMPs présents sur les bactéries commensales sont détectés par les PRRs présents notamment sur les cellules épithéliales, ce qui déclenche une production de TGF- β par les cellules épithéliales et les macrophages.

Sous l'influence de cette cytokine, les cellules dendritiques des plaques de Peyer ou de la lamina propria ayant également reconnu ces antigènes non pathogènes vont avoir une maturation partielle et migrer vers les ganglions lymphatiques pour synthétiser un fort taux d'IL-10 (cytokine anti-inflammatoire).

L'IL-10 va alors orienter la différenciation des LT CD4+ naïfs en LT régulateurs qui vont synthétiser de l'IL-10 et de l'IFN- γ pour d'une part, inhiber l'activation des LT effecteurs LTh1, LTh2 et LTh17 responsables de l'augmentation du taux de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et d'autre part, inhiber à la fois les macrophages qui permettent l'élimination des agents pathogènes et le recrutement des polynucléaires neutrophiles responsables des lésions intestinales.

Ainsi, cet équilibre entre les mécanismes effecteurs et régulateurs permet de maintenir l'homéostasie intestinale et une tolérance fonctionnelle

Lorsqu'un pathogène entre dans la couche de mucus et vient au contact des cellules épithéliales, cela peut perturber l'intégrité de la barrière épithéliale. Les pathogènes et leurs PAMPs sont reconnus par les PRR et induisent des signalisations intracellulaires conduisant à la production de peptides antimicrobiens et de cytokines. Ces éléments vont conduire à limiter la propagation du pathogène et au recrutement des cellules immunitaires.

V. Variation de la flore au cours du temps :

Suite à l'influence d'un certain nombre de facteurs, aussi bien endogènes, que de facteurs environnementaux, l'homéostasie intestinale peut être perturbée et aboutir à un état de dysbiose.

Les facteurs suivants vont pouvoir entraîner des variations de la flore :

+ L'alimentation :

Comme vu précédemment dans la mise en place de la flore, la colonisation bactérienne n'est pas la même selon le type d'alimentation, notamment l'allaitement par rapport au lait artificiel. Il a été également observé des différences marquantes entre les populations ayant un régime végétarien, ou sans gluten, par rapport au reste de la population.

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.

+ L'usage de médicaments tels que les antibiotiques :

Le rôle des antibiotiques est par définition de détruire les bactéries. Cette action ne se limite pas aux bactéries pathogènes mais touche également les bactéries de la flore commensale. L'altération de la flore dépendra de la sensibilité des bactéries selon le spectre de l'antibiotique utilisé et de la durée d'utilisation.

Cette dysbiose va provoquer des troubles digestifs à type de diarrhée, mais sera majoritairement transitoire et réversible à l'arrêt des antibiotiques.

+ Les hospitalisations :

Lors d'une hospitalisation, une rencontre avec certains germes peut aboutir à une colonisation de la flore intestinale qui aboutira au développement de ce germe aux dépens des espèces commensales.

C'est le cas lors d'une infection par la bactérie *C. difficile*, qui peut rester latente mais qui peut se développer suite à une fragilisation de la flore (par exemple suite à la prise d'antibiotiques).

+ Certaines situations cliniques :

Dans certaines maladies il a été observé une modification caractéristique dans la composition de la flore intestinale. Les études en cours cherchent à déterminer si cette dysbiose est une cause ou une conséquence de la pathologie.

Ces observations ont été faites pour des maladies telles que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, le diabète ou les maladies métaboliques.

L'âge :

Comme vu précédemment, les nouveau-nés peuvent avoir une flore très diversifiée selon différents facteurs tels que l'alimentation, le mode d'accouchement et le terme de naissance. Le microbiote ne sera stable pour un enfant donné qu'entre l'âge de 2 et 4 ans.

Il a été montré que la variabilité interindividuelle des souches qui composent la flore intestinale des personnes âgées est très importante et est supérieure à celle observée chez des adultes plus jeunes. Les variations observées sont différentes en fonction du lieu de vie de la population et de leur mode d'alimentation et ne permettent pas d'établir des modifications spécifiques relatives au vieillissement.

Nous venons de présenter le microbiote intestinal, cet ensemble des micro-organismes vivant dans nos intestins. Nous avons vu l'ensemble de ses caractéristiques et de ses fonctions et l'importance du maintien de l'homéostasie intestinale.

Par la suite, nous allons nous pencher en détail sur des situations dans lesquelles on retrouve une dysbiose de la flore intestinale, c'est-à-dire un déséquilibre de cet écosystème. L'objectif est d'analyser la flore intestinale dans diverses pathologies chroniques, de localisations gastro-intestinales ou non, et de déterminer si les sujets malades sont porteurs de différences au niveau de la composition du microbiote.

PARTIE 2

Relation entre microbiote **et pathologies**

I. Pathologies gastro-intestinales :

A. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin :

Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) se caractérisent par une inflammation de la paroi d'une partie du tube digestif (Matricon 2010), liée à une hyperactivité du système immunitaire digestif. Dans la maladie de Crohn, l'inflammation peut toucher tous les niveaux du tube digestif de la bouche à l'anus, mais est principalement retrouvée au niveau de l'intestin. Dans la rectocolite hémorragique, l'inflammation est localisée au niveau du côlon et du rectum.

Ce sont des maladies chroniques qui évoluent par une alternance de phases de poussées et de phases de rémissions plus ou moins complètes. Lors des poussées inflammatoires, les symptômes vont se présenter sous la forme de douleurs abdominales avec des diarrhées fréquentes, parfois sanglantes.

La prévalence des MICI est en constante augmentation ces dernières années.

Les MICI sont des maladies d'origine inconnue mais qui semblent multifactorielles. Une composante génétique a été établie, dans un premier temps par l'observation de formes familiales, puis par la découverte d'un gène de susceptibilité à la maladie de Crohn : NOD2 et d'un gène protecteur : IL-23R.

Mais cette prédisposition génétique ne permet pas à elle seule d'expliquer l'apparition de la maladie. D'autres facteurs semblent également impliqués comme des facteurs immunologiques, des facteurs environnementaux tels que le tabac ou l'appendicectomie et des facteurs liés à la composition du microbiote.

L'hypothèse actuelle serait que les MICI résulteraient d'une réponse immunitaire inadaptée vis-à-vis d'une modification du microbiote intestinal ou dysbiose chez des patients génétiquement prédisposés.

1. La maladie de Crohn :

La maladie de Crohn (MC) peut se localiser tout au long du tube digestif mais les atteintes iléo-coliques de la maladie sont les plus fréquentes (50 % des cas). L'iléon est atteint isolément dans 30 % des cas et le côlon seul dans 20 %. Par ailleurs, 10 % des patients ont une localisation ano-périnéale spécifique associée.

a. Epidémiologie :

La maladie de Crohn est une pathologie de l'adulte jeune débutant généralement entre 20 et 30 ans, même s'il existe un second pic de fréquence entre 50 et 80 ans. Les deux sexes sont atteints mais il existe une légère prédominance féminine.

En France, l'incidence de la maladie de Crohn est de 5 à 6 cas pour 100 000 habitants. Dans 10 % des cas, la MC revêt un caractère familial. Ces formes se caractérisent par un âge de début jeune et une atteinte étendue et préférentielle au niveau du grêle.

b. Symptômes :

La MC évolue sous forme de poussées symptomatiques, entrecoupées d'intervalles asymptomatiques, les deux étant de durées variables. Le diagnostic de la maladie de Crohn en poussée doit être évoqué devant des symptômes digestifs : douleurs abdominales, diarrhée, syndrome dysentérique, syndrome abdominal aigu pouvant simuler une appendicite aiguë.

Ces symptômes peuvent être accompagnés de signes généraux comme la fièvre, la fatigue, un amaigrissement, un retard de croissance ou retard pubertaire chez les enfants et les adolescents.

Dans environ 20% des cas, des manifestations systémiques sont associées aux manifestations digestives. Elles touchent différents organes : la peau, les articulations, les os, les vaisseaux, le foie. Certaines d'entre elles coïncident avec les poussées évolutives de la maladie intestinale.

Complications :

Les complications peuvent se présenter sous différentes formes telles que :

- ✚ Des sténoses : ce sont des rétrécissements d'une partie du tube digestif, elles sont fréquentes et peuvent entraîner une occlusion intestinale.

- ✚ Des fistules : ce sont des communications anormales entre diverses cavités de l'organisme à travers les muqueuses, elles peuvent être entérovésicales, entéroentériques, entéromésentériques, entérocutanées, rectovaginales et péri-anales.

- ✚ Le risque d'adénocarcinome de l'intestin grêle est considéré comme plus élevé chez les patients atteints de MC par rapport à la population générale mais reste faible.

c. Etiologies :

L'étiologie de la maladie de Crohn n'est pas clairement établie mais il est généralement admis qu'il s'agit d'une réponse immune inadaptée à la flore commensale chez un individu génétiquement susceptible.

La mutation du gène NOD2 (Hrnčířová et al. 2014) est retrouvée dans des populations souffrant de la maladie de Crohn. Cette mutation altère une partie de la protéine codée par ce gène permettant la reconnaissance des éléments bactériens. La protéine NOD2 est un récepteur intracellulaire qui reconnaît la partie élémentaire de toute paroi bactérienne : le muramyl-dipeptide (MDP) après invasion de la bactérie dans la cellule. Elle joue donc un rôle fondamental dans la reconnaissance bactérienne et la défense innée.

La protéine NOD2 est exprimée de manière constitutive dans différents types de cellules telles que les macrophages, les neutrophiles et les cellules dendritiques, mais aussi par les cellules de Paneth. L'activation de la protéine NOD2 aboutit à l'activation du facteur NF- κ B qui est un facteur majeur de transcription nucléaire à l'origine de la réponse inflammatoire.

Les cellules de Paneth présentes dans les cryptes intestinales produisent des peptides antimicrobiens appelés défensines ayant un rôle majeur dans l'immunité innée de l'intestin grêle. Il a été montré que la production des défensines HD-5 et HD-6 est diminuée chez les

patients atteints de MC iléale, et ce d'autant plus que les patients sont porteurs d'une mutation de NOD2.

Ces éléments suggèrent qu'une réponse inflammatoire déficiente pourrait être est à l'origine de la maladie de Crohn. La découverte des mutations du gène NOD2 dans la maladie de Crohn a permis de mieux comprendre le rôle de la défense innée dans la pathogénèse de cette maladie.

d. Les traitements :

La MC n'a pour le moment pas de traitement spécifique. Les traitements vont avoir comme objectifs de traiter les crises pour induire une rémission ou de maintenir cet état de rémission pour éviter la survenue d'une nouvelle crise (VIDAL Reco 2018).

✚ Traitement des crises : la stratégie dépendra de la localisation des lésions et de la sévérité des atteintes :

- Dans les formes légères à modérées qui touchent l'iléon ou le côlon ascendant, des corticoïdes à action locale sont utilisés, tel que le budesonide. En cas d'échec, une corticothérapie systémique (prednisone ou prednisolone) sera indiquée.

Dans les formes coliques étendues, un traitement par corticothérapie systémique est indiqué d'emblée.

- Dans les formes d'activité sévère : une corticothérapie systémique est indiquée en association éventuellement avec un immunosuppresseur tel que l'azathioprine. En cas d'intolérance ou d'échec de la corticothérapie, un traitement anti-TNF (Infliximab, Adalimumab) est indiqué, il s'agit d'anticorps monoclonaux anti TNF α (tumor necrosis factor alpha), qui se lie à cette cytokine pro-inflammatoire pour en limiter l'action.

✚ Traitement pour le maintien de la rémission :

Les immunosuppresseurs sont indiqués en cas de rechute précoce (moins de 3 mois après la fin de la poussée), afin de réduire l'exposition aux corticoïdes et le risque de rechutes ultérieures. L'azathioprine est le plus utilisé, les anti-TNF sont indiqués en cas de résultat insuffisant (corticorésistance) et de corticodépendance non contrôlée par l'azathioprine.

Une chirurgie pourra être réalisée dans les formes sévères où il est nécessaire de mettre au repos une partie du tube digestif, avec résection d'une partie de l'intestin ou lors de complications nécessitant un geste opératoire.

e. La flore intestinale dans la MC :

Le premier élément marquant qui suggère l'implication du microbiote dans la pathogénie des MICI est la localisation des lésions au niveau de l'iléon et du côlon, ce qui représente les segments ayant les concentrations en bactéries les plus élevées du tube digestif.

Chez les patients atteints de MICI, il a été mis en évidence la présence d'un déséquilibre dans la composition du microbiote intestinal ou dysbiose.

Il a été observé (Swidsinski et al. 2002) chez les patients atteints de MICI et de manière encore plus marquée chez les patients souffrant de MC, que la concentration en bactéries du microbiote est significativement plus élevée par rapport à des sujets témoins. Une instabilité du microbiote au cours du temps, une restriction de la biodiversité et la présence de bactéries inhabituelles sont également notés. De plus, la concentration en bactéries augmente avec la sévérité de la maladie.

L'étude (Sartor et Mazmanian 2012) de la flore des patients atteints de MC a montré une réduction quantitative et qualitative du phylum Firmicutes, et particulièrement du groupe Clostridium leptum. Ce groupe comporte notamment la souche Faecalibacterium prausnitzii dont la concentration est fortement diminuée. La diminution de cette bactérie associée au développement de la MC suggère son rôle anti-inflammatoire.

Il a été montré que d'autres bactéries considérées comme bénéfiques pour l'hôte étaient quantitativement diminuées dans le microbiote fécal des patients atteints de MC dont des Lactobacilles et des Bifidobacteria, alors qu'on observe une augmentation des Enterobactéries et de certains pathogènes tels qu'E. coli AIEC ou Mycobacterium avium paratuberculosis.

De plus cette dysbiose, et notamment le déficit en F. prausnitzii, semble plus marquée chez les sujets en poussée de MICI que chez les sujets en rémission.

Découvertes récentes dans la maladie de Crohn :

La bactérie F.prausnitzii est une bactérie anaérobie stricte appartenant au phylum des Firmicutes. Elle participe au processus de fermentation et produit des AGCC. En effet, elle est l'une des productrices principales de butyrate qui est l'un des principaux nutriments de la muqueuse intestinale et qui est doué de propriétés anti-inflammatoires.

C'est la bactérie la plus abondante du microbiote intestinal (+ de 5%) mais sa concentration varie le long du tube digestif. Les concentrations les plus élevées se retrouvent au niveau de l'iléon terminal, du côlon ascendant et du côlon transverse.

Sa présence est détectée chez les nourrissons à partir de 6 mois et sa concentration augmente jusqu'à l'âge de 2 ans, elle est dominante à partir de 3 ans chez la majorité des enfants.

Plusieurs études (Martinez-Medina et al. 2006) ont montré que la concentration de la bactérie F.prausnitzii est diminuée dans les fèces et le mucus intestinal des patients atteints de MICI en comparaison aux sujets sains. Ce déséquilibre est aussi marqué par une inflammation locale et une diversité globale diminuée dans la composition du microbiote.

Les bactéries telles que F. prausnitzii semblent avoir un effet anti-inflammatoire à la fois par la production d'AGCC mais aussi direct par la production de métabolites qui inhibent la production d'IL-8.

Propriétés immuno-modulatrices de F prausnitzii :

L'activité anti-inflammatoire de F. prausnitzii a été évaluée in vitro et in vivo chez des souris souffrant de colites induites par l'acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique (TNBS) (Quévrain et al. 2016).

In vitro, la bactérie seule n'a pas d'effet sur l'activité NF-KB alors que le surnageant de culture abolit l'activité NF-KB.

In vitro, *F. prausnitzii* induit une faible production de molécules pro-inflammatoire par les lymphocytes et les monocytes et une augmentation des molécules anti-inflammatoire. Au niveau des cellules épithéliales intestinales, on observe une diminution de l'IL-12 et de l'INF- γ , et une augmentation des sécrétions d'IL-10.

L'administration orale de la bactérie vivante ou de son surnageant chez la souris réduit la sévérité de la colite induite et semble corriger la dysbiose. *F. prausnitzii* présente des effets anti-inflammatoires en partie à cause des métabolites sécrétés capables de bloquer l'activation de NF-KB et la production d'IL-8.

Une molécule sécrétée par la bactérie *F. prausnitzii* a été identifiée en culture, elle a été baptisée MAM pour Microbial Anti inflammatory Molecule.

Le transfert de l'ADN de MAM dans des cellules épithéliales a conduit à une diminution significative de l'activation de la voie du facteur nucléaire NF-KB avec un effet dose-dépendant.

Un plasmide codant la protéine MAM a été introduit à des bactéries *L. lactis*. Ces bactéries ont été ingérées par des souris souffrant de colites induites par le DNBS. Ce traitement probiotique a protégé les souris de l'inflammation.

Cela a permis de comprendre que MAM est une protéine capable d'inhiber la voie NF-KB in vitro et de prévenir les inflammations intestinales in vivo. Cette molécule diminue l'activation d'un acteur moléculaire important : NF-KB impliqué dans la production de cytokines pro-inflammatoires.

Ces découvertes permettent de penser à de nouvelles approches préventives et thérapeutiques dans la maladie de Crohn. Il pourrait s'agir de l'administration directe de probiotiques de la souche *F. prausnitzii* pour rétablir le niveau de la bactérie dans le tube digestif, ou bien l'utilisation de la protéine MAM qui pourrait être développée sous forme d'un médicament spécifique à la maladie de Crohn. Des essais cliniques sont maintenant nécessaires pour évaluer l'action de la bactérie chez l'homme.

2. La rectocolite hémorragique :

La rectocolite hémorragique (RCH) ou colite ulcéreuse, est une maladie inflammatoire chronique évoluant par poussées qui affecte l'extrémité distale du tube digestif.

Les lésions se localisent toujours au niveau du rectum et peuvent toucher en plus une partie du côlon.

a. Epidémiologie :

En France, la RCH touche environ une personne sur mille, avec une légère prédominance féminine. L'incidence est de l'ordre de 5 pour 100 000 habitants par an. Elle survient à tout âge, mais est le plus souvent diagnostiquée entre 30 et 40 ans.

b. Symptômes :

Le diagnostic doit être évoqué devant toute diarrhée prolongée, surtout hémorragique et devant tout syndrome dysentérique, évacuations afécales glaireuses et/ou hémorragiques accompagnant des selles par ailleurs normales. Ces événements sont associés à des douleurs abdominales et parfois à des signes généraux.

c. Etiologies :

La pathogénésie de la rectocolite hémorragique n'est pas clairement établie, mais tout comme la MC il semble y avoir une implication génétique, associé à une dysbiose de la flore intestinale, à des facteurs environnementaux et à une altération de la régulation du système immunitaire intestinal.

d. Traitement :

Tout comme la MC, il n'y a pas de traitement spécifique et les traitements mis en place ont pour but de calmer la crise et d'induire une rémission puis de maintenir la phase de rémission (VIDAL Reco 2018).

✚ Le traitement des crises :

Les traitements vont dépendre de la localisation et de l'étendue des lésions.

- Pour des rectites d'activités légères à modérées : utilisation d'un anti-inflammatoire colique la mésalazine, par voie locale en suppositoire dans un premier temps puis par voie orale si cela est insuffisant.

Colite gauche d'activités légères à modérées : utilisation de mésalazine en lavements puis par voie orale si cela est insuffisant.

En cas d'échec, un traitement par corticothérapie orale est mis en place.

- Lors de colites étendues d'activités légères à modérées, la mésalazine est utilisée directement par voie orale, et peut être associée à une corticothérapie.

En cas d'échec et dans les formes les plus sévères, un traitement immunosuppresseur par azathioprine ou anti-TNF peut être mis en place.

✚ Le traitement du maintien de la rémission :

Pour le maintien de la rémission, le traitement efficace sera maintenu, en dehors de la corticothérapie qui ne doit pas être utilisée sur le long cours.

e. La flore intestinale dans la RCH :

Comme nous l'avons vu avec la MC, la dysbiose retrouvée chez les patients souffrant de RCH se caractérise dans un premier temps par une augmentation de la concentration bactérienne de la flore intestinale en comparaison aux sujets sains (Swidsinski et al. 2002).

Chez les personnes souffrant de RCH il a été observé que la diversité du microbiote intestinal est altérée ; Il y a une réduction des Firmicutes et des Bacteroidetes. Alors que les Proteobacteria et Actinomycetes sont augmentées.

Certaines bactéries (Shen et al. 2018) comme *Akkermansia muciniphila* sont diminuées. Il s'agit d'une des bactéries les plus abondantes du microbiote intestinal. 2 producteurs importants de butyrate de la famille des Firmicutes : *Roseburia hominis* et *F. prausnitzii* sont également significativement diminués dans la RCH.

Le nombre de pathogènes est quant à lui augmenté avec des espèces telles que *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *E. coli*, *Clostridium difficile*, *Helicobacter sp.*

Il a été également montré que le nombre de *F. prausnitzii* était augmenté lors des phases de rémission.

La souche *A. muciniphila*, qui est chez le sujet sain l'une des bactéries les plus fortement retrouvées au sein de la flore intestinale pourrait être une cible intéressante en étant utilisée comme probiotique pour tenter de rétablir l'équilibre.

L'étude du microbiote de patients atteints de MICI nous a permis d'observer la présence d'une dysbiose caractéristique.

Cela pourrait permettre le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant de manière spécifique ces troubles.

B. Les infections à Clostridium difficile :

Clostridium difficile est un bacille Gram positif, anaérobie strict et sporulant. Il appartient à la classe des Firmicutes et a été pour la première fois identifié en 1935 par Hall et O'Toole.

La gravité d'une infection par C. difficile (ICD) peut être de différents niveaux (Barbut et al. 2006) allant d'une colonisation asymptomatique ou une diarrhée légère, jusqu'à des stades plus sévères comme la colique pseudomembraneuse, le mégacôlon toxique, la septicémie et peut entraîner la mort.

1. Epidémiologie :

Cette bactérie est responsable de 15 à 25% des diarrhées post-antibiotiques et de plus de 95% des cas de colites pseudomembraneuses. De plus il s'agit de la première cause de diarrhées infectieuses nosocomiales chez les adultes.

2. Contamination et facteurs de risque :

La contamination se fait par la forme sporulée du germe qui est inactive et qui rend le sujet porteur sain. En effet, la plupart des cellules végétatives meurent à cause de l'acidité de l'estomac, mais les formes sporulées survivent et arrivent au niveau intestinal. On estime qu'environ 3% des adultes sont porteurs asymptomatiques de C. difficile.

Lors d'une infection symptomatique, les spores germent au niveau de l'intestin grêle et se transforment en formes végétatives qui se multiplient dans le côlon où elles colonisent la flore commensale.

La pathogénicité est due à la production par la forme végétative de toxines A et B qui induisent une inflammation de la muqueuse et des diarrhées.

La contamination par C. difficile est principalement faite lors d'une hospitalisation. Elle se fait par voie oro-fécale et sa transmission de personne à personne s'effectue directement par manuportage ou à partir de l'environnement contaminé. L'hôpital constitue à la fois le réservoir de l'infection mais aussi un vecteur de transmission.

En milieu hospitalier, la facilité d'acquisition de C. difficile peut s'expliquer dans un premier temps par la très forte dissémination des souches dans l'environnement des patients. En effet presque 50 % des prélèvements environnementaux de chambres de patients souffrant d'ICD sont positifs à C. difficile. Cela s'explique aussi par la grande résistance des spores de C. difficile sur les supports inertes : les spores de C. difficile peuvent persister pendant des semaines, voire des mois, sur des supports inertes. Pour finir, par la promiscuité des patients hospitalisés, en effet il faut moins de 4 jours à un patient hospitalisé dans la même chambre qu'un patient porteur de C. difficile pour l'acquisition de C. difficile.

L'élément déclencheur de la contamination par C. difficile est l'utilisation d'antibiotiques. En effet ceux-ci détruisent une partie de la flore anaérobie commensale qui sert de barrière, et permet ainsi aux souches de C. difficile qui sont résistantes aux antibiotiques de s'implanter et de se multiplier. On observe une équation entre le niveau de résistance de la souche à l'antibiotique, la concentration en antibiotique et la sensibilité des espèces composant la flore commensale.

Les antibiotiques les plus impliqués sont la clindamycine (lincosamide), les céphalosporines de 3^{ème} génération et l'amoxicilline. Mais sont aussi incriminés les macrolides, les céphalosporines de 2^{ème} génération et les fluoroquinolones.

Les 3 principaux facteurs de risque de contaminations par *C. difficile* identifiés sont une hospitalisation, l'usage d'antibiotiques et l'âge du patient.

L'âge du patient supérieur à 65 ans est un facteur de risque important, car ces personnes présentent une moins bonne capacité à produire une réponse immunitaire, des comorbidités, un usage récurrent aux antibiotiques et une plus forte fréquentation des milieux hospitaliers.

D'autres facteurs de risque ont été identifiés comme le tabagisme, l'usage de tubes nasogastriques ou la prise d'agents antiacides.

3. Signes cliniques :

On peut retrouver différents degrés cliniques plus ou moins graves :

- Une diarrhée bénigne modérée et sans fièvre, sans douleur abdominale notable.
- Une diarrhée sévère associée ou non de fièvre, et souvent à des douleurs abdominales.
- La colite pseudomembraneuse : le premier jour se caractérise par une diarrhée liquide abondante 3 à 8 selles/j puis crémeuses ou verdâtres, rarement hémorragiques (< 5 %). La personne présente une fièvre modérée dans 75% des cas et des douleurs abdominales dans 70%.

Lors de la réalisation d'une biologie on observe des résultats non spécifiques tels qu'une hyperleucocytose à polynucléaires, un syndrome inflammatoire et une hypo-albuminémie modérée.

L'endoscopie digestive va permettre d'observer une muqueuse colique couverte de lésions aphtoïdes jaunâtres. La confirmation diagnostique se fera par la recherche des toxines A et B dans les selles ou par l'isolement d'une souche toxigène.

Les complications :

Les complications représentent environ 1% de l'ensemble des infections à *C. difficile* et 30% des formes sévères. Les 3 principales complications peuvent être un choc septique, un mégacôlon toxique (dilatation du côlon et de l'abdomen) pouvant entraîner une perforation colique ou la formation d'iléus (occlusion intestinale).

Elles peuvent être mortelles si une prise en charge rapide n'est pas faite.

4. Les traitements :

Dans un premier temps, une mise en place de mesures d'hygiène spécifiques, notamment en milieu hospitalier avec un isolement du patient et des précautions particulières du personnel soignant est nécessaire.

- Lors d'une forme non sévère, la conduite à tenir est l'arrêt de l'antibiothérapie si cela est possible, ce qui va conduire dans 15 à 20% des cas à une guérison en 2 à 3 jours.

- Si l'arrêt de l'antibiotique est impossible, si cela est insuffisant ou si la diarrhée devient fébrile (infection sévère), le traitement de première intention (Boutoille 2017) est le métronidazole per os (500 mg X 3/j) pendant 10 jours. Il est également possible d'utiliser la vancomycine per os (125 mg X 4/j) ou la fidaxomicine per os (200 mg X 2/j) pendant 10 jours.

Si la voie orale n'est pas possible, on utilise du métronidazole IV (500 mg/8h) pendant 10 jours.

En cas de premier épisode et pour des formes peu à modérément sévères, le métronidazole est recommandé en première intention, pour son moindre coût et car il présente moins de risque de sélectionner des germes résistants.

- Les formes sévères sont traitées par vancomycine per os (125 mg X 4/j) ou fidaxomicine per os (200 mg X 2/j) pendant 10 jours.

Lorsque la voie orale n'est pas envisageable, un traitement par métronidazole IV (500 mg X 3/j) est associé à des lavements de vancomycine pendant 10 jours ou métronidazole IV (500 mg X 3/j) associé à la vancomycine par sonde nasogastrique pendant 10 jours ou de la tigécycline IV (50 mg X 2/j) pendant 14 jours.

L'avantage de la fidaxomicine est qu'elle agit sur un spectre étroit ciblé sur les bactéries à Gram positif. Elle entraîne moins d'effets délétères sur le microbiote intestinal que la vancomycine et le métronidazole mais son usage est limité à cause de son prix élevé. Dans les formes les plus sévères, l'absence de données d'efficacité et de tolérance limitent son utilisation.

Les formes sévères avec complications peuvent nécessiter un transfert en réanimation pour maintien des fonctions vitales. On peut aussi avoir recours à la chirurgie en cas de mégacôlon toxique ou de perforation digestive : la colectomie qui consiste à une ablation du côlon, qui pourra être suivie de la mise en place d'une colostomie (ou côlon artificiel).

5. Les récidives :

Les récidives d'infections à *C. difficile* sont définies par une réapparition de l'infection dans les deux mois qui suivent le début de l'épisode initial. Elles sont un problème majeur de l'infection à *C. difficile* et surviennent dans environ 20 % des cas.

Dans la majorité des cas, il s'agit d'une reviviscence de la souche initiale sous forme sporulée dans le tube digestif, malgré un traitement efficace, pour le reste il s'agit d'une contamination par une nouvelle souche, le plus souvent lors d'une hospitalisation combinée avec une altération persistante de la flore digestive (aggravée par métronidazole ou vancomycine) et une réponse immune inadéquate (absence de synthèse d'anticorps antitoxines).

Le traitement des récidives est complexe car un patient qui présente une première récurrence a davantage de risque de faire des récurrences ultérieures et multiples. Il peut faire appel à des cures répétées de vancomycine ou de fidaxomicine, ou à l'usage de doses décroissantes d'antibiotiques.

6. La flore intestinale dans les infections à C. difficile :

L'étude (Chang et al. 2008) de la flore des selles de personnes atteintes de formes récurrentes de l'infection à C. difficile en comparaison à celle de sujets sains ou atteints d'un épisode initial a montré une diminution nette de la diversité globale des micro-organismes et une modification des phyla dominants.

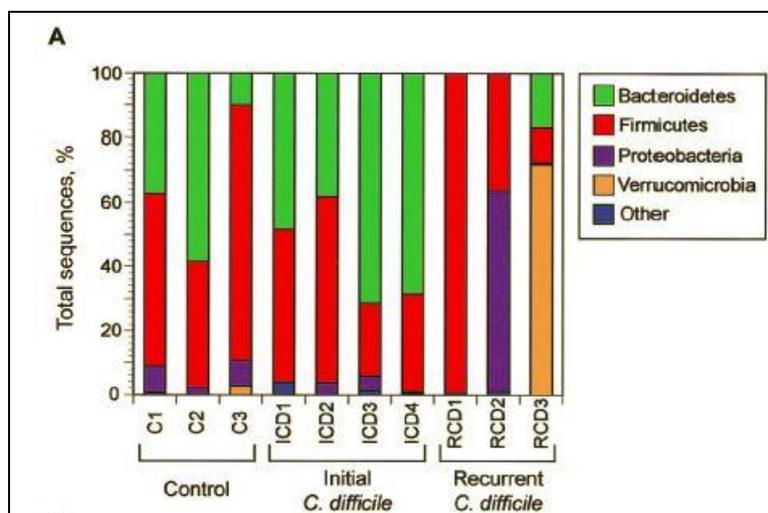


Figure 5 : Abondance relative des phyla bactériens dominants dans les échantillons fécaux de sujets témoins en bonne santé, chez les patients présentant un épisode initial d'ICD et chez les patients atteints d'une forme récurrente d'ICD. (Chang et al. 2008)

On observe chez les sujets atteints de formes récurrentes d'ICD une modification de l'abondance des phyla retrouvés habituellement de manière majoritaire chez les individus sains : Bacteroidetes et Firmicutes.

De plus, cette variation entraîne une perte de résistance à la colonisation, en effet chez certains patients la bactérie C. difficile est devenue dominante de la communauté microbienne.

La prise en charge des infections récidivantes à C. difficile est très complexe et implique la réalisation de cures répétées d'antibiotiques.

De nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant la flore intestinale pourrait permettre de réduire le nombre de récives et de limiter l'usage des antibiotiques.

II. Pathologies extra-digestives :

A. Surpoids, obésité et diabète :

1. Définition :

Selon l’OMS, le surpoids et l’obésité sont définis comme un excès de masse grasse qui entraîne des conséquences néfastes pour la santé.

Pour estimer le surpoids et l’obésité, la mesure de l’indice de masse corporelle (IMC) est utilisée chez l’adulte (HAS 2011). Il s’agit du rapport du poids par la taille au carré et est exprimé en kg/m². Chez un adulte le surpoids est défini par un IMC compris entre 25 et 30 kg/m² et l’obésité par un IMC supérieur à 30 kg/m².

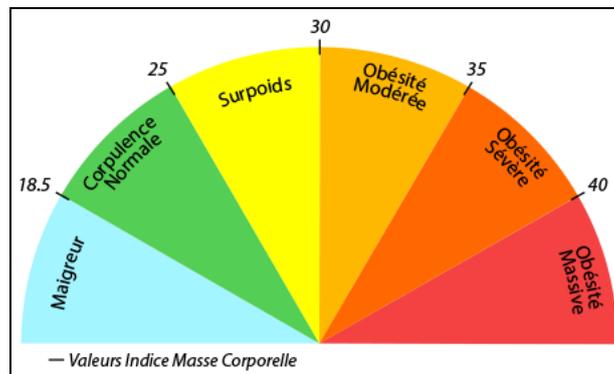


Figure 6 : Corpulence selon l'Indice de Masse Corporelle (IMC) (Alliance Apnées du sommeil 2017)

2. Epidémiologie :

Une étude (ObÉpi-Roche, 2009) réalisée en 2009 a montré que la prévalence de l’obésité chez les adultes français de 18 ans et plus était de 14,5 % et celle du surpoids de 31,9 %.

De plus, en 2009, la prévalence de l’obésité en France a augmentée de + 10,7 % par rapport à 2006. On observe un accroissement très rapide du nombre de personnes ayant une obésité ou un surpoids et surtout que les personnes développent une obésité à un âge de plus en plus jeune. En effet, l’augmentation la plus importante a été observée pour la tranche d’âge 25-34 ans avec + 19,5 %. Cette augmentation peut être expliquée principalement par les changements des habitudes alimentaires, avec notamment une augmentation de l’apport en lipides.

La prévalence de l’obésité est plus élevée chez les femmes (15,1 %) que chez les hommes (13,9 %). Elle augmente avec l’âge dans les deux sexes avec un pic pour la tranche d’âge 55-64 ans. Chez les patients âgés de 65 ans et plus, la proportion de personnes ayant une obésité était de 17,9 % et celle des personnes en surpoids était de 41,2 %.

3. Etiologies :

L'obésité est une maladie complexe qui semble caractérisée par des facteurs à la fois génétiques, comportementaux, sociaux et environnementaux dont l'excès calorique. En effet, dans le surpoids et l'obésité on observe un déséquilibre prolongé de la balance énergétique avec des apports énergétiques journaliers dépassant les dépenses.

4. Conséquences et risques :

Certains sujets obèses sont à risque de développer des maladies secondaires. En effet, lorsque l'IMC augmente de 20 à 30 kg/m², il existe une relation linéaire entre le poids et l'hypertension artérielle, les maladies coronariennes et le diabète de type 2 (HAS 2011).

Le risque de développer un diabète de type 2 ou de présenter une cardiopathie ischémique augmente avec le surpoids et encore plus avec l'obésité, en particulier chez les sujets présentant une répartition abdominale de leur surpoids.

De plus, il a été démontré que certains cancers sont favorisés par l'obésité.

5. Traitements :

Le surpoids et l'obésité peuvent avoir des conséquences physiques, psychologiques et sociales considérables.

Selon les recommandations actuelles de la Haute Autorité de Santé (HAS), les objectifs de la prise en charge du surpoids et de l'obésité sont les suivants :

- ✚ une perte de poids de l'ordre de 5 à 15% par rapport au poids initial.
- ✚ une stabilité pondérale, avec surtout une prévention de la rechute.
- ✚ la prise en charge des comorbidités : diabète, hypertension, douleurs arthrosiques, syndrome des apnées du sommeil.
- ✚ favoriser la qualité de vie somatique, psychologique et sociale du patient.

Dans certains cas d'obésité morbide, la chirurgie bariatrique est une solution qui permet d'atteindre et de maintenir une perte de poids conséquente (HAS 2009). Pour cela, le bypass est une technique restrictive et malabsorptive qui permet de diminuer à la fois la quantité d'aliments ingérés et l'assimilation de ces aliments par l'organisme, grâce à un court-circuit d'une partie de l'estomac et de l'intestin.

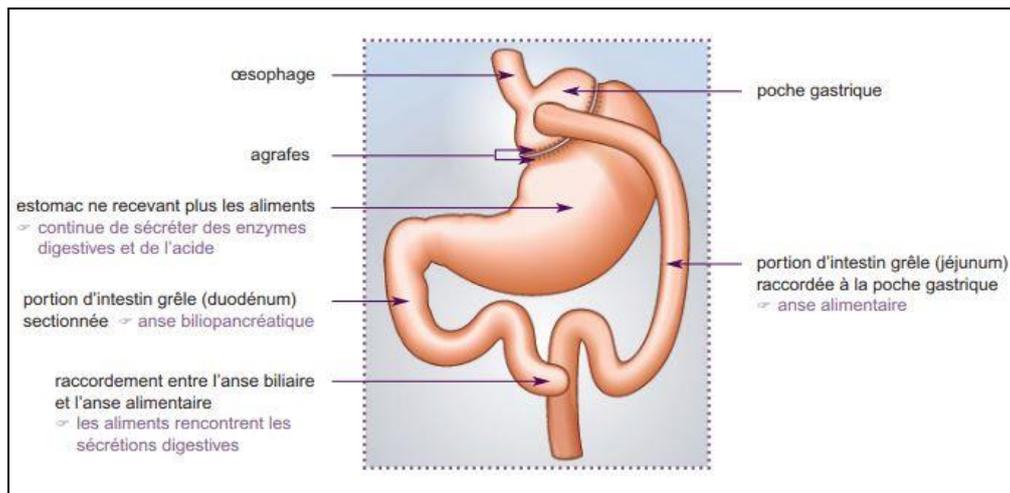


Figure 7 : Représentation schématique d'un « bypass ». (HAS, 2009)

Cela consiste à diminuer de 90 % la taille de l'estomac en créant une petite poche gastrique de 15 à 30 mL. Les parties distale de l'estomac et proximale de l'intestin sont contournées. La poche gastrique créée est directement attachée à la partie distale du jéjunum. Les anses biliaire et pancréatique sont ensuite raccordées au jéjunum pour que les aliments soient en contact avec les sécrétions digestives.

Le bol alimentaire est envoyé directement dans la partie distale du jéjunum de l'intestin grêle et est donc assimilé en moindres quantités.

Lors de cette opération, la perte de poids est de l'ordre de 70 à 75 % de l'excès de poids.

Bypass et microbiote :

Après la chirurgie par bypass (RYGB), le duodénum et le jéjunum proximal ne reçoivent plus de nutriments car le bol alimentaire est envoyé depuis la poche gastrique directement dans le jéjunum distal.

En plus de la réduction rapide du poids, grâce à cette technique, les patients obtiennent des améliorations majeures de la sensibilité à l'insuline et de l'homéostasie du glucose.

La modification du parcours du bol alimentaire, associée à des changements dans l'exposition aux résidus gastriques et à l'intestin grêle proximal, permet de modifier l'appétit et donc la taille des repas et les types d'aliments pouvant être ingérés. A ceux-ci sont ajoutés des changements significatifs dans la sécrétion de peptides intestinaux liés à la satiété tels que le peptide glucagon-like-1 (GLP-1).

Les études récentes sur le microbiote dans l'obésité suggèrent le rôle que pourrait jouer la flore intestinale dans les résultats remarquables que génère cette opération. Il est facile de s'imaginer l'impact fort sur le microbiote d'une telle opération par la mise en contact direct d'aliments depuis l'estomac vers les bactéries de la partie distale du jéjunum.

Lors de l'étude (Tremaroli et al. 2015) des changements du microbiote intestinal chez les patients ayant subi une chirurgie bariatrique, il a été observé une augmentation de la diversité microbienne et une altération de la composition microbienne, principalement avec une augmentation de l'abondance relative du phylum Proteobacteria à la fois chez les humains et chez les rongeurs.

Il a été montré que ces résultats ont été maintenus jusqu'à 9 ans après la chirurgie et ne sont pas corrélés avec l'IMC de départ.

Des souris axéniques ont été colonisées avec un microbiote provenant de patients diabétiques et obèses qui ont ou non subi une chirurgie bariatrique (Tremaroli et al. 2015).

Il a été observé que les souris colonisées par le microbiote de patients opérés ont accumulé après 14 jours 43% moins de graisse corporelle que les souris colonisées par le microbiote de patients obèses non opérés.

Cela nous montre que le microbiote altéré des patients ayant été opérés pourrait bien contribuer à la régulation du métabolisme.

Un essai (Palleja et al. 2016) a suivi 13 patients ayant eu une chirurgie bariatrique. Ils ont été examinés avant la chirurgie, 3 mois post chirurgie puis 1 an post chirurgie.

Il a été observé chez ces sujets que 3 mois après la chirurgie RYGB : l'IMC, le glucose à jeun, l'insuline à jeun et l'Hb1Ac diminuaient significativement, et que la sécrétion postprandiale de GLP-1 augmentait significativement.

Les améliorations les plus marquées ont été observées dans les 3 premiers mois et ont été maintenues dans les 9 mois suivants mais de manière plus faible.

L'étude des variations de composition du microbiote après RYGB a montré que l'abondance relative des Protéobactéries et des Fusobactéries a été augmentée et que le producteur de butyrate *F. prausnitzii* a diminué.

L'augmentation de l'abondance des bactéries aérotolérantes du phylum Proteobacteria indique une adaptation à une plus forte présence d'oxygène dans l'intestin distal après RYGB.

Ces différentes études nous montrent que chez les patients ayant subi une chirurgie de by-pass gastrique, l'altération prolongée de la flore intestinale semble participer, parallèlement à l'acte chirurgical en lui-même, à la régulation du poids et du métabolisme du glucose. D'autres études sont nécessaires pour expliquer en détail les mécanismes impliquant la flore intestinale.

6. Flore intestinale dans l'obésité :

L'implication de la flore intestinale dans le surpoids et l'obésité a dans un premier temps été observée par l'étude comparative du microbiote de souris présentant une obésité d'origine génétique (ob/ob) à celui de souris maigres (+/+) (Ley et al. 2006).

Le microbiote de la partie distale de l'intestin des souris a été étudié par séquençage de l'ARN ribosomal 16S et sa comparaison dans les 2 groupes de souris a été réalisée. On observe que les phyla bactériens majoritaires chez toutes les souris sont les Firmicutes et les Bacteroidetes et qu'ils composent 90% de la flore à eux 2.

Cependant, chez les souris obèses on observe en comparaison aux souris de poids normal une diminution de 50% du nombre de bactéries du genre Bacteroidetes et une augmentation proportionnelle des bactéries du groupe des Firmicutes. Ces différences ont été observées malgré une alimentation semblable dans les deux groupes.

Ces résultats nous montrent la présence chez les souris obèses d'une dysbiose au niveau de la flore intestinale avec modification du rapport entre les Firmicutes et les Bacteroides.

Une étude (Ley et al. 2006) a ensuite été réalisée chez l'homme en comparant les microbiotes de 12 sujets obèses et de 12 sujets de poids normal. Les résultats ont montré qu'il existe une dysbiose de la flore intestinale chez les sujets obèses. L'étude de leur flore montre que la proportion de bactéries du phylum Firmicutes est augmentée par rapport à la flore des sujets de poids normal avec diminution des bactéries du phylum Bacteroidetes.

Un suivi de l'évolution de la flore intestinale de ces sujets obèses suivant un régime hypocalorique (pauvre en graisse ou pauvre en glucides) a été effectué pendant 1 an (Ley et al. 2006). Pour cela, les selles des sujets ont été analysées.

Quelques soit le régime suivi, les modifications caloriques ont entraîné une perte de poids. De plus, la quantité de bactéries du genre Bacteroidetes a augmenté et celle des Firmicutes a diminué de manière significative, rejoignant les proportions observées chez le sujet de poids normal.

Les recherches ont montré que les sujets obèses avaient avant le régime hypocalorique une alimentation plus riche en lipides que les sujets de poids normal.

Ces résultats montrent que l'alimentation est un facteur majeur de la composition de la flore intestinale et que des changements diététiques modestes sont capables de restaurer dans la population obèse les proportions de la flore habituellement observées chez les sujets de poids normal.

D'autres travaux réalisés sur une cohorte de plus de 300 patients (Chatelier et al. 2013) a permis de montrer que la plupart des patients obèses ont un nombre réduit de gènes de bactéries au niveau intestinal. Chez les sujets présentant un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 45, on observe jusqu'à 30 à 70 % de réduction du nombre des gènes bactériens.

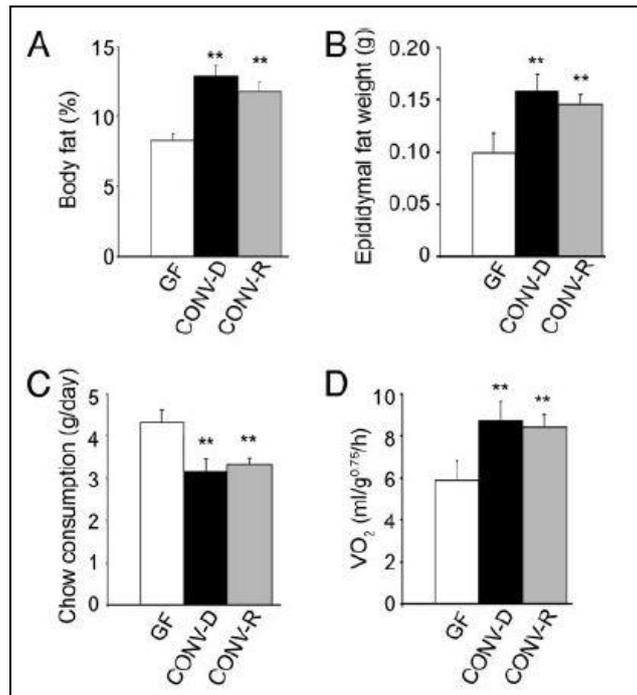


Figure 8 : Comparaison de souris élevées de manière conventionnelle (CONV-R) à des souris axéniques colonisées à l'âge adulte par le microbiote caecal de souris élevées de manière conventionnelle (CONV-D). Souris témoins axéniques (GF). (Bäckhed et al. 2004)

Trois groupes de souris âgées de 8 à 10 semaines ont été étudiés (Bäckhed et al. 2004) pour comparer leur masse corporelle, leur consommation alimentaire et leur consommation d'oxygène. Le premier groupe est composé de souris axéniques témoin (GF), le second groupe est composé de souris élevées de manière conventionnelle (CONV-R) et le troisième groupe de souris axéniques colonisées à l'âge adulte par le microbiote caecal de souris élevées de manière conventionnelle (CONV-D).

La comparaison (Fig. 8A) des souris GF avec les souris CONV-R révèle que les animaux pourvus d'une flore intestinale contiennent en moyenne 42% de masse grasse en plus. Cela malgré la consommation quotidienne par les souris CONV-R d'un régime standard de rongeurs de quantité 29% inférieure à celui des souris GF (Fig. 8C).

De plus, la colonisation de souris axéniques par le microbiote de souris élevées de manière conventionnelle a permis d'observer dans les 14 jours qui ont suivi la colonisation une augmentation de 57% de leur teneur en masse grasse associée à une diminution de 7% de la masse maigre ainsi que le développement d'une résistance à l'insuline.

Comme l'augmentation de la teneur en graisse corporelle due au microbiote n'a pas été causée par une augmentation de la consommation de nourriture, l'hypothèse d'une dépense énergétique réduite a été posée. Cette explication a été exclue après avoir observé que les souris GF plus maigres avaient un taux métabolique (VO₂) inférieur de 27% à celui des souris CONV-D.

Dans une autre étude (Turnbaugh et al. 2006), des souris axéniques ont été colonisées par une flore de souris donneuses obèses (ob/ob) ou minces (+/+). Aucune différence n'était présente entre les deux groupes de souris receveuses en matière de masse corporelle avant les transferts ni dans les régimes alimentaires au cours l'expérimentation. L'analyse des

séquences d'ARN 16S ribosomal a permis de montrer l'abondance en Firmicutes des flores des souris obèses par rapport aux souris minces.

Après le transfert, les souris receveuses de la flore ob/ob avaient plus de Firmicutes que les souris ayant reçu la flore des souris minces. Cette différence était identique 15 jours après le transfert. De plus, les souris colonisées par une flore de souris obèses avaient une plus grande croissance en masse grasse que les souris colonisées par une flore intestinale de souris minces.

Ces résultats suggèrent le rôle de la composition de la flore intestinale dans la prise de masse grasse. En effet, la modification du microbiote intestinal seule est suffisante pour faire varier la masse grasse et modifier la résistance à l'insuline.

Tous ces résultats nous montrent que la flore intestinale des sujets obèses est marquée d'une dysbiose avec une modification du ratio entre Firmicutes et Bacteroidetes à la fois chez les souris et chez l'homme.

De plus, cette flore semble jouer un rôle majeur dans la prise de poids, sans faire intervenir le régime alimentaire. Pour finir, des modifications dans le régime alimentaires des souris obèses semblent capables de corriger les dysbioses pour se rapprocher d'une flore intestinale de sujet de poids normal.

Inflammation de bas grade :

Les mécanismes expliquant le rôle exact de la flore intestinale dans le surpoids et l'obésité ne sont pas clairement établis, mais différents éléments semblent impliqués.

Un élément majeur rapporté lors du surpoids et d'obésité est leur association à une inflammation de bas grade (Burcelin et al. 2016).

Les tissus impliqués dans le contrôle du poids et de la glycémie tels que le foie, le tissu adipeux, le muscle, le cerveau et le pancréas sont infiltrés par des cellules immunitaires inflammatoires. Cet état inflammatoire chronique de faible intensité implique les systèmes immunitaires innés et acquis, via notamment macrophages, cellules dendritiques et lymphocytes et par la production de cytokines pro-inflammatoires.

Le premier élément à prendre en compte est que comme nous l'avons vu précédemment, le régime riche en graisse, qui va être responsable de l'obésité et du diabète, va induire au niveau du microbiote intestinal une dysbiose.

Cette dysbiose va pouvoir favoriser l'absorption à travers la muqueuse intestinale de composés bactériens, tels que le LPS et le peptidoglycane.

a. Le rôle du LPS :

L'inflammation retrouvée au niveau des tissus semble impliquer le lipopolysaccharide (LPS), constituants de la paroi des bactéries intestinales Gram-négatives (Burcelin et al. 2016).

Les LPS sont produits dans l'intestin suite à la lyse continue des bactéries gram-négatives et sont physiologiquement absorbés puis transportés via les chylomicrons et d'autres lipoprotéines vers les tissus cibles tels que le foie et le tissu adipeux.

Un régime riche en lipides, via une altération du microbiote intestinal, entraîne une augmentation de la perméabilité intestinale.

Cette perméabilité augmentée semble être expliquée par la diminution des AGCC. Les AGCC sont connus pour avoir un effet protecteur sur la barrière intestinale, et une réduction de la population de bactéries produisant du butyrate, retrouvée chez les patients obèses, peut contribuer à une altération de la perméabilité intestinale, notamment en altérant les jonctions serrées.

Cette perméabilité augmentée, associée à des anomalies de transferts et d'élimination du LPS entraînent une augmentation du taux plasmatique de LPS, nommée endotoxémie métabolique.

Cette translocation de composés bactériens en dehors de l'intestin, avec le développement de l'endotoxémie métabolique semble avoir un rôle important dans le développement des désordres métaboliques associés à l'obésité tels que l'insulino-résistance, l'inflammation systémique ou encore la stéatose hépatique.

Le LPS a une forte capacité à déclencher un phénomène inflammatoire, et va provoquer l'infiltration et l'activation de cellules immunitaires innées et stimuler la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires au niveau du foie et du tissu adipeux.

Le mécanisme de translocation requiert la reconnaissance des PAMPs par les récepteurs CD14 et TLR-4. Ce sont des récepteurs au LPS qui contrôlent la synthèse et la production de cytokines inflammatoires via la voie NF- κ B. Celles-ci, à leur tour, sont impliquées dans la genèse de l'insulino-résistance en induisant de multiples altérations de la voie de signalisation de l'insuline.

L'implication du couple LPS-CD14 dans la physiopathologie des anomalies métaboliques induites par l'excès lipidique a été suggérée chez les souris délétées pour le gène codant pour le CD14 (Cani et al. 2007). En effet, ces souris sont résistantes aux effets métaboliques néfastes du régime enrichi en lipides et ne développent ni insulino-résistance, ni stéatose hépatique.

Par ailleurs, des souris témoins à qui l'on a administré de manière systémique du LPS pendant 4 semaines (Cani et al. 2007) ont quant à elles développé un phénotype du même type que lors d'un régime riche en lipides, avec prise de poids en plus d'une inflammation, d'une intolérance au glucose et une insulino-résistance.

Le LPS semble jouer un rôle primordial dans le développement de l'inflammation de bas grade qui conduit à la prise de poids et au développement de l'insulino-résistance. Il pourrait s'agir d'une cible thérapeutique intéressante, soit en le ciblant directement pour limiter sa diffusion, soit par l'usage de probiotiques qui pourraient renforcer la barrière intestinale et éviter la translocation à travers celle-ci.

b. Translocation de bactéries vivantes :

En plus des fragments bactériens, des bactéries vivantes ont également été récemment mises en évidence chez la souris dans certains tissus comme le tissu adipeux, le foie, le cerveau et le sang, définissant ainsi un microbiote tissulaire.

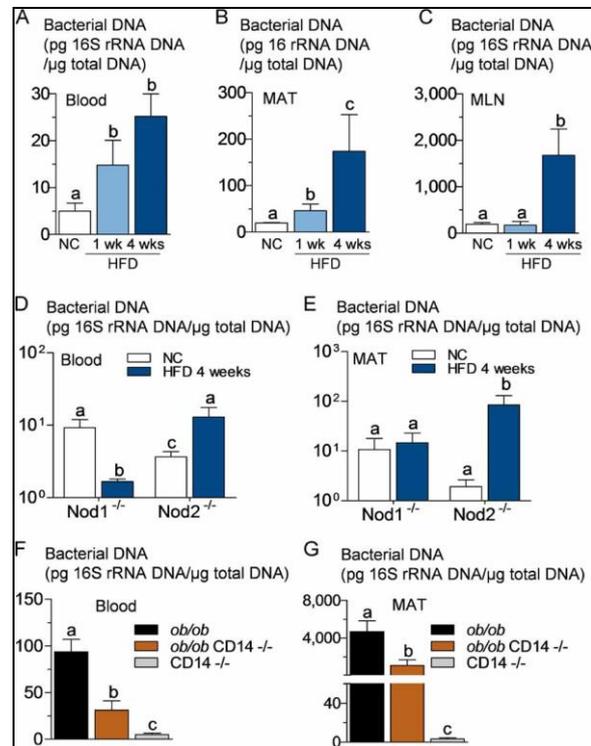


Figure 9 : Impact d'une alimentation riche en graisse sur la concentration d'ADN bactérien dans différents tissus chez la souris : sang (blood), tissu adipeux (MAT) et nodules lymphoïdes associés (MLN). Rôle des récepteurs NOD1, NOD2 et CD14. (Amar et al. 2011)

Une nouvelle étude (Amar et al. 2011) a quantifié l'ADN bactérien chez des souris ayant une alimentation riche en graisse, dans le sang et le tissu adipeux. Il a également été quantifié dans les ganglions lymphatiques correspondants, puisque les cellules immunitaires innées suspectées d'avoir phagocyté des bactéries intestinales peuvent s'accumuler dans ce tissu.

D'après les résultats (Fig. 9 A, B, C), on observe qu'un régime riche en graisse (HFD) augmente la concentration d'ADN bactérien dans le sang, le tissu adipeux et les nodules lymphoïdes associés. Cela est observé chez la souris dès la première semaine de régime riche en graisse (stade prédiabétique) dans le sang et le tissu adipeux mais est beaucoup plus fortement marqué et avec une présence dans les nodules lymphoïdes associés au stade diabétique (4 semaines de régime riche en graisse).

La comparaison de souris obèses (ob/ob) (Fig. 9 F et G) à des souris de poids normal (Fig. 9 A, B) montre que les souris obèses (ob/ob) présentent une quantité totale d'ADN bactérien dans le sang et dans le tissu adipeux beaucoup plus importante.

De plus, les PRRs (Pathogen Recognition Receptors) NOD1 (Fig. 9 D, E) et CD14 (Fig. F, G) semblent contrôler l'accumulation d'ADN bactérien induite par l'alimentation riche

en graisses dans les tissus. En effet lors d'un régime riche en graisse la déficience de l'un ou l'autre des récepteurs empêche la translocation bactérienne.

Dans le but d'observer que des bactéries retrouvées au niveau du sang et des tissus adipeux proviennent bien des bactéries commensales de l'intestin et suivent un mécanisme de translocation à travers la muqueuse intestinale, des souris au stade diabétique ont été colonisées par gavage avec des *E. coli* productrices de bêtalactamases qui leur confère une résistance à l'ampicilline. Les cultures en présence d'ampicilline des tissus de ces souris mettent en effet en évidence la présence de colonies résistantes à l'antibiotique, preuve du passage de la bactérie vivante.

Seulement 2h après le gavage, la quantité de bactéries fluorescentes retrouvées dans le sang des souris diabétiques a été augmentée par rapport aux souris suivant un régime normal.

Dès le stade prédiabète des souris suivant le régime riche en graisse, on observe une augmentation de l'adhérence d'espèces bactériennes gram-négatives à la surface de la muqueuse intestinale et dans la muqueuse iléale.

Cette adhérence de bactéries gram-négatives à la muqueuse intestinale persiste au stade diabétique. De plus, des bactéries ont également été détectées au niveau de la lamina propria et de la sous-muqueuse chez les souris suivant un régime riche en graisse de manière beaucoup plus importante que chez les souris suivant un régime normal.

De manière physiologique, les cellules dendritiques sont localisées seulement au niveau de la lamina propria.

Au stade diabète, les cellules dendritiques ont également été observées entre les entérocytes, prolongeant leurs dendrites vers la lumière intestinale. On observe également la colocalisation de bactéries avec des cellules dendritiques dans la lamina propria et au niveau luminal des villosités intestinales.

De plus, on retrouve également la colocalisation de cellules dendritiques avec des bactéries gram-négatives au niveau des ganglions lymphoïdes associés.

On peut également noter qu'au niveau du stade diabète on observe une augmentation de marqueurs de l'inflammation au niveau du tissu adipeux tel que le TNF- α et l'INF- γ .

Ces résultats montrent que le tissu adipeux et le sang de souris diabétiques nourries par un régime riche en graisse contiennent des bactéries vivantes, qui proviennent de l'intestin. Ce passage de bactéries à travers la muqueuse intestinale peut être expliqué par la présence de cellules immunitaires capables de phagocytose au niveau de la lumière intestinale, qui vont capter les bactéries qui adhèrent à la muqueuse et les transporter jusqu'aux tissus cibles.

Les bactéries peuvent également être captées par les cellules M au niveau des plaques de Payer, où elles vont être prises en charge au niveau basal par les cellules du système immunitaire inné et dégradés en peptides antigéniques qui pourront activer les lymphocytes et déclencher une réponse immunitaire acquise.

Ces mécanismes vont pouvoir être favorisés par le fait que la couche de mucus recouvrant la muqueuse intestinale est réduite au cours du diabète de type 2, notamment à cause de la diminution de la quantité d'AGCC.

c. Rôle des Acides Gras à Courtes Chaines :

Comme nous l'avons vu précédemment, le microbiote intestinal possède une capacité de fermentation des polysaccharides alimentaires qui ne peuvent pas être digérés par les enzymes de l'hôte. Cela permet la production d'AGCC qui présentent de nombreuses fonctions. Chez les patients obèses, on observe une diminution des bactéries productrices d'AGCC, ce qui se traduit par une diminution de la quantité circulante d'AGCC.

Le rôle premier des AGCC (Saad et al. 2016) est de servir de source d'énergie pour les cellules épithéliales du côlon, principalement grâce au butyrate. Ils jouent également un rôle dans la croissance et la différenciation de ces cellules.

L'acétate peut être utilisé comme un précurseur de cholestérol ou d'acide gras, et le propionate est un substrat pour la gluconéogenèse

Les AGCC jouent aussi un rôle majeur dans le maintien de la fonction de barrière épithéliale. Le butyrate augmente la production de mucus, et est important pour l'expression correcte des protéines formant les jonctions serrées entre les cellules intestinales permettant de réduire la perméabilité intestinale.

L'acétate et le butyrate peuvent augmenter l'oxydation des acides gras et la dépense énergétique chez les humains, réduisant le poids corporel. L'administration d'acétate (Sakakibara et al. 2006) à des souris diabétiques pendant 8 semaines a permis de montrer l'activation de l'AMP-protéine kinase (AMPK), ce qui augmente l'oxydation des acides gras et la dépense énergétique. Ce résultat était associé chez ces souris à une amélioration de la résistance à l'insuline et de la tolérance au glucose.

Les AGCC ont montré leur effet anti-inflammatoire (Tedelind et al. 2007), notamment en inhibant l'activation de NF-KB dans les cellules immunitaires de l'hôte et en modulant l'expression de cytokines.

Ils vont pouvoir induire la maturation de certains lymphocytes aux propriétés anti-inflammatoires. Le butyrate peut favoriser la production de cellules T anti-inflammatoires (Saad et al. 2016). Le propionate favorise leur différenciation en cellules Treg et la production d'IL-10. Au niveau du tissu adipeux, une augmentation des cellules Treg peut réduire l'infiltration des macrophages et améliorer la résistance à l'insuline.

Ces études nous ont montré les différents rôles des AGCC. Leur diminution dans les pathologies métaboliques a de nombreuses conséquences, notamment dans le maintien de la barrière intestinale.

Ils pourraient être une cible thérapeutique intéressante à différents niveaux. L'administration directe d'AGCC ou de bactéries probiotiques capables de les produire pourrait notamment permettre de rétablir les propriétés de barrière de la muqueuse intestinale et de promouvoir des effets anti-inflammatoires.

d. Développement de l'insulino-résistance :

Le régime riche en graisse va moduler le microbiote intestinal et entraîner une altération de la barrière intestinale associée à une augmentation de la translocation de fragments bactériens et une diminution des AGCC.

Les tissus impliqués dans le contrôle du poids et de la glycémie sont infiltrés par des cellules immunitaires inflammatoires. Dans ces cellules, différentes voies de signalisation impliquant des phosphatases et des kinases (Saad et al. 2016) vont entraîner la production de cytokines qui vont altérer la transmission du signal insulinique.

Il a par exemple été montré que le TNF-alpha, présent au niveau du tissu adipeux lors de l'obésité (Tanti et al. 2004) active la protéine-kinase C et augmente la phosphorylation de substrats des récepteurs de l'insuline (IRS-1) sur certains résidus sérine. Cela conduit à l'inactivation de molécules de signalisation de l'insuline et donc participe au phénomène de résistance à l'insuline.

7. Traitement probiotique chez la souris :

Des souris nourries par un régime riche en graisse ont été traitées par le probiotique B. lactis 420 (Amar et al. 2011) pendant un mois à la dose de 10^9 UFC/jour.

Il a été observé une diminution de la quantité de certaines bactéries dont d'E. coli au niveau de la muqueuse intestinale. De plus, certaines familles de bactéries, telles que les Enterobacteriaceae qui étaient fortement présentes dans le tissu adipeux de souris ayant un régime riche en graisse, sont retrouvées en quantité fortement diminuée.

La production de différentes cytokines pro-inflammatoire telles que IL-1 β et IL-6 a été diminuée dans le tissu adipeux, le foie et le muscle.

La sensibilité à l'insuline a été normalisée par rapport aux souris nourries par régime riche en graisse sans le traitement probiotique.

Chez la souris ayant une alimentation riche en graisse, un traitement probiotique par la souche L. lactis semble donc empêcher l'adhérence bactérienne à la muqueuse intestinale et diminuer la translocation bactérienne. Cela permet également de diminuer l'inflammation induite par le régime gras et améliore la sensibilité à l'insuline.

Ce résultat semble encourageant et de nouvelles études plus approfondies chez l'homme avec l'usage de probiotiques sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes impliqués.

B. Les maladies auto-immunes :

De récentes études (Mathis et al. 2011) semblent faire le lien entre des altérations au niveau du microbiote intestinal et les maladies auto-immunes. Nous allons voir ici l'exemple de deux maladies auto-immunes : le lupus érythémateux disséminé et la polyarthrite rhumatoïde avec le rôle que semble jouer le microbiote intestinal dans leur développement. Cela pourrait permettre d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques spécifiques à chaque pathologie.

1. Le lupus érythémateux disséminé :

Le lupus érythémateux disséminé (LED) est une maladie auto-immune inflammatoire chronique qui évolue par poussées. Cette pathologie se caractérise par une réponse auto-immune dirigée contre des antigènes d'origine nucléaire. Ceci entraîne la production d'auto-anticorps qui peuvent être à l'origine de lésions tissulaires inflammatoires.

Les mécanismes physiopathologiques précis de la maladie restent pour le moment inconnus mais il semble exister une part génétique, couplée à des facteurs environnementaux et immunologiques. Il a été estimé que 10 à 12 % des patients ont un apparenté du premier degré atteint d'une forme de maladie lupique.

Le lupus est une maladie qui peut toucher de nombreux organes (Hachulla et al. 2016) pouvant varier d'une personne à une autre et changer au cours de l'évolution de la maladie. Les manifestations les plus fréquentes peuvent être des manifestations rhumatologiques, dermatologiques notamment une éruption cutanée caractéristique au niveau du visage en forme d'ailes de papillon, mais peuvent aussi toucher entre autres les reins, le système nerveux central, le cœur, les poumons et les cellules sanguines.

a. Epidémiologie :

Le LED (Hachulla et al. 2016) affecte principalement les femmes jeunes, le sex-ratio est d'environ 9 femmes pour 1 homme, mais peut également débuter chez les enfants et les personnes âgées.

La prévalence du LED en France est évaluée à 47,1 personnes pour 100 000. Le nombre de patients est estimé entre 30 000 et 60 000.

b. Prise en charge et traitement :

Ces dernières années le pronostic à court et moyen terme s'est considérablement amélioré, le taux de survie à dix ans étant actuellement proche de 95 %.

Il n'existe pas de traitement spécifique au lupus. Le traitement de fond repose sur l'utilisation d'un antipaludéen de synthèse, l'hydroxychloroquine (Plaquénil®). Ses effets anti-inflammatoires et antalgiques permettent de prévenir les rechutes.

Le traitement des poussées repose sur l'usage d'anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS), de corticoïdes et dans les cas les plus sévères d'immunosuppresseurs.

c. Mécanismes :

Le développement (Richez 2011) du LED fait intervenir les systèmes immunitaires inné et adaptatif. Les interactions entre auto-antigènes, cellules présentatrices d'antigènes, lymphocytes B et lymphocytes T aboutissent à la production d'auto-anticorps et à l'activation de lymphocytes T délétères pour l'organisme.

Les anticorps anti-nucléaires sont présents de manière quasi constante chez les patients souffrant de LED, ils peuvent cibler la chromatine et ses constituants ou bien des antigènes nucléaires solubles.

Les mécanismes immunologiques pathogènes débutent bien avant l'apparition des premiers symptômes de la maladie. En effet, les anticorps anti-nucléaires caractéristiques sont détectables plusieurs années avant l'apparition des premiers symptômes cliniques et augmentent progressivement.

Ces auto-anticorps vont être à l'origine de lésions tissulaires par la formation de complexes immuns (CI). Les CI sont des complexes moléculaires constitués d'auto-anticorps fixés à des auto-antigènes. Quand ils sont présents dans les tissus, ils activent la voie classique du complément, la cascade du complément libère des facteurs chimiotactiques initient la réaction inflammatoire et recrutent macrophages, polynucléaires neutrophiles, cellules dendritiques et lymphocytes.

Une anomalie de la clairance physiologique des corps apoptotiques et/ou une augmentation de leur production semble être à l'origine du processus provoquant la stimulation de cellules dendritiques. Leur activation entraîne alors une production inappropriée d'IFN- α .

La production d'IFN- α provoque l'activation de cellules auto-réactives B et T, puis la maturation et la survie des B auto-réactifs. Les auto-anticorps produits forment des complexes immuns qui vont être reconnus via les TLRs par les cellules dendritiques et perpétuer la production d'IFN- α .

Ceci qui aboutit au cercle vicieux du processus auto-immun.

Les cellules Th17 semblent avoir un rôle central en tant que principaux moteurs des réponses auto-immunes dans le lupus (Alunno et al. 2012) par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires impliquées dans l'inflammation locale et la destruction tissulaire (IL-17, IL-22 et IL-23).

Des taux circulants accrus d'IL-17 et de cellules T productrices de l'IL-17 ont en effet été récemment mis en évidence dans le lupus. Ainsi que le fait qu'ils puissent infiltrer les poumons, la peau et les reins, ce qui contribue à endommager les organes.

Les cellules Treg sont quant à elles essentielles pour prévenir les maladies auto-immunes et inflammatoires, car elles présentent une activité suppressive sur les réponses effectrices aberrantes. Elles peuvent se répandre ou être induites dans les tissus périphériques en réponse à divers antigènes.

Plusieurs études (Alunno et al. 2012) ont montré une réduction du nombre ou une altération de la fonction des cellules Treg circulantes chez les patients atteints de LED.

d. Rôle de la flore intestinale :

Une étude (Hevia et al. 2014) a permis de comparer la composition du microbiote intestinal de 20 patients souffrant de lupus avec celui de sujets contrôles sains dans le but de déterminer la présence potentielle d'une dysbiose. Pour cela, l'étude de l'ARNr 16S du microbiote fécal des patients de chaque groupe a été réalisée.

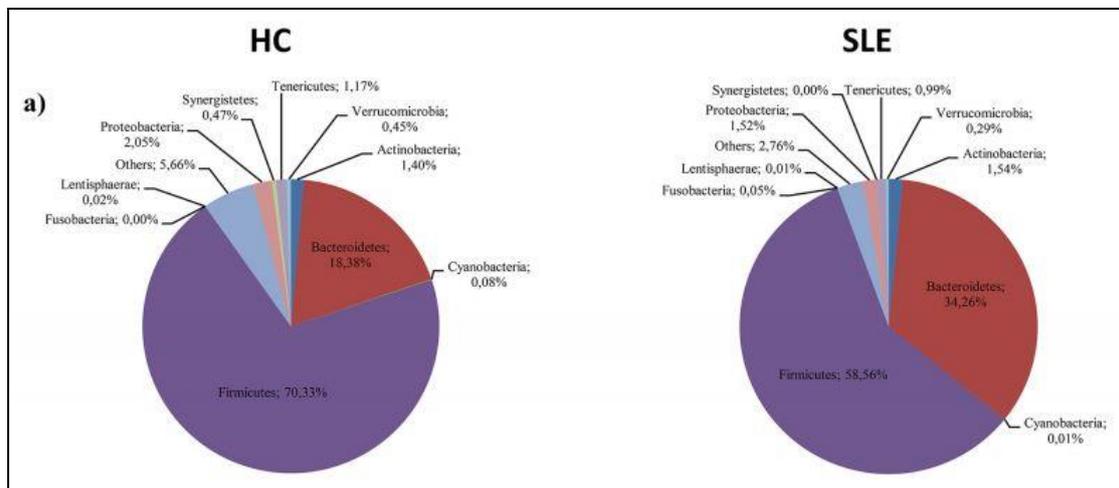


Figure 10 : Représentation des phylums composant le microbiote d'échantillons fécaux de sujets témoins (HC) et de sujets atteints de lupus (SLE). (Hevia et al. 2014)

Les résultats ont clairement montré la présence d'une dysbiose au niveau du microbiote des patients atteints de lupus, avec notamment une augmentation de l'abondance relative en Bacteroidetes.

Il a été observé une diminution significative du ratio Firmicutes / Bacteroidetes chez les malades, avec un ratio presque 2,5 fois plus faible.

Une étude (López et al. 2016) de cultures in vitro de microbiote isolé d'échantillons de selles de patients atteints de lupus a été réalisée. Il a pu être montré l'activation de lymphocytes CD4 + naïfs et leur différenciation en Th17 dans une plus grande mesure, en comparaison du microbiote fécal de sujets sains.

Ceci est intéressant compte tenu du rôle majeur que semble jouer les Th17 dans l'inflammation tissulaire du lupus.

Pour la suite de l'étude, le microbiote des patients atteints de lupus a été enrichi avec des souches connues pour être des inducteurs de cellules Treg : *Bifidobacterium bifidum* ou l'association de 2 souches de Clostridia (*Ruminococcus obeum* DSM25238 et *Blautia coccoides* DSM935).

L'ajout du mélange des deux souches de Clostridia a montré une réduction significative de l'équilibre Th17 / Th1, alors que la supplémentation en *B. bifidum* empêche la suractivation des lymphocytes CD4 +.

Ces effets suggèrent que des études plus poussées et chez l'homme sont nécessaires pour évaluer un bénéfice thérapeutique potentiel des probiotiques contenant des souches inductrices de Treg afin de rétablir le déséquilibre Treg / Th17 retrouvé dans le lupus.

e. Rôle de la protéine Ro60 :

La protéine Ro60 est une cible majeure des auto-anticorps des patients lupiques. Dans certaines bactéries commensales, il a été observé que l'on retrouve une protéine fortement apparentée à l'auto-antigène Ro60 humain.

Plusieurs espèces bactériennes (Greiling et al. 2018) ont été identifiées au niveau de l'intestin et de la peau, pour porter la protéine apparentée à Ro60, à la fois chez les patients malades et sains. L'une de ces bactéries Ro60 a été retrouvée en abondance dans une lésion cutanée d'un patient lupique.

L'hypothèse émise a été que les Ro60 commensaux peuvent déclencher l'auto-immunité par le biais de réactivités croisées chez les individus génétiquement sensibles.

En effet, des clones de lymphocytes T mémoire spécifiques de l'auto-antigène Ro60 humain provenant de patients atteints de lupus ont été activés par des bactéries de la peau et des muqueuses contenant la protéine apparentée à Ro60, montrant la réactivité croisée des lymphocytes T chez l'homme.

Des souris axéniques ont été colonisées par une bactérie Ro60. Il a été observé que des réactions immunitaires B et T systémiques contre la protéine Ro60 humaine se sont spontanément développées. De plus cette colonisation a provoqué des dépôts de complexes immuns dans les reins, semblables à ceux que l'on retrouve chez les patients présentant une néphrite lupique.

Ces résultats nous permettent de faire le lien entre les réponses commensales anti-Ro60 et la production d'auto-anticorps anti-Ro60 humains.

De nombreuses bactéries de la flore contiennent la protéine apparentée à Ro60, il conviendra de sélectionner celles qui sont les plus susceptibles de contribuer à la formation d'auto-anticorps. Les auto-anticorps étant présents très tôt lors du développement de la maladie, avant les premiers signes cliniques, la détection des bactéries spécifiques chez les personnes prédisposées pourrait permettre la mise en place d'un traitement au plus tôt ou de prévenir l'auto-immunité.

Ce concept de réactivité croisée pourrait conduire à de nouvelles approches thérapeutiques visant des espèces commensales définies, présentes au niveau des flores commensales intestinales et/ou cutanées.

2. La polyarthrite rhumatoïde :

La polyarthrite rhumatoïde (PAR) est une maladie auto-immune qui entraîne une inflammation chronique et sévère des articulations.

Cette inflammation entraîne la destruction progressive des articulations et donc un handicap à terme pour le patient.

La PAR est une maladie (Boissier, 2017) qui évolue par poussées. Elle se caractérise par une polyarthrite bilatérale, le plus souvent symétrique. Les articulations les plus touchées sont les poignets, associés à une ou plusieurs articulations métacarpo-phalangiennes ou interphalangiennes proximales.

Les douleurs sont caractérisées par un rythme inflammatoire avec réveil nocturne et dérouillage matinal supérieur à 30 minutes.

a. Épidémiologie :

Dans les pays industrialisés, l'incidence de la maladie est de 8 nouveaux cas pour 100 000, et la prévalence est de 0.5%. L'âge médian d'apparition de la maladie se situe vers 45 ans. De plus, la maladie est 2 à 3 fois plus fréquente chez les femmes que chez les hommes.

b. Mécanismes :

La PAR est caractérisée (COFER, 2011) par une inflammation de la membrane synoviale des articulations (synovite) qui va être responsable de la destruction articulaire.

La synovite se manifeste dans un premier temps par le développement dans la membrane synoviale d'une inflammation d'origine inconnue. Cette inflammation va entraîner l'accumulation de macrophages qui produisent des cytokines pro-inflammatoires. Celles-ci vont favoriser le recrutement de lymphocytes T responsables d'activations cellulaires en cascade, avec production de cytokines pro-inflammatoires amplifiant l'inflammation locale et provoquant des destructions cellulaires et de cytokines favorisant l'angiogenèse, ce qui permet le recrutement des lymphocytes, macrophages et polynucléaires neutrophiles sanguins. Puis s'en suit une multiplication des vaisseaux de la membrane et un épaissement considérable du tissu synovial que l'on appelle alors « pannus ».

Des réponses immunitaires à médiation cellulaire et humorale peuvent être retrouvées au cours de la synovite. En effet, des lymphocytes T CD4, des lymphocytes B activés, des plasmocytes et des macrophages sont présents dans la membrane synoviale enflammée. De plus, on peut retrouver dans le fluide synovial de nombreuses cytokines pro-inflammatoires : IL-6, TNF, IL-1.

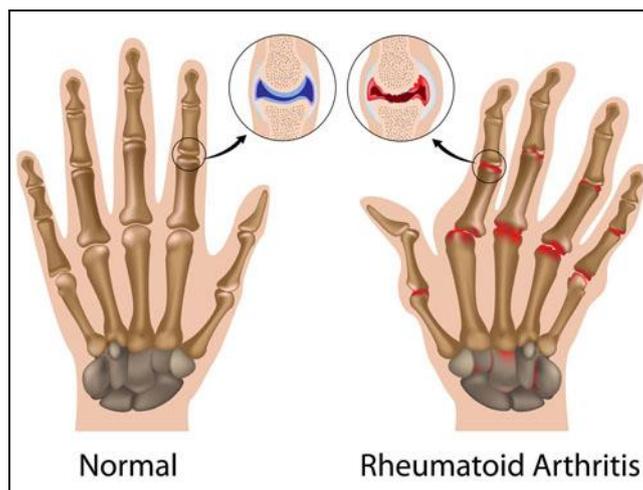


Figure 11 : Représentation des articulations de la main d'un patient touché par la PAR en comparaison à un sujet non atteint. (« Polyarthrite rhumatoïde et Micro-Immunothérapie » 2015)

Ces mécanismes conduisent à des douleurs articulaires ainsi qu'à une perte de fonction de l'articulation touchée.

c. Les auto-anticorps :

Des auto-anticorps (COFER, 2011) peuvent apparaître plusieurs années avant les premiers signes cliniques de la maladie.

✚ Le facteur rhumatoïde (FR) est une immunoglobuline ayant une activité anticorps dirigée contre les immunoglobulines G humaines ou animales. Au début de la maladie, la recherche du FR est positive dans 50 à 60 % des cas environ. La présence d'un taux significatif de facteur rhumatoïde dès le début de la maladie est un élément de mauvais pronostic.

✚ Les anticorps anti-peptides citrullinés. Il est assez utile pour le diagnostic de la maladie car lorsque son dosage est positif, il permet de prédire avec une spécificité supérieure à 95 % le diagnostic de polyarthrite rhumatoïde. Cependant, il peut être retrouvé positif dans d'autres maladies inflammatoires.

d. Facteurs de risque :

Chez les patients atteints de cette maladie auto-immune, on peut identifier des facteurs de prédisposition à la fois génétiques et environnementaux.

✚ Parmi les facteurs génétiques (Ayyoub 2017), certains allèles du CMH (Complexe majeur d'histocompatibilité) de classe 2 sont impliqués. En effet, on retrouve chez 70% des patients atteint de Polyarthrite Rhumatoïde l'allèle HLA-DR4, alors qu'il est retrouvé à hauteur de 28% dans la population générale.

De même, d'autres allèles HLA sont retrouvés chez les patients atteints de PR (HLA-DR1, HLA-DR10) et certains polymorphismes nucléotidiques (SNP, single-nucleotide polymorphism) en dehors du CMH sont aussi impliqués.

✚ Concernant les facteurs de risque environnementaux (Boissier, 2017), on retrouve le tabagisme. Ce facteur de risque devient même conséquent chez les personnes porteuses de l'allèle HLA-DR4.

L'âge et le sexe sont également des facteurs de risque car la maladie est plus fréquente chez les femmes et le pic d'apparition se situe vers 45 ans.

Enfin, de récentes recherches sur la flore intestinale montrent que des variations de sa composition chez les patients souffrant de PAR semblent jouer un rôle dans le développement ou l'évolution de la maladie.

e. Prise en charge et traitement :

Il n'existe pas de traitement spécifique de la PAR.

Les traitements (Vidal recos) utilisés lors de crises algiques sont des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) en première intention ou des corticoïdes à faible dose, en association avec des antalgiques (paracétamol +/- codéine).

En traitement de fond, suivant la gravité de la maladie, le méthotrexate sera utilisé en première intention, ou bien le léflunomide ou la sulfasalazine en cas de contre-indications.

En cas de polyarthrite demeurant actives, des traitements locaux sont associés, tels que des injections intra-articulaires de corticoïdes ou synoviorthèses. Le traitement de fond, lui, sera ajusté et le méthotrexate pourra être associé à des médicaments à base d'anticorps monoclonaux tels que les anti-TNF.

f. Rôle de la flore intestinale :

En conditions normales, les cellules présentent au sein de la lamina propria au niveau intestinal et jouant un rôle dans l'immunité acquise et innée coopèrent afin de maintenir l'homéostasie physiologique. Or dans la PAR, la production de lymphocytes T pro-inflammatoires et d'anticorps auto-réactifs augmentent ce qui semble participer activement au phénomène de genèse de l'arthrite chronique.

Au cours d'une étude (Scher et al. 2013), 114 échantillons de selles ont été analysés : 44 appartenant à des patients nouvellement diagnostiqués pour la PAR et non traités (NORA), 26 à des patients atteints de PAR chronique traitée (CRA), 16 à des patients atteints de rhumatisme psoriasique (PsA), et 28 à des témoins sains (HLT). Pour cela, le séquençage du gène 16S a été effectué sur les 114 échantillons.

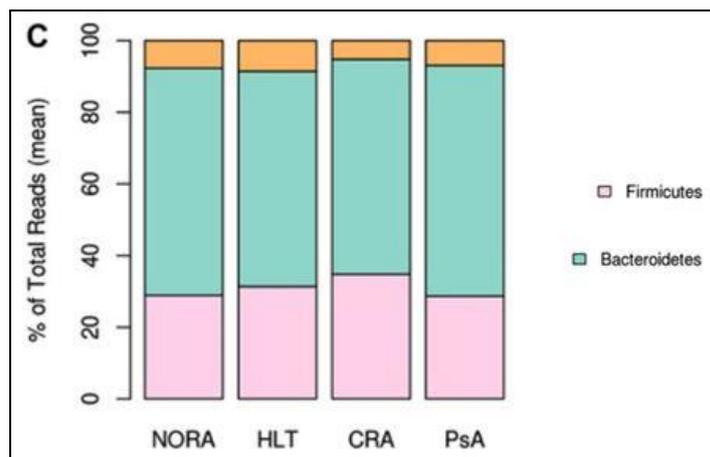


Figure 12 : Abondance relative des phyla de Firmicutes et Bacteroidetes dans 4 groupes de patients (NORA : PAR nouvellement diagnostiquée et non traitée, HLT : témoins sains, CRA : PAR chronique traitée, PsA : rhumatisme psoriasique). (Scher et al. 2013)

Contrairement à ce qui a pu être retrouvé dans d'autres maladies inflammatoires, l'analyse générale des différents phyla présents dans le microbiote fécal des 4 groupes de patients n'a pas montré de différences quantitatives significatives (Fig. 4), et notamment en ce qui concerne le rapport Bactéroïdètes / Firmicutes.

Une analyse plus précise a cependant mis en évidence la présence d'une abondance particulière chez les patients NORA, de bactéries de la famille Prevotellaceae (Fig. 5) associée à une diminution de bactéries de la famille Bacteroidaceae. Il semble donc y avoir une modification de la flore intestinale spécifique chez ces patients atteints de PAR native et non traitée.

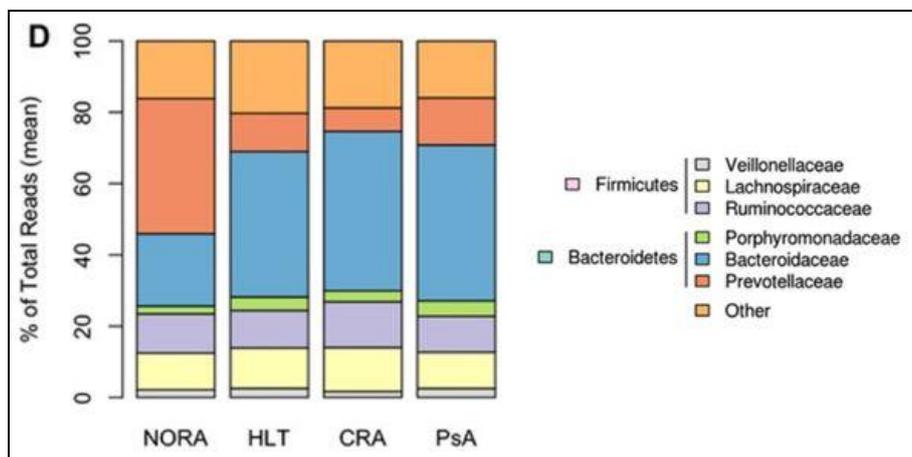


Figure 13 : Abondance relative des familles de Firmicutes et Bacteroidetes dans les 4 groupes de patients. (Scher et al. 2013)

Une analyse détaillée a permis d'identifier dans la famille Prevotellaceae, la bactérie *Prevotella copri* et de mesurer que 75% (33/44) des patients NORA et 21,4% (6/28) des témoins en bonne santé sont porteurs de *P. copri* dans leur microbiote intestinal, comparativement à 11,5% (3/26) et 37,5% (6/16) des patients CRA et PsA. La prévalence de

P. copri dans NORA par rapport à CRA, PsA, et les patients sains est statistiquement significative.

Exacerbation de colites par *P. copri* :

Enfin le rôle de *P. copri* sur la réponse inflammatoire a été recherché (Scher et al. 2013). Pour cela, des souris ont été traitées avec des antibiotiques puis colonisées avec la souche *P. copri* par gavage oral.

L'analyse ADN effectuée sur les selles de deux de ces souris 2 semaines après le gavage montre une colonisation dominante par *P. copri*. En comparaison avec les souris gavées avec le milieu seul sans *P. copri*, on observe chez les souris gavées avec *P. copri* une présence majeure de cette bactérie ainsi qu'une réduction de la famille Bacteroidaceae, comme ce qui avait été observé chez les patients humains (Fig.14).

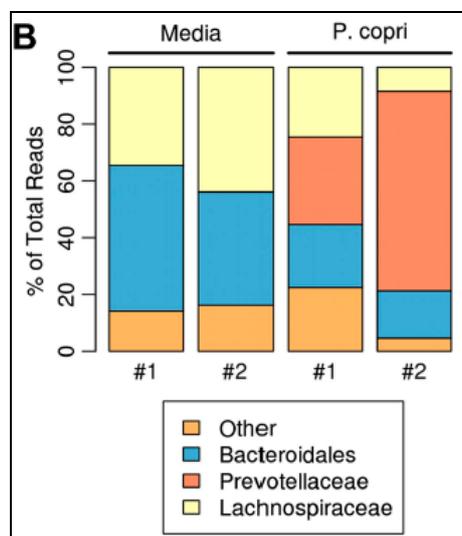


Figure 14 : Abondance relative des familles bactériennes entre les souris gavées avec le milieu seul et les souris gavées avec *P. copri*. (Scher et al. 2013)

Les souris ainsi obtenues ont été soumises à du Dextran Sulfate Sodium (DSS) dans le but d'induire une colite.

Les résultats ont montré une colite plus sévère chez les souris gavées par *P. copri* par rapport aux souris témoins, évalué par les critères suivants : une perte de poids accrue, un score endoscopique plus défavorable et une augmentation des dommages épithéliaux sur l'analyse histologique.

Cependant les différences de production de cellules et molécules pro-inflammatoires n'ont pas été significative entre les deux groupes.

Ainsi, une modification du microbiote chez la souris, avec surexpression de *P. copri* a tendance à stimuler la réponse inflammatoire dans le contexte d'un hôte génétiquement et immunologiquement sensible.

Cependant l'effet réel de *P. copri* sur la PAR n'a pas été clairement mis en évidence. L'hypothèse mise en avant est que la colonisation du microbiote par *P. copri* maintient un environnement pro-inflammatoire, d'autant plus que cette colonisation est associée à la

diminution des bactéries Bacteroidaceae, qui contribuent à un état anti-inflammatoire et à une production de lymphocytes Treg.

Il a donc été montré qu'un enrichissement en Prevotellacæ dans la PAR débutante par rapport aux autres groupes, et en particulier de l'espèce Prevotella copri, relativement peu représentée dans la population générale, ainsi qu'une raréfaction des Bacteroidales. Les expériences ont par ailleurs montré que P. copri pouvait exercer des effets pro-inflammatoires dans un modèle murin de colite.

Impact de P. copri sur les lymphocytes T CD4+ :

Une étude plus récente (Maeda et al. 2016) a permis de définir plus précisément le rôle de P. copri dans le développement de la PAR.

Cette étude a été effectuée sur 17 patients NORA et 14 patients sains qui font office de témoins.

Pour cette étude, des souris SKG axéniques ont été utilisées. Ces souris ont la capacité de développer spontanément une arthrite auto-immune chronique. Les essais ont tous été réalisés dans un environnement stérile.

Il a été inoculé à 3 souris SKG axéniques des selles de patients sains (HC-SKG), et à 3 souris axéniques des selles de patients atteints de PAR à un stade débutant (RA-SKG).

L'analyse du microbiote fécal des souris RA-SKG par séquençage (Fig. 15) a dévoilé que l'abondance des Prevotellaceae était de 25% à 20 semaines post-colonisation, niveau comparable à celui des patients humains atteints de PAR. De plus, 80% de ces bactéries Prevotellaceae ont pu être identifiées comme étant des P. copri.

De même, le taux de bactéries Bacteroidaceae chez les souris HC-SKG était similaire à celui des patients humains sains.

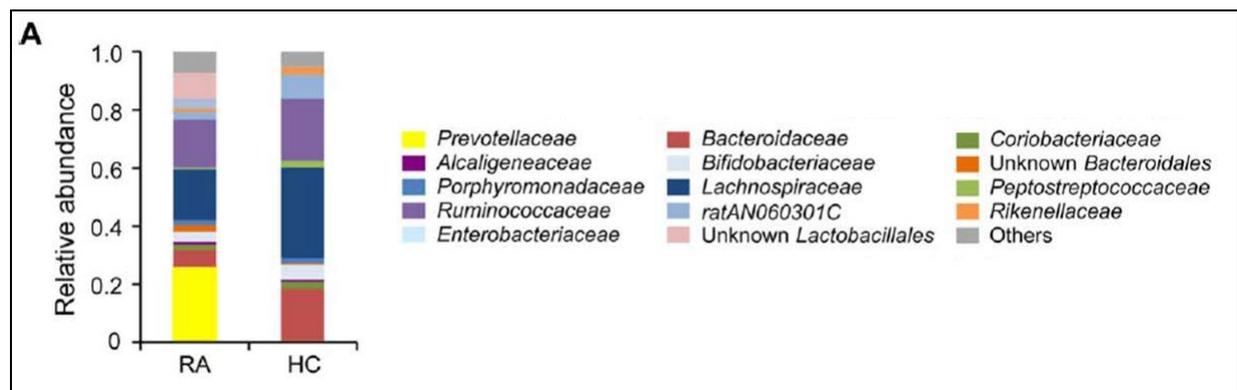


Figure 15 : Composition bactérienne des microbiotes fécaux des souris RA-SKG et HC-SKG. (Maeda et al. 2016)

Ces résultats nous montrent donc que le microbiote fécal des patients atteints de PR et des patients sains a été correctement reproduit chez les souris SKG.

L'intensité de l'arthrite développée au bout de 20 semaines a été évaluée dans les 2 groupes et aucune différence significative n'a été mise en évidence.

Les populations de cellules immunitaires présentes 20 semaines après la colonisation avec le microbiote fécal ont ensuite été analysées, grâce à la cytométrie de flux.

Il est alors apparu que le nombre total de lymphocytes T CD4⁺ et le nombre de lymphocytes T CD4⁺ produisant de l'IL-17 dans le gros intestin sont augmentés chez les souris RA-SKG par rapport aux souris HC-SKG (Fig. 16).

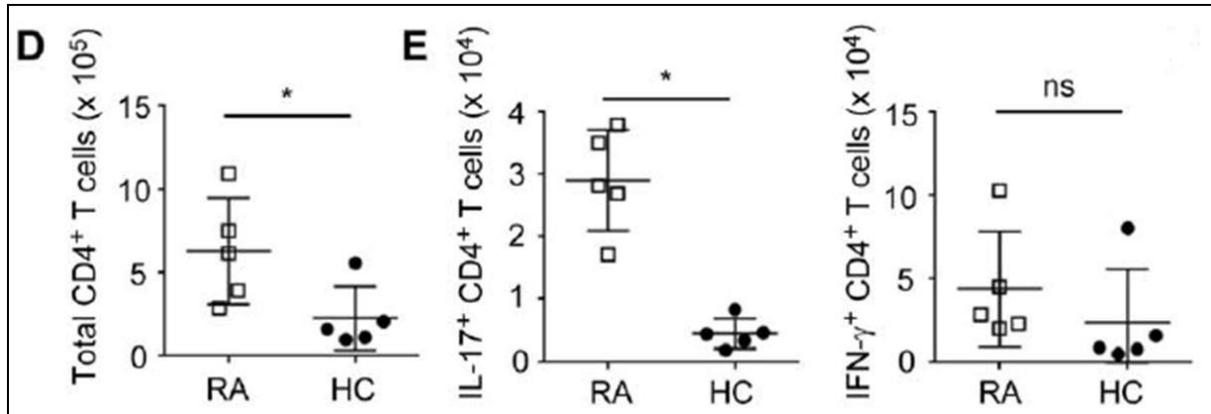


Figure 16 : Comparaison du nombre de lymphocytes T CD4⁺ retrouvés dans le gros intestin de souris RA ou HC. (Maeda et al. 2016)

Cependant le nombre de Lymphocytes T CD4⁺ produisant de l'IFNγ⁺ ou FoxP3⁺ (Treg) est sensiblement identique entre les deux populations de souris dans l'intestin et dans la rate.

Ces résultats indiquent donc que le microbiote de patient atteint de PAR ne provoque pas de développement spontané de l'arthrite chez les souris après 20 semaines, mais qu'il a le potentiel d'augmenter le nombre de cellules Th17, et notamment productrices d'IL-17, dans le gros intestin.

Développement d'une arthrite sévère :

Le zymosan injecté à fortes doses à des souris SKG a la capacité d'induire une arthrite sévère.

Une injection de dose faible de Zymosan (Maeda et al. 2016) a été faite à souris colonisées depuis 5 semaines par les microbiotes RA ou HC.

Pendant les 8 semaines après l'injection, il a été observé le gonflement des articulations dans tous les doigts, les poignets et les chevilles (Fig. 17). Il est apparu que les souris RA-SKG souffraient de gonflements sévères des articulations, et présentaient même une hypertrophie marquée des ganglions lymphatiques poplités.

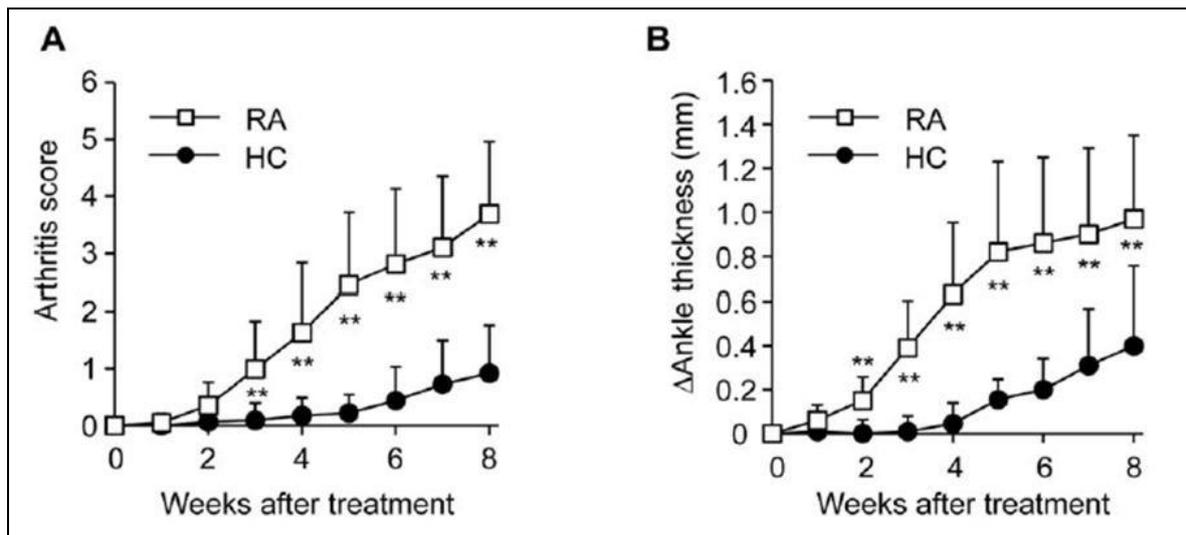


Figure 17 : Comparaison du score d'arthrite et du gonflement des chevilles entre les souris RA et HC pendant les 8 semaines suivant l'injection de zymosan. (Maeda et al. 2016)

L'analyse histologique des articulations de la cheville a montré que les souris RA-SKG présentaient une synovite sévère ainsi qu'une destruction du cartilage et érosion de l'os accrue par rapport aux souris témoins HC-SKG.

De plus, les souris RA-SKG ont développé des taux importants de facteur rhumatoïde par rapport aux souris témoins HC-SKG.

Les recherches ont aussi montré que 8 semaines après l'injection de Zymosan, le nombre de lymphocytes T CD4⁺ et le nombre de lymphocytes T CD4⁺ produisant de l'IL-17 dans le gros intestin et les ganglions lymphatiques poplités ont sévèrement augmenté chez les souris RA-SKG.

Pour évaluer le rôle de *Prevotella* dans le développement de cette arthrite sévère, des souris SKG qui ont reçu un microbiote de patients également atteints de PAR mais sans surexpression de *Prevotella* ont reçu le même traitement.

Après injection de Zymosan, ces souris n'ont pas développé d'arthrite sévère en comparaison aux résultats précédents.

Cela nous montre que les bactéries de la famille *Prevotellaceae* ont donc un rôle certain dans le développement sévère de l'arthrite.

Activation de lymphocytes T auto-réactifs :

Les lymphocytes T de souris (Maeda et al. 2016) ont été isolés des ganglions lymphatiques régionaux, du côlon, de l'intestin grêle et de la rate, 4 semaines après la colonisation par les microbiotes humains. Ces cellules ont été mises en culture et exposées à l'auto-antigène lié au développement d'une arthrite : RPL23A ou à une protéine contrôle. La production d'IL-17 et d'INF gamma a été analysée.

L'étude des lymphocytes des ganglions lymphatiques régionaux et du côlon des souris RA-SKG avec une prédominance de *P. copri* montre une augmentation de la production d'IL-17 en réponse à l'auto-antigène RPL23A en comparaison aux souris HC-SKG. Les lymphocytes issus de souris SKG axéniques ne montrent aucune réponse à RPL23A.

Cela nous montre que la réponse induite par l'auto-antigène RPL23A dans les ganglions lymphatiques régionaux et le côlon est dépendante du microbiote RA. De plus, des cellules T naïves de souris SKG cultivées avec des cellules dendritiques stimulées par *P. copri* ont produit de l'IL-17 en réponse à RPL23A qui a rapidement provoqué le développement d'une arthrite.

D'après ces résultats nous pouvons observer que la dysbiose, retrouvée chez certains patients atteints de polyarthrite rhumatoïde, se présente comme une augmentation du nombre de bactéries du genre *Prevotella* et notamment de la souche *P. copri*, associée à une diminution des bactéries *Bacteroidales*. Les *Prevotella* possèdent des propriétés pro-inflammatoires et augmentent l'activation des lymphocytes CD4⁺ TH17 dans l'intestin.

Lorsque les espèces de *Prevotella* sont dominantes dans l'intestin, celui-ci est le point de départ de l'activation de cellules T auto-réactives qui deviennent réactives à des auto-antigènes par l'intermédiaire du système immunitaire inné et qui vont induire des inflammations des articulations.

Nous pouvons donc conclure que la dysbiose semble être un facteur environnant qui déclenche le développement de l'arthrite chez les souris génétiquement prédisposées.

Ces données récentes devront être approfondies et elles pourraient permettre la mise au point de nouvelles stratégies thérapeutiques ayant pour but de corriger cette dysbiose à prédominance de *P. copri*.

C. Les troubles du spectre de l'autisme :

Les troubles du spectre de l'autisme (TSA) résultent d'anomalies du neurodéveloppement. Ils apparaissent précocement au cours de la petite enfance et persistent à l'âge adulte.

Ces troubles se manifestent par des altérations des interactions sociales, des problèmes de communication (langage et communication non verbale), des troubles du comportement correspondant à un répertoire d'intérêts et d'activités restreint, stéréotypé et répétitif et des réactions sensorielles inhabituelles.

En plus de ces troubles, la majorité des personnes atteintes de TSA développent fréquemment des anomalies gastro-intestinales. Les symptômes gastro-intestinaux les plus couramment retrouvés sont la constipation, la diarrhée, l'inconfort abdominal, les ballonnements, les gaz et la distension.

L'origine semble multifactorielle avec une part génétique importante. Il pourrait y avoir une part de facteurs environnementaux, notamment d'exposition de la mère lors de la grossesse.

1. Epidémiologie :

Les TSA concernent aujourd'hui en France 700 000 personnes, dont 100 000 ont moins de 20 ans. L'âge de début de la maladie se situe entre 18 et 36 mois.

Les garçons sont plus touchés, avec un rapport de 3 hommes pour 1 femme.

2. Prise en charge :

La prise en charge des enfants souffrants de TSA doit être multidisciplinaire et individualisée avec un suivi à long terme.

Il n'existe pas de traitement médicamenteux spécifique des TSA.

3. Rôle de la flore intestinale :

Le rôle de la flore intestinale dans l'autisme a été suggéré par le fait que les enfants souffrants de TSA ont souvent des troubles digestifs associés à leurs troubles du comportement. De plus, ceux-ci sont corrélés avec la sévérité des TSA.

Une étude (Sandler et al. 2000) réalisée chez quelques enfants atteints d'autisme régressif a révélé qu'un traitement de 8 semaines par vancomycine par voie orale (antibiotique non absorbable) entraîne des améliorations majeures à la fois des symptômes gastro-intestinaux et des symptômes de TSA. Ces effets n'ont été maintenus que quelques semaines après l'arrêt du traitement antibiotique.

Ce résultat suggère la contribution de la flore intestinale dans la sévérité des anomalies comportementales de l'autisme.

Une autre étude (Desbonnet et al. 2014) a été réalisée pour évaluer les comportements de souris axéniques, en comparaison à des souris contrôles élevées de manière conventionnelle. Dans le test de la transmission sociale de la préférence alimentaire, les souris axéniques passent moins de temps à enquêter sur la société et consacrent beaucoup plus de temps à des comportements répétitifs d'auto-toiletage pendant les interactions sociales. Ces comportements ont été normalisés suite à la colonisation bactérienne de ces souris, confirmant l'implication du microbiote dans la modulation de ces comportements. Le microbiote semble donc crucial pour la programmation et la présentation de comportements sociaux normaux, y compris la motivation sociale et la préférence pour la nouveauté sociale, tout en étant des régulateurs importants des comportements répétitifs.

L'étude du microbiote d'enfants souffrants d'autisme (Tomova et al. 2015) montre une augmentation de la diversité bactérienne. De plus, il est observé une modification de la proportion des phyla dominants et notamment du rapport Bacteroidetes/Firmicutes, avec une diminution des Bacteroidetes et une augmentation des Firmicutes.

Plusieurs genres bactériens ont été retrouvés en proportions inhabituelles dans la flore des enfants atteints de TSA, tels que les *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridia* et *Desulfovibro*.

La présence d'une dysbiose au sein du microbiote des enfants souffrants de TSA est avérée, mais il n'a pour le moment pas été possible de déterminer une signature bien définie, avec une ou plusieurs espèces bactériennes modifiées de manière spécifique.

Pour cela, il serait peut être nécessaire de différencier les types de TSA, et de prendre notamment en compte des éléments tels que la gravité des symptômes, les comorbidités, les habitudes de vie, mais également la présence ou non de troubles gastro-intestinaux.

De plus, il a été observé que la dysbiose retrouvée chez les enfants atteints de TSA entraîne (Vuong et Hsiao 2017) une diminution de la production d'AGCC et semble augmenter la perméabilité intestinale. De plus, il a été observé chez les patients souffrants de TSA une quantité élevée de cytokines pro-inflammatoires, comme IL-6, INF-gamma ou TNF-alpha.

4. Les probiotiques chez la souris :

Pour évaluer l'impact de la souche probiotique *B. fragilis* sur les comportements associés aux TSA, une modélisation de certaines des caractéristiques comportementales des TSA a été réalisée dans un modèle de souris (Hsiao et al. 2013).

Le modèle d'activation immunitaire maternel (MIA) a été utilisé. Il est basé sur plusieurs études épidémiologiques reliant l'infection maternelle à un risque accru d'autisme chez les descendants.

Pour cela, il a été injecté à des souris enceintes le mime viral Poly (I:C), capable de provoquer une réponse immunitaire en simulant une infection virale. Cela a pour conséquence de donner des progénitures qui présentent les principales déficiences communicatives et sociales retrouvées chez les enfants souffrants de TSA.

L'étude du microbiote de ces progénitures MIA a permis de montrer que l'on retrouve des changements de la flore semblables à ceux décrits chez des individus ayant des TSA.

Dans un premier temps, il est observé chez ces souris un déficit significatif de l'intégrité de la barrière intestinale et des profils anormaux de cytokines intestinales. Le traitement des progénitures MIA par la souche probiotique *B. fragilis* restaure les défauts dans l'intégrité de la barrière gastro-intestinale et corrige les altérations des jonctions serrées pour rétablir la perméabilité intestinale et l'expression des cytokines.

Différents tests comportementaux ont été effectués chez les souris avant et après le traitement par la souche probiotique *B. fragilis*.

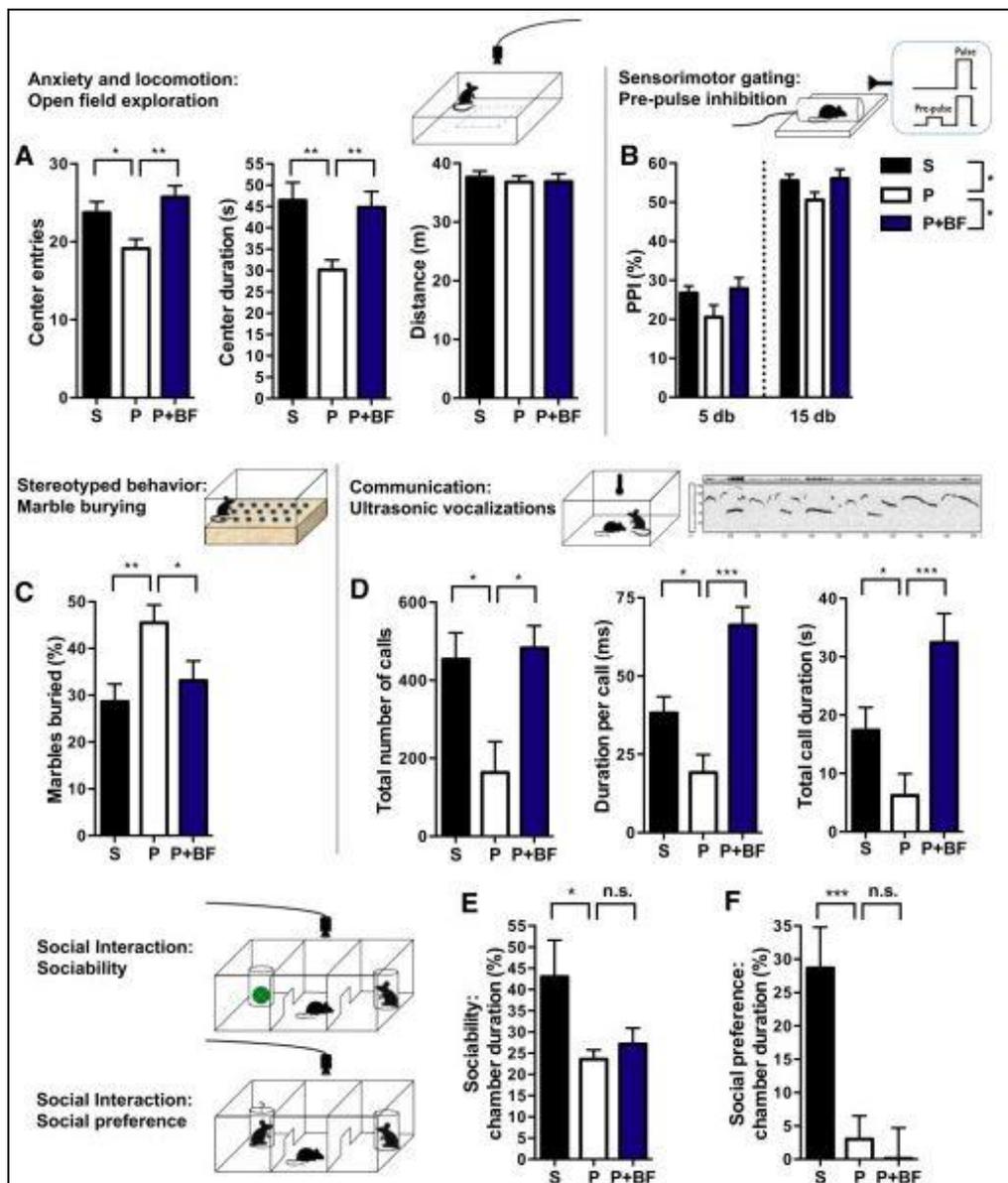


Figure 18 : Tests comportementaux chez la progéniture MIA. S = solution saline + véhicule, P = poly (I: C) + véhicule, P + BF = poly (I: C) + *B. fragilis*. (Hsiao et al. 2013)

Le test en champ ouvert (Fig. 18A):

Le test en champ ouvert implique la cartographie du mouvement d'un animal dans une arène ouverte pour mesurer ses déplacements et son anxiété.

La progéniture MIA a diminué les entrées et le temps passé au centre de l'arène, ce qui indique un comportement semblable à celui de l'anxiété.

La progéniture MIA traitée par *B. fragilis* ne présente pas de comportement anxieux en plein champ, comme le montre la restauration du nombre d'entrées et de la durée passée au centre de l'arène.

Prepulse inhibition (Fig. 18B) :

Le test de prepulse inhibition mesure la capacité d'un animal à inhiber son effarement en réponse à un tonus acoustique (impulsion) lorsqu'il est précédé d'un stimulus de faible intensité (pré-impulsion). Cela permet de mesurer le comportement sensorimoteur, dont les facultés sont affaiblies dans plusieurs troubles tels que l'autisme.

La progéniture MIA a diminué le score en réponse à 5 ou 15 db d'impulsions.

Le traitement par *B. fragilis* améliore le déclenchement sensorimoteur chez la progéniture MIA, comme indiqué par un score augmenté en réponse à 5 et 15 db d'impulsions.

Le test d'enfouissement (Fig. 18C) :

Le test d'enfouissement mesure la capacité des souris à s'engager de façon répétitive dans un comportement naturel d'excavation et permet de mesurer l'anxiété.

Chez la progéniture MIA on observe une augmentation de l'enterrement de marbre stéréotypé par rapport aux contrôles.

Les souris traitées par *B. fragilis* présentent des niveaux réduits d'enterrement de marbre stéréotypé et un comportement communicatif rétabli.

Les vocalisations par ultrasons (Fig. 18D) :

Les vocalisations par ultrasons sont utilisées pour mesurer la communication des souris, chez lesquelles des appels de types et de motifs variables sont produits dans différents paradigmes sociaux.

La progéniture MIA présente des déficits dans la communication, comme indiqué par le nombre et la durée réduits des vocalisations ultrasoniques produites en réponse à une rencontre sociale.

Le traitement par *B. fragilis* augmente la durée par appel de la progéniture MIA à des niveaux dépassant ceux observés dans les témoins. Malgré la normalisation du nombre d'appels, il existe une différence qualitative entre les types d'appels générés, avec un enrichissement de syllabes plus longues.

Test des 3 chambres (Fig. 18E et F) :

Enfin, le test social des trois chambres est utilisé pour mesurer les déficiences liées aux TSA dans l'interaction sociale, la sociabilité et la préférence sociale.

La progéniture MIA présente des déficiences dans la sociabilité ou la préférence pour interagir avec une nouvelle souris plutôt qu'un nouvel objet, et dans la préférence pour interagir avec une souris inconnue plutôt qu'une familière.

Le traitement par *B. fragilis* n'entraîne pas de modification significative dans le comportement des souris MIA.

Dans l'ensemble, la progéniture MIA présente un certain nombre d'anomalies comportementales associées aux TSA, ainsi que d'autres anomalies, telles que l'anxiété et des troubles sensorimoteurs.

Bien que la progéniture MIA traitée par *B. fragilis* présente un comportement communicatif, répétitif, anxiogène et sensori-motrice amélioré, elle conserve des déficits de sociabilité et de préférence sociale. Ces données suggèrent qu'il peut y avoir des différences dans les circuits qui régissent le comportement social par rapport aux autres comportements et que le traitement de *B. fragilis* pourrait moduler des circuits spécifiques.

Ces résultats d'études, chez la souris présentant des anomalies comportementales associées aux TSA, semblent prometteurs et des études chez l'homme sont maintenant nécessaires pour confirmer ces effets.

Nous venons de présenter différentes pathologies dans lesquelles l'altération du microbiote intestinal semble liée au développement de la maladie.

Dans la prochaine partie, nous traiterons de la capacité de la flore intestinale à être une cible thérapeutique dans les cas où les traitements conventionnels ne sont pas efficaces.

Actuellement, les possibilités pour restaurer le microbiote sont représentées par les probiotiques. Il est donc important de se pencher dans un premier temps plus en détail sur ce que sont les probiotiques, ainsi que leurs usages actuels. Puis, nous parlerons de leurs usages de demain.

Nous aborderons aussi une autre technique qui vise à restaurer l'équilibre de la flore intestinale : la transplantation de microbiote intestinal.

PARTIE 3

Usage actuel des probiotiques **et nouvelles stratégies thérapeutiques**

I. Les probiotiques :

A. Définition :

1. Historique :

Le principe décrivant que les bactéries lactiques offraient des bénéfices pour la santé a été défini par le Russe Elie Metchnikoff, prix Nobel de médecine en 1908 (Guarner et al. 2011). Il disait à l'époque que "la dépendance des microbes intestinaux vis-à-vis des aliments rend possible l'adoption de mesures pour modifier la flore dans nos corps et remplacer les microbes dangereux par des microbes utiles". Il a développé un régime alimentaire à base de lait fermenté par une bactérie qu'il appela le bacille bulgare.

La première bifidobactérie a été isolée par un membre de l'institut Pasteur : Henry Tissier chez un enfant en bonne santé nourri au sein. Il la nomma *Bacillus bifidus communis* (maintenant nommée *Bifidobacterium bifidum*) et recommanda de l'administrer aux nourrissons souffrant de diarrhées. En 1917, une souche non pathogène d'*Escherichia coli* a été isolée par le professeur allemand Alfred Nissle à partir de selles d'un soldat qui n'avait pas développé d'entérocolite lors d'une épidémie sévère de shigellose.

Le terme "probiotique" a vu le jour en 1965 par opposition aux antibiotiques. Il a été défini par Lilly et Stillwell comme des facteurs dérivés des micro-organismes et stimulant la croissance des autres micro-organismes.

Le préfixe « pro » signifie pour et le suffixe « -biotique » signifie la vie. Probiotique signifie donc en faveur de la vie.

2. Définition actuelle :

Les probiotiques sont définis comme des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte.

Ils peuvent être composés de bactéries ou de levures. Même s'ils ont en commun d'être des microorganismes non pathogènes, les probiotiques diffèrent considérablement les uns des autres. En effet par exemple sur un arbre phylogénétique, la distance qui sépare la levure *Saccharomyces* d'une bifidobactérie est considérablement supérieure à celle qui sépare un homme d'une grenouille.

Une souche probiotique (Guarner et al. 2011) est identifiée par son genre, son espèce, et par des caractères alphanumériques. Dans la communauté scientifique, il existe une nomenclature reconnue et acceptée pour les micro-organismes. Par exemple, pour la souche *Lactobacillus rhamnosus* GG :

- Le genre : *Lactobacillus*
- L'espèce : *rhamnosus*
- La désignation de la souche : GG

Il n'y a pas de définition légale du terme « probiotique » mais il existe des critères minimums pour être considérés comme probiotique :

✚ Spécifié selon le genre et la souche. En effet, les recherches sur des souches spécifiques de probiotiques ne peuvent pas être appliquées à tout produit commercial étiqueté comme probiotique. L'effet escompté est spécifique de la souche étudiée.

✚ La souche doit être retrouvée vivante dans le produit.

Peu de travaux ont comparé de manière rigoureuse les effets de bactéries vivantes par rapport à ceux des bactéries tuées. Il semble que certains effets de préparations bactériennes puissent être dus à leurs métabolites et/ou à leur ADN, cependant, d'autres effets ne sont observés qu'avec des micro-organismes vivants. De plus, il a été observé que la non-survie de la souche dans le tube digestif n'implique pas nécessairement l'absence d'effets bénéfiques.

✚ Conditionné à un dosage approprié jusqu'à sa date de péremption (avec une variabilité minimale d'un lot à l'autre).

Les dosages sont exprimés en UFC/dose c'est-à-dire unité formant colonie. Les micro-organismes étudiés pour leurs propriétés probiotiques étant très différents les uns des autres et leurs principes actifs précis non établis, il n'est pas possible de comparer les doses d'un produit à un autre ni de définir des doses universellement nécessaires pour espérer un effet. Selon la souche, les quantités nécessaires pour se montrer efficace peuvent varier de 100 millions UFC pour une souche à 300 billions UFC pour une autre.

✚ Démontré efficace dans des études contrôlées sur l'humain.

Des essais cliniques randomisés en double aveugle contre placebo sont réalisés pour évaluer l'efficacité d'une souche précise face à une pathologie.

✚ Démontré sûr pour l'usage prévu.

Les probiotiques sont utilisés depuis un certain temps et leur sûreté semble établie. Certaines populations semblent quand même plus à risque ce qui nécessite des précautions d'emploi.

3. Mécanismes d'action :

Les mécanismes d'action des probiotiques sont complexes, souvent multiples et dépendent de la souche bactérienne considérée. Les principes actifs des probiotiques et les détails moléculaires des interactions hôte-flore sont encore mal connus (Guarner et al. 2011). Certains de leurs effets peuvent être directs sur le chyme, la flore ou la muqueuse intestinale, mais ils peuvent aussi avoir des effets indirects liés à des modifications de l'écosystème ou du système immunitaire local.

- Effets immunomodulateurs :

- Activation des macrophages : Des études ont montré que les probiotiques entraînent l'activation des macrophages retrouvés localement au niveau de l'intestin. Les macrophages vont permettre la mise en place d'une réponse non spécifique grâce à leur activité phagocytaire et vont également augmenter la présentation des antigènes aux lymphocytes B entraînant la production d'immunoglobulines sécrétatoires A (IgA) à la fois sur un plan local et systémique.

- Modulation du profil des cytokines : Les probiotiques semblent interagir avec les récepteurs TLRs pour entraîner un effet immunomodulateur.

Les signaux microbiens (PAMPs) identifiés jusqu'ici et reconnus par les cellules de l'hôte incluent des peptides formylés, des lipopolysaccharides, des peptidoglycane qui sont des composants de la paroi cellulaire et des nucléotides : oligodésoxyribonucléotides CpG.

Le TLR4 est un récepteur du lipopolysaccharide (LPS), composant majeur des parois de bactéries gram (-), le TLR2 reconnaît le peptidoglycane des bactéries gram (+), le TLR3 reconnaît l'ARN double brin, le TLR5 reconnaît la flagelline et le TLR9 reconnaît l'ADN bactérien (motifs CpG non méthylés).

Les probiotiques in vitro stimulent la sécrétion de cytokines, en activant la réponse de type Th1, par les cellules immunitaires, avec des effets dépendants des souches.

Des études in vitro ont montré que la mise en contact de cultures de cellules épithéliales avec un *Escherichia coli* humain non pathogène et des lactobacilles appartenant à la flore commensale humaine induit la production de cytokines telles que le TGF- β (anti-inflammatoire). En revanche, une stimulation des mêmes cellules par des souches d'*Escherichia coli* entéro-pathogènes induit la production de cytokines pro-inflammatoires et se traduit par une inflammation.

De plus, des souches non virulentes de *Salmonella* sont capables après leur reconnaissance d'exercer un effet anti-inflammatoire en bloquant la voie de signalisation NF- κ B de cellules épithéliales.

La reconnaissance de l'ADN bactérien par les récepteurs TLR a été bien décrite. L'ADN bactérien contient des dinucléotides CpG non-méthylés présentant des propriétés immunostimulatrices. Ce motif CpG non-méthylé active l'immunité innée via le TLR9 et s'avère efficace dans le traitement de différents modèles de colite chez les souris, en réduisant les taux d'IL-1 β et de TNF- α au niveau de la muqueuse colique.

Des résultats similaires ont été obtenus avec l'ADN bactérien du cocktail probiotique VSL#3 (mélange de 8 bactéries lactiques) montrant l'implication des TLR et plus particulièrement du TLR9 dans l'effet anti-inflammatoire de ces probiotiques dans les colites chez les souris.

Quelques études se sont intéressées à la reconnaissance des probiotiques par les cellules dendritiques via leurs récepteurs TLR. Cette reconnaissance va activer les cellules dendritiques qui vont orienter selon le germe reconnu une réponse cellulaire T effectrice ou régulatrice.

- Effets non immunologiques positifs :

- ✚ Digestion de la nourriture et compétition avec les pathogènes pour les nutriments.
- ✚ Modification du pH local de manière à créer un environnement défavorable aux pathogènes, notamment par la synthèse de molécules acides.
- ✚ Production des bactériocines pour inhiber les pathogènes.
- ✚ Stimulation de la production de mucus par l'épithélium.

✚ Amélioration de la fonction de la barrière intestinale. Les probiotiques peuvent agir sur le maintien des jonctions serrées entre les entérocytes, et la colonisation transitoire permet de renforcer l'effet barrière de la flore commensale.

✚ Compétition pour l'adhésion avec les pathogènes.

4. Effets indésirables :

Les probiotiques peuvent être responsables d'effets indésirables potentiels (Doron et al. 2015).

- troubles gastro-intestinaux :

Des troubles gastro-intestinaux mineurs ont été reportés chez les personnes consommant des probiotiques tels que des crampes abdominales, nausées, diarrhées, flatulence, perturbation du goût. Ce sont des effets transitoires et majoritairement auto-résolutifs.

- risque infectieux :

L'évènement le plus souvent rapporté est une fongémie, avec 33 rapports qui décrivent la présence de *S. boulardii* dans des cultures de sang de patients ayant consommé le probiotique *S. boulardii*. 8 cas de bactériémies associées à des lactobacilles ont été rapportés, avec les souches *L. acidophilus*, *L. casei* et *L. GG*. De plus, des cas de sepsis, endocardite, abcès ont chacun été rapportés plusieurs fois.

Des études d'usage de probiotiques chez des patients ayant reçu une greffe d'organe et chez des personnes immunodéprimées ont été réalisées et ont montré l'absence de développement d'infection systémique.

Comme certains cas de bactériémies par lactobacilles se sont produits dans des milieux de soins intensifs avec des patients porteurs de cathéter veineux central, il convient que le personnel manipulant des probiotiques recoure à des mesures d'hygiène très importantes lors de la manipulation des produits.

Les cas d'infections plus ou moins graves restent anecdotiques par rapport à l'usage actuellement courant des probiotiques et il serait nécessaire d'effectuer d'autres études pour établir le lien entre la prise de probiotique, l'état du patient et le développement de l'infection.

- transfert de gènes :

Les bactéries lactiques possèdent des plasmides contenant des gènes qui confèrent des résistances à des antibiotiques tels que les tétracyclines ou les macrolides.

Malgré la possible théorie de transfert latéral de gènes entre un organisme probiotiques et un autre organisme dans l'intestin, une preuve clinique de transfert de résistance antimicrobienne n'a jamais été observée. Il s'agit quand même d'un élément particulièrement important à noter étant donné l'utilisation concomitamment des probiotiques avec des antibiotiques.

Dans la plupart des essais cliniques réalisés sur les souches de probiotiques, les conclusions ne font aucune référence à d'éventuels effets indésirables. De plus, l'utilisation courante sans effets néfastes depuis de nombreuses années et aussi bien dans les essais cliniques, chez les animaux et dans les études in vitro semble confirmer la sécurité de l'usage des probiotiques.

On estime quand même que certaines populations sont plus à risques de développer une infection lors de l'usage de probiotiques, comme les personnes immunodéprimées, les personnes porteuses de valves mécaniques ou ayant des altérations des valves cardiaques, les patients hospitalisés et notamment dans des services de soins intensifs, et les patients porteurs d'un cathéter veineux central. Chez ces populations particulières, il convient de prendre des précautions d'emploi lors d'un usage éventuel de probiotiques.

5. Survie des bactéries lactiques dans le tractus digestif :

La pharmacocinétique des souches de probiotiques et notamment leur capacité de survie dans l'intestin varie fortement d'un microorganisme à l'autre. Pour certaines bactéries, la survie jusque dans les selles atteint 30 %, alors que d'autres sont détruites dès leur séjour gastrique. Dans le tube digestif, différents facteurs physiques et chimiques locaux vont influencer la survie des micro-organismes ingérés (Baelde et al. 2005) :

- La sécrétion d'acide gastrique :

La sécrétion gastrique est le premier mécanisme de défense contre la majorité des micro-organismes ingérés. La résistance de certaines bactéries lactiques à l'acidité a été étudiée in vitro pour évaluer le pourcentage de survie des bactéries à la sortie du compartiment gastrique. La capacité de survie à l'acidité gastrique varie beaucoup selon genres et souches. L'hypothèse majeure expliquant la résistance de certaines souches vient de la différence de résistance de la paroi cellulaire.

- La motricité gastrique et intestinale :

La motricité gastrique et intestinale constitue un mécanisme de défense important de l'intestin et limite la colonisation bactérienne.

De plus, des perturbations dans le péristaltisme aboutissent à une colonisation bactérienne chronique de l'intestin grêle.

- La sécrétion de sels biliaires :

Les acides biliaires contenus dans la vésicule biliaire vont être sécrétés dans l'intestin lors de la digestion d'un repas. Les sels biliaires peuvent rapidement dissoudre les lipides membranaires et déclencher une dissociation des protéines intrinsèques de membrane, causant la fuite des contenus cellulaires et la mort bactérienne.

Il existe une différence dans la sensibilité aux sels biliaires entre les espèces bactériennes. De plus, plusieurs bactéries probiotiques d'origine intestinale comme les Bifidobactéries ont

développé des mécanismes pour résister à l'action détergente des sels biliaires et acquérir la capacité de les transformer par déconjugaison. En effet, les sels biliaires sont conjugués avec de la taurine ou de la glycine et vont être hydrolysés en résidus d'acides aminés et en sels biliaires libres. Cette activité enzymatique est effectuée par une enzyme, la Bile Salt Hydrolase ou cholyglycine hydrolase. La plupart des bactéries probiotiques peuvent posséder cette activité.

- La couche de mucus :

La surface épithéliale de l'intestin est essentielle pour l'absorption des substances nutritives et constitue également une barrière entre le corps et l'environnement externe qu'est la lumière intestinale. Tout au long du tractus intestinal, la couche de mucus agit comme une barrière vis-à-vis des micro-organismes étrangers. Les mucines présentes dans le mucus peuvent venir se fixer sur les micro-organismes pour les empêcher d'atteindre la surface. On retrouve également dans le mucus des IgA sécrétoires, des lysozymes et des défensines (peptides antimicrobiens notamment produits au niveau des cellules de Paneth).

- L'effet barrière de la flore commensale :

Il existe des compétitions entre les bactéries présentes au niveau digestif, à la fois pour les sites d'adhérence et pour les nutriments. La flore commensale exerce un effet de barrière vis-à-vis des micro-organismes en transit car ceux-ci ne vont pas s'implanter de façon définitive mais colonisent de manière transitoire le tube digestif. Il est intéressant de sélectionner les souches qui se maintiendront le plus longtemps.

Ces critères nous permettent de comprendre l'importance de la souche choisie, ainsi que du moyen d'administration de la souche c'est-à-dire de l'influence de l'aliment vecteur et de la forme pharmaceutique pour la réalisation de produits contenant des probiotiques.

La résistance des probiotiques à l'acidité, aux sels biliaires et à l'environnement digestif est très variable en fonction de la souche. La plupart des souches de Bifidobactéries et de Lactobacilles survivent bien pendant le transit intestinal et arrivent en grande quantité dans les fèces mais toutes n'ont pas cette capacité.

Par exemple, lors d'une administration de 10^{10} UFC/j de *L. rhamnosus* GG on retrouve en moyenne une concentration fécale de la souche de 10^6 UFC/g.

Les souches de *L. lactis* résistent quant à elles mal au transit et peu de bactéries sont récupérées : seulement 1% d'entre elles sont retrouvées au niveau de l'iléon et des fèces après ingestion.

Les souches utilisées dans les yaourts : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* meurent en grande quantité dans la partie haute du tube digestif et seulement 1% survivent au niveau iléal.

Des études ont montré que les probiotiques colonisent la muqueuse intestinale de manière transitoire et non de manière permanente. La plupart des souches persistent pendant la période de consommation voire quelques jours supplémentaires puis elles sont éliminées sans colonisation durable.

Une étude chez des volontaires sains à qui l'on a administré la souche *L. plantarum* 299v a montré une augmentation significative de cette bactérie dans les selles. La bactérie reste à un niveau constant lors d'un usage prolongé, mais dans la semaine qui a suivi l'arrêt elle diminue significativement jusqu'à revenir à un niveau identique à celui précédant la prise.

Une étude a évalué la persistance de la souche *L. rhamnosus* GG dans la muqueuse intestinale après une consommation orale. Après une administration pendant 12 jours, la souche a été détectée à la fois dans les fèces et dans les échantillons de biopsie colique réalisés.

Cette étude a montré que *L. rhamnosus* GG était capable de se fixer in vivo aux muqueuses du côlon et, bien que l'attachement soit temporaire, de rester pendant plus d'une semaine après l'arrêt de l'administration orale du probiotique. Il semble que la souche soit capable de se multiplier à la surface des cellules du côlon.

S. boulardii, lorsqu'il est administré par voie orale, atteint des concentrations à l'état d'équilibre dans les trois jours et est éliminé dans les 3-5 jours après son arrêt.

B. Usage actuel des probiotiques :

De nombreux probiotiques sont actuellement vendus en pharmacie, et conseillés pour différentes problématiques. La majorité des indications et allégations actuelles concernent des maladies en rapport avec le tube digestif. Les probiotiques peuvent être utilisés en prévention, en tant qu'adjuvant aux traitements allopathiques, ou en curatif.

Le point de départ qui suggère le rôle des probiotiques est que dans les différentes maladies pour lesquelles on les utilise, il a été observé une altération de la flore intestinale ou dysbiose. Il n'est pas possible de définir un bon profil de flore, en revanche, les flores de sujets sains et de certains sujets malades, notamment atteints d'affections intestinales, sont significativement différentes sans qu'il ne soit établi à ce jour si ces modifications sont antérieures ou postérieures au développement de la maladie.

De plus il y a un usage empirique des probiotiques qui a montré des effets positifs sur un certain nombre d'affections.

La majorité des probiotiques sur le marché sont composés de souches bactériennes telles que des lactobacilles, des bifidobactéries ou des lactococcus, mais on trouve également la levure *Saccharomyces boulardii*.

Exemple de 2 probiotiques vendus en pharmacie dont les souches sont bien connues et étudiées :



L'ultra levure® est un médicament présenté sous la forme de gélules ou de sachets à des dosages allant de 50 à 200 mg de *Saccharomyces boulardii*.

La levure *S. boulardii* (McFarland 2010) a été découverte par un microbiologiste français, Henri Boulard en 1920. Il se trouvait en Indochine lors d'une épidémie de choléra et a remarqué que certaines personnes ne développant pas le cholera buvaient un thé particulier préparé à partir de la peau de fruits tropicaux. Il en isola l'agent responsable qui était une nouvelle espèce de levure qu'il appela

Saccharomyces boulardii.

Le laboratoire Biocodex acheta le brevet de cette levure en 1947, et après plusieurs années de recherches lança la commercialisation de ce probiotique sous le nom Ultra levure®.

S. boulardii est une levure, ce qui la différencie des autres probiotiques qui sont des bactéries par sa structure, une taille plus grande, l'impossibilité d'acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques et sa capacité à ne pas être affectée par les antibiotiques.

Elle se développe à une température optimale de 37 degrés, est résistante aux pH faibles et tolère les acides biliaries. En revanche, contrairement aux bactéries, elle n'est pas retrouvée dans la flore commensale.

S. boulardii est le probiotique avec l'usage le plus ancien et le mieux connu, en effet plus d'une cinquantaine d'essais cliniques randomisés en double aveugle ont été réalisés à ce jour pour évaluer la sécurité et l'efficacité de *S. boulardii* chez les enfants et les adultes dans différentes indications.

Plusieurs mécanismes d'action ont été décrits pour *S. boulardii*. Elle agit notamment par l'inhibition de l'activité de produits bactériens pathogènes, par des effets trophiques sur la muqueuse intestinale, ou sur la modification des voies de signalisation de l'hôte :

✚ Activité au niveau de la lumière intestinale :

- effet contre les toxines de certaines bactéries : elle produit par exemple une protéase capable de cliver les toxines A et B de la bactérie *Clostridium difficile*, elle produit une protéine qui inhibe la toxine du choléra et une phosphatase qui inhibe le LPS de la bactérie *Escherichia coli*.

- activité antimicrobienne en préservant les jonctions serrées entre les entérocytes et en empêchant l'adhésion et la croissance de certaines bactéries.

- modulation de la flore intestinale, ce qui joue un rôle pour lutter contre les diarrhées dans les traitements antibiotiques.

- activité métabolique : sécrétion d'AGCC ce qui favorise le fonctionnement normal du côlon et a une action anti-inflammatoire locale.

✚ Action trophique :

- activité enzymatique : production de polyamines qui favorise la maturation des entérocytes et de disaccharides qui sont bénéfiques lors de diarrhées virales.
- augmentation de la production d'IgA sécrétoire au niveau de la lumière intestinale

✚ Action anti-inflammatoire sur la muqueuse de l'hôte :

S. boulardii inhibe la production de cytokines pro-inflammatoires en inhibant des régulateurs majeurs de l'inflammation tels que le facteur nucléaire NF- κ B et les protéines-kinases MAP-kinases, tout en stimulant la production de molécules anti-inflammatoires, comme le PPAR- γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-gamma).

BioGaia® est un complément alimentaire se présentant sous la forme de comprimés ou de gouttes composé de la souche bactérienne : *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 dosé à 10^8 UFC pour 5 gouttes ou 1 comprimé.

L. reuteri (Urbańska et al. 2014) est une bactérie lactique gram positif de la famille des Lactobacillaceae, présente de manière physiologique au niveau de la muqueuse gastrique, ainsi que dans la muqueuse duodénale et iléale.



L. reuteri produit la reuterin, une substance antibactérienne capable d'inhiber la croissance d'un large spectre de micro-organismes tel que des bactéries gram positif ou négatif, des levures, des champignons ou des parasites.

Cette souche semble également réguler la réponse immunitaire, en effet il a été observé qu'elle réduit significativement le niveau intestinal de cytokines pro-inflammatoire tels que IL-8, IL-1, INF- γ , TNF-alpha.

1. La diarrhée associée aux antibiotiques :

La diarrhée associée aux antibiotiques (DAA) est définie comme l'émission d'au moins trois selles très molles à liquides par 24 heures apparaissant de manière inexplicquée quelques jours après le début d'une antibiothérapie, mais peut apparaître jusqu'à six semaines après son arrêt.

Dans 5 à 20% des cas, selon la classe de l'antibiotique, la dysbiose induite par le traitement va être responsable d'une diarrhée.

Traitements :

Dans la majorité des cas, la diarrhée régresse à l'arrêt ou à la réduction du traitement antibiotique en quelques heures à quelques jours. Si la diarrhée ne cède pas spontanément en deux ou trois jours, des examens complémentaires seront effectués à la recherche de germes pathogènes.

La flore intestinale dans les DAA :

Tous les antibiotiques quel que soit la classe (sauf les aminosides) peuvent être responsables d'une dysbiose de la flore intestinale. Les antibiotiques les plus à risque semblent être les aminopenicillines, l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique, les céphalosporines et la clindamycine.

La voie d'administration de l'antibiotique va influencer l'impact sur la flore intestinale. En effet, la majorité des antibiotiques qui sont prescrits par voie orale sont actifs sur la flore intestinale, surtout s'ils sont peu absorbés. Pour les antibiotiques administrés par voie parentérale, seuls ceux ayant une élimination biliaire et/ou qui subissent un cycle entéro-hépatique vont avoir une action délétère sur la flore.

Les antibiotiques modifient l'écosystème bactérien en altérant la flore de barrière, ce qui favorise potentiellement la colonisation et l'expression du pouvoir pathogène de certains agents microbiens exogènes ou endogènes, comme nous l'avons vu avec *C. difficile*.

Le fait que l'équilibre initial se rétablisse dans la majorité des cas à l'arrêt de l'antibiothérapie, suggère que la croissance des bactéries de la flore de barrière est seulement transitoirement altérée ou que leur multiplication est seulement inhibée pendant le traitement antibiotique.

Une des conséquences de cette raréfaction des bactéries de la flore commensale va être la réduction de la production d'AGCC, conséquence d'une diminution des activités hydrolytiques et des processus de fermentation bactériens. Cet effet favorise la persistance de glucides dans le côlon et induit une diarrhée hydrique en raison de leur fort pouvoir osmotique.

Ces AGCC possèdent également des effets moteurs au niveau du côlon. À faibles concentrations, ils ont un effet contractile par un réflexe entérique de nature cholinergique.

Les probiotiques dans les DAA :

L'utilisation de probiotiques dans la prévention des diarrhées associées aux antibiotiques a été étudiée dans de nombreux travaux.

La souche la plus documentée est la levure *S. boulardii*. Plusieurs essais randomisés en double aveugle contre placebo ont été effectués pour évaluer l'efficacité de *S. boulardii* dans la prévention des DAA avec des dosages variables en probiotiques et des antibiotiques différents (Szajewska et al. 2005).

Les résultats de ces essais montrent une diminution significative dans la survenue de diarrhées dans les groupes qui associent les probiotiques à la prise d'antibiotique par rapport aux groupes placebo, à la fois chez les adultes et chez les enfants.

D'autres souches probiotiques de bifidobactéries ont été étudiées et ont montré qu'elles diminuent significativement la survenue de diarrhée associée aux antibiotiques telle que la souche *L. rhamnosus* GG dans la population pédiatrique (Vanderhoof et al. 1999).

La diarrhée associée aux antibiotiques est un effet indésirable majeur qui touche un grand nombre d'individus, certaines souches de probiotiques semblent pouvoir agir dans la prévention de ces effets et sont conseillées à l'officine en association d'un traitement antibiotique.

2. La diarrhée aiguë :

Une diarrhée est définie par l'émission d'au moins trois selles très molles à liquides par jour. Elle est dite aiguë lorsqu'elle évolue depuis moins de 14 jours.

Dans la majorité des cas, la diarrhée aiguë est de début soudain et précédée d'un transit normal. Elle est alors le plus souvent de nature infectieuse, la durée est généralement moins d'une semaine et ne récidive pas à court terme.

L'origine est le plus souvent infectieuse, surtout virale, bactérienne, ou parasitaire. Mais une cause médicamenteuse ou une intolérance alimentaire peuvent également en être la cause.

Traitements :

Dans la majorité des cas, la diarrhée cède spontanément en 1 à 3 jours. La réhydratation par voie orale est essentielle.

Les probiotiques dans la diarrhée aiguë :

Plusieurs souches et notamment les souches *L. reuteri* DSM 17938 (Urbańska et al. 2014) et *S. boulardii* (Szajewska et al. 2007) ont montré dans de nombreux essais une réduction significative de la durée de la diarrhée aiguë chez les enfants en association à une réhydratation orale.

Cas particulier : la diarrhée du voyageur :

La diarrhée aiguë du voyageur ou turista se définit comme la survenue lors d'un voyage à l'étranger d'au moins 3 selles liquides en moins de 24h ou d'au moins 2 en moins de 8h. Cette diarrhée est associée à au moins un des signes suivants : nausées, vomissements, douleurs abdominales, fièvre, selles glaireuses ou sanglantes.

Il s'agit généralement d'un épisode aigu bénin, spontanément résolutif en un à trois jours, mais qui peut être parfois grave. La diarrhée du voyageur est plus souvent liée à la consommation d'aliments solides contaminés que de boissons. La cause est le plus souvent infectieuse, d'origine bactérienne, virale ou parasitaire.

Chaque année, 12 millions de cas de diarrhée du voyageur sont rapportés dans le monde.

L'utilisation des probiotiques a une place primordiale dans la stratégie préventive des diarrhées du voyageur, en plus du rappel des mesures d'hygiène et des aliments à risques.

Certaines souches telles que *S. boulardii* (McFarland 2007) ont montré leur efficacité préventive et sont conseillées en traitement de fond à démarrer quelques jours avant le départ et à continuer pendant la durée du séjour.

3. Le syndrome du côlon irritable :

Le syndrome de l'intestin irritable (SII) appelé également colopathie fonctionnelle est un trouble fonctionnel intestinal dans lequel des douleurs abdominales et un inconfort digestif sont associés à des troubles du transit. L'inconfort se caractérise notamment par des ballonnements intestinaux, une distension abdominale et des flatulences.

Il s'agit d'une maladie chronique, sans gravité mais responsable d'une gêne dans la vie quotidienne importante.

Le diagnostic repose sur l'association de douleurs abdominales chroniques, de ballonnements et de troubles du transit d'une fréquence d'au moins 1 jour par semaine sur les 3 derniers mois et depuis au moins 6 mois, en l'absence d'une cause organique démontrable.

On dénombre plusieurs formes de syndrome du côlon irritable, que l'on définit selon les types de troubles du transit : avec diarrhée prédominante, avec constipation prédominante ou des formes mixtes avec une alternance de diarrhée et de constipation.

Traitements :

Il n'existe pas de traitement spécifique du syndrome du côlon irritable. Dans un premier temps, des mesures hygiéno-diététiques sont mises en place. En effet certains aliments peuvent déclencher des douleurs et doivent être évités.

Dans un second temps, un traitement médicamenteux symptomatique peut être prescrit.

La flore intestinale dans les SII :

Chez les personnes souffrant du syndrome du côlon irritable, l'étude (Salonen, de Vos et al. 2010) de la flore intestinale en comparaison à des sujets sains a montré une diminution quantitative importante. On trouve notamment une augmentation du nombre de bactéries facultatives telles que des Streptococcus, E. coli et Proteus avec une dominance des espèces du genre Clostridium alors qu'il y a une diminution significative des Lactobacilles et des Bifidobactéries.

On note notamment la diminution quantitative d'une bactérie présente de façon majoritaire dans la flore commensale saine : F. prausnitzii.

Les probiotiques dans le SII :

Certaines souches probiotiques ont montré des effets positifs pour lutter contre les douleurs abdominales et les troubles digestifs liés au syndrome de l'intestin irritable comme B. infantis (Whorwell et al. 2006) ou l'association des souches L. plantatum et B. breve (Saggioro 2004).

Le syndrome de l'intestin irritable est un problème courant qui n'a pas de traitement spécifique et pour lequel les patients sont à la recherche de conseils en officine. En plus des conseils alimentaires et des traitements symptomatiques, plusieurs compléments alimentaires à base de probiotiques sont disponibles et peuvent être conseillés pour améliorer le confort digestif.

4. La constipation :

Selon les critères de Rome II, une personne est sujette à une constipation chronique si pendant 12 semaines au moins, au cours des 12 derniers mois, elle présente au moins 2 des 4 caractéristiques suivantes :

- moins de 3 évacuations de selles par semaine,
- selles dures (plus de 25 % des cas) avec sentiment d'évacuation incomplète (plus de 25 % des cas),
- effort excessif (plus de 25 % des cas),
- nécessité de manipulation digitale pour aider l'évacuation.

L'absence de cause organique comme une sténose digestive, une obstruction, une affection péritonéale par exemples, permet de définir la constipation fonctionnelle.

Traitement :

Dans un premier temps, mise en place de règles hygiéno-diététiques et arrêt des médicaments pouvant occasionner une constipation secondaire. Par exemple, augmentation de l'apport quotidien en fibres par une supplémentation diététique ou pharmaceutique de manière progressive jusqu'à atteindre la dose efficace et hydratation journalière suffisante par des eaux riches en minéraux surtout en magnésium avec un effet laxatif significatif.

Les traitements médicamenteux de première intention sont les laxatifs osmotiques (macrogol ou lactulose) pour leur efficacité et leur bonne tolérance, ils vont agir par augmentation de l'hydratation des selles. Les laxatifs de lest (ispaghul, psyllium) peuvent aussi être utilisés en première intention, ils augmentent la teneur des selles en fibres et composants non digestibles.

La flore intestinale dans la constipation :

Des données montrent des différences dans le microbiote intestinal entre les personnes saines et les personnes avec des constipations chroniques. Les principales caractéristiques sont une augmentation du nombre de Clostridia et de Bifidobacteria.

Les probiotiques diminuent le pH du côlon, dû à la production par les bactéries d'AGCC. Un pH plus faible améliore le péristaltisme du côlon et pourrait ainsi diminuer le temps de transit dans le côlon.

Les probiotiques dans la constipation :

Plusieurs souches de probiotiques ont été étudiées et semblent efficaces dans la constipation chronique de l'adulte en améliorant la fréquence et la consistance des selles comme la souche *L. casei* Shirota ou *B. lactis* DN-173010 (Chmielewska et Szajewska 2010).

La constipation est un problème majeur qui peut être traitée au long cours mais des alternatives plus douces tels que les probiotiques sont intéressantes et peuvent être conseillées en pharmacie.

5. La colique du nourrisson :

La colique du nourrisson se définit comme la survenue paroxystique chez un petit nourrisson, de pleurs prolongés avec plus de 3 heures de pleurs par jour, pendant plus de 3 jours par semaine et durant plus de 3 semaines, associé à des phases d'agitation, dont la cause est inconnue.

La colique est totalement bénigne et disparaît spontanément en quelques mois mais suscite l'inquiétude des parents.

Traitements :

Information des parents sur le caractère bénin de ce problème et de sa résolution spontanée en 3 à 4 mois.

La prise en charge consiste principalement en des conseils pour calmer le nourrisson :

- pendre le bébé dans les bras, l'utilisation d'un porte-bébé ventral est conseillé
- massages abdominaux dans le sens des aiguilles d'une montre, pour aider à l'élimination des gaz,
- régularisation du rythme des biberons avec un intervalle d'au moins 2h,
- apport de chaleur qui aide à relâcher les intestins et à soulager les spasmes, elle peut être apportée par la chaleur du corps des parents ou une bouillotte pas trop chaude entourée d'une serviette.

Les probiotiques dans la colique du nourrisson :

Les résultats des études (Gutiérrez-Castrellón et al. 2017) montrent un effet positif de la souche *L. reuteri* pour le traitement des coliques du nourrisson allaités ou nourris au lait artificiel, et notamment une diminution significative du temps de pleurs par jour.

Les probiotiques à base de la souche *L. reuteri* peuvent donc être associés aux conseils vus précédemment pour résoudre les problèmes de colite du nourrisson.

C. Nouveaux usages des probiotiques :

1. La maladie de Crohn :

De nombreuses études cliniques ont été réalisées pour évaluer l'effet de différentes souches de probiotiques sur la prévention des rechutes post-opératoire de la MC ou sur le maintien de la rémission en association aux traitements habituels.

L'usage de probiotiques en prévention de la rechute post-opératoire de la MC a été étudié avec plusieurs souches :

Deux essais randomisés contrôlés, en double aveugle ont évalué l'effet de *L. johnsonii* La1 dans la prévention de la rechute postopératoire de la MC.

Un premier essai (Marteau et al. 2006) a été réalisé chez 98 malades venant de subir une résection chirurgicale. Les patients ont été randomisés pour recevoir soit un probiotique à la dose journalière de 2×10^9 UFC soit un placebo pendant les 6 mois qui suivaient l'opération. Le taux de rechute n'a pas été significativement différent dans les 2 groupes avec une rechute chez 49 % chez les personnes recevant la souche probiotique contre 64 % chez ceux recevant le placebo.

Le second essai (Van Gossum et al. 2007) a étudié une dose plus importante de la souche *L. johnsonii* La1 à 10^{10} UFC/jour chez des patients venant de subir une opération face à un placebo. Cette étude n'a pas montré plus d'efficacité du probiotique par rapport au placebo dans les taux de rechute de la maladie.

Une étude randomisée en double aveugle a étudié l'usage du probiotique VSL#3 composé de 8 souches : *L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis* et *S. thermophilus*, chez des patients souffrant de MC dans les 30 jours suivants une résection iléo-colique (Fedorak et al. 2015).

Les patients ont reçu soit un placebo soit le mélange de probiotiques VSL#3 à la dose de 900 milliards UFC/jour. Une coloscopie a été réalisée à J90 et à J365 pour évaluer la récurrence d'une crise et obtenir une biopsie de la muqueuse pour étudier le profil des cytokines.

À J90, la proportion de patients avec des lésions sévères n'était pas significativement différente entre le groupe traité par placebo (15,7%) et le groupe traité par probiotique (9,3%). La proportion de patients n'ayant pas de lésion sévère à J90 mais ayant une rechute sévère à J365 était de 10% dans le groupe probiotique sur 365 jours et de 26,7% dans le groupe probiotiques de J90 à J365.

Le taux global de récurrences sévères à J90 et à J365 n'était pas significativement différent.

Il a été observé que les patients prenant les probiotiques avaient des niveaux de cytokines pro-inflammatoires diminués par rapport aux patients sous placebo à J90. L'évaluation de la qualité de vie dans les 2 groupes était similaire.

Les niveaux de cytokines pro-inflammatoires diminués à J90 et la diminution du taux de rechute chez les patients traités par 365 jours de probiotique VSL#3 montre que des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer l'intérêt des probiotiques dans la prise en charge des patients en post-opératoire.

En post-opératoire, l'usage de probiotiques usuels ne semble pas avoir d'effet significatif sur le taux de rechute de la MC.

Un autre essai a été réalisé pour évaluer la capacité des probiotiques à favoriser le maintien de la rémission en association aux traitements habituels.

Pour prolonger la rémission chez une population pédiatrique, il a été proposé d'ajouter au traitement du maintien de rémission à base d'azathioprine, 6-mercaptopurine ou corticoïdes un traitement par probiotique (Bousvaros et al. 2005).

Cette étude a pris en compte 75 enfants ou jeunes adultes de 5 à 21 ans, en rémission de MC. Ils ont été randomisés pour recevoir soit pour 39 d'entre eux la souche *L. rhamnosus* GG soit pour les 36 autres un placebo. Ils ont été suivis pendant 2 ans pour comparer les délais avant la survenue d'une rechute et les taux de rechute.

La proportion des patients ayant rechuté n'a pas été significativement différente entre les 2 groupes : 31% des enfants du groupe probiotique (12/39) ont développé une rechute contre 17% (6/36) dans le groupe placebo. De plus, le temps médian avant une rechute n'a pas été significativement prolongé chez les enfants prenant le probiotique, avec une durée de rémission de 9,8 mois pour les enfants sous probiotique et de 11 mois pour les enfants sous placebo.

Les nombreuses études réalisées jusqu'à présent sur l'utilisation des souches usuelles de probiotiques dans la maladie de Crohn ne montrent pas d'amélioration des taux de rechute que ce soit seuls ou en association aux traitements conventionnels.

D'autres études sont nécessaires pour évaluer de nouvelles souches de probiotiques, notamment la souche *F. prausnitzii* qui est connue pour être quantitativement diminuée dans la MC et dont les propriétés anti-inflammatoires ont été montrées.

La transplantation fécale pourrait être également une alternative thérapeutique prometteuse comme nous le verrons plus loin.

2. La rectocolite hémorragique :

Plusieurs souches probiotiques ont été évaluées seules ou en association aux traitements conventionnels de la RCH pour améliorer les symptômes et le maintien de la rémission.

Un essai randomisé en double aveugle a été réalisé avec 147 adultes souffrant de formes actives légères à modérées de RCH (Sood et al. 2009).

En plus de leur traitement standard par mesalazine ou azathioprine, les patients ont reçu des doses de $3,6 \times 10^{12}$ UFC/j du mélange probiotique VSL#3 ou un placebo, 2 fois par jour pendant 12 semaines. Les critères étudiés étaient une diminution de 50% de l'Ulcerative Colitis Disease Activity Index (UCDAI) après 6 semaines, le taux de rémission et la diminution des critères de l'UCDAI à 12 semaines.

A 6 semaines, le pourcentage de patients avec une amélioration du score de l'UCDAI supérieur à 50% était significativement supérieur dans le groupe traité par probiotique (32,5%) que dans le groupe placebo (10%). A 12 semaines, 33 des patients sous probiotiques (42,9%) étaient en rémission contre 11 patients (15,7%) dans le groupe placebo. De plus, à 12 semaines, une quantité plus importante de patients sous probiotiques (51,9%) ont présenté une diminution de l'UCDAI d'au moins 3 points, par rapport au groupe placebo (18,6%).

Le mélange de probiotique VSL#3 semble donc efficace dans l'amélioration des symptômes cliniques et dans l'induction d'une rémission chez des sujets adultes souffrant de formes légères à modérées de RCH.

Un essai a été effectué avec 187 patients souffrant de RCH (Zocco et al. 2006) lors d'une phase de rémission. Les patients ont été randomisés pour recevoir soit Lactobacillus GG à la dose de 18×10^9 /j, soit 2400 mg de mesalazine /j, soit l'association de 18×10^9 Lactobacillus GG/j et 2400 mg de mesalazine /j.

Les résultats ont été évalués au bout de 6 et 12 mois selon le score d'activité de la maladie, ainsi que des recherches endoscopiques et histologiques. L'objectif principal était d'évaluer le maintien de la rémission.

L'analyse globale n'a montré aucune différence dans le taux de rechute à 6 et à 12 mois entre les 3 groupes. Le pourcentage de sujets maintenus en rémission après 6 et 12 mois était respectivement de 91% et 85% dans le groupe traité par probiotique seul, 87% et 80% dans le groupe traité par mésalazine seul et 94% et 84% dans le groupe recevant la bithérapie.

La souche Lactobacillus GG semble donc être aussi efficace pour le maintien de la rémission que le traitement par mesalazine seul et semble être une option thérapeutique envisageable.

Ces essais utilisant des souches probiotiques dans des formes actives ou en rémission de la maladie semblent montrer que les probiotiques ont un effet positif en entraînant une diminution de l'activité de la maladie ou en favorisant le maintien de la rémission. Des études supplémentaires sont nécessaires pour affirmer ces résultats mais il semble que certaines souches de probiotiques pourraient jouer le rôle clé dans la stratégie thérapeutique de la RCH.

3. Les infections à C. difficile :

L'usage des probiotiques dans les infections à C. difficile ne figure pas dans les recommandations actuelles malgré de nombreuses études et des résultats qui semblent positifs dans les essais cliniques réalisés jusqu'à présent.

Les mécanismes d'action des probiotiques dans cette infection sont variés (Hopkins et al. 2018) : colonisation temporaire, production de peptides à activité bactéricide, production d'acides et compétition avec C. difficile pour les nutriments et l'adhésion aux cellules épithéliales.

Les probiotiques produisent de l'acide lactique qui diminue le pH digestif et des bactériocines, les 2 peuvent inhiber la croissance de C. difficile. Ils pourraient interrompre la liaison des toxines A et B de C. difficile aux cellules épithéliales et stimuler la production par l'hôte d'IgA anti-toxines. Les lactobacilles ont montré qu'ils suppriment la croissance de C. difficile chez le hamster. B. longum et B. breve ont montré qu'ils réduisent l'effet cytotoxique de C. difficile sur certains types de cellules épithéliales intestinales.

Plusieurs études ont suggéré un effet bénéfique des probiotiques dans le traitement ou la prévention des ICD.

Une étude randomisée en double aveugle a été effectuée sur 255 adultes en prévention primaire de l'ICD (Gao et al. 2010). Le probiotique évalué est une association de 2 souches : L. acidophilus et L. casei à la dose de 50 milliards UFC. Les patients ont été randomisés pour recevoir soit le probiotique 2 fois par jour, soit un probiotique et un placebo par jour, soit 2 placebos par jour, en association au traitement antibiotique puis prolongé pendant 5 jours.

Le groupe avec double dose de probiotiques a eu une incidence d'ICD (1,2%) inférieure au groupe simple probiotique (9,4%), elle-même inférieure à l'incidence dans le groupe placebo (23,8%).

Une combinaison de 3 souches *L. acidophilus*, *L. casei* et *L. rhamnosus* a été utilisée en prévention primaire des ICD dans un hôpital québécois avec un total de presque 45 000 patients recevant des antibiotiques (Maziade et al. 2015). Chaque prescription d'antibiotiques a été associée à la prise du probiotique contenant les 3 souches. Les patients ont été suivis pendant 10 ans.

Pendant les 10 ans d'observation, le taux d'ICD dans cet hôpital a diminué de 18 cas pour 10 000 patients – jour à un niveau de 2,3 cas pour 10 000 patients – jours.

Cette intervention de 10 ans a entraîné une réduction de 73% des cas d'ICD, de 76,4% des cas sévères et de 39% de rechute.

L'association de souches probiotiques *L. acidophilus*, *L. casei* et *L. rhamnosus* ou même *L. acidophilus* et *L. casei*, au traitement antibiotique semble être efficace en prévention primaire des infections à *C. difficile*.

La levure *S. boulardii* sécrète une protéase (McFarland 2010) capable de cliver les toxines A et B de *C. difficile* et détruit le récepteur à *C. difficile* au niveau du côlon. De plus, *S. boulardii* stimule la production d'IgA sécrétoires anti-toxine A.

Chez les souris, *S. boulardii* libère un facteur soluble de faible poids moléculaire qui inhibe la production d'IL-8 et l'activation des voies de NF-KB en réponse à une stimulation par l'IL-1, le TNF- α ou le LPS.

La levure *S. boulardii* a été étudiée en association aux traitements conventionnels dans le traitement des infections récidivantes à *C. difficile*.

Une étude de 168 patients (Surawicz et al. 2000) présentant une infection récidivante à *C. difficile* ont été traités par les antibiotiques standards : vancomycine ou métronidazole associés à *S. boulardii* ou placebo. Trois groupes ont été formés pour des traitements de 10 jours : le premier avec un traitement à fortes doses de vancomycine (2g/j), un groupe avec de faibles doses de vancomycine (500mg/j), et un groupe avec du métronidazole (1g/j). Dans chaque groupe, des doses de 1g/j de *S. boulardii* ou un placebo ont été donnés pendant 28 jours. Les patients ont été suivis pendant 2 mois pour constater les potentielles rechutes.

Une diminution significative des récurrences a été constatée dans le groupe prenant la vancomycine à forte dose associée à *S. boulardii* (16,7%) en comparaison au groupe prenant la vancomycine à forte dose seule (50%). Aucune diminution significative n'a été observée dans les autres groupes.

Plusieurs études à grande échelle montrent que les probiotiques semblent être efficaces dans la prévention primaire des ICD, notamment lors de l'association de souches de lactobacilles.

Certaines souches pourraient être également utilisées comme des adjuvants aux traitements antibiotiques par vancomycine et métronidazole. Les études ont montré des améliorations dans le taux de récurrences mais des essais complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces données.

En revanche, dans les situations d'infection récurrente, une transplantation fécale peut être un traitement alternatif envisagé, faisant partie des recommandations internationales actuelles, comme nous le verrons ultérieurement.

4. La polyarthrite rhumatoïde :

Plusieurs essais cliniques ont été effectués avec des patients souffrant de PAR dans le but d'observer les effets de probiotiques sur les scores d'activité de la maladie et les marqueurs de l'inflammation.

Un essai clinique en double aveugle (Vaghef-Mehrabany et al. 2014) a été effectué sur 46 patients de 20 à 80 ans, souffrant de PAR. Ils ont été randomisés pour recevoir soit un placebo soit 10^8 UFC / jour de la souche *L. casei*, pendant 8 semaines.

A la fin de l'étude, le score d'activité de la maladie était significativement diminué dans le groupe probiotique en comparaison au groupe placebo. De plus, les taux de certaines cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6, IL-12) ont été diminués alors que l'IL-10 a été augmentée par la supplémentation en probiotique.

La souche *L. casei* semble améliorer le score d'activité de la maladie et le profil inflammatoire des patients souffrant de PAR.

Un autre essai randomisé en double aveugle (Zamani et al. 2016) réalisé sur 60 patients âgés de 25 à 70 ans a également montré une amélioration significative des scores d'activité de la maladie après 8 semaines de traitement par l'association de 3 souches : *L. acidophilus* (2×10^9 UFC/g), *L. casei* (2×10^9 UFC/g) et *B. bifidum* (2×10^9 UFC/g) en comparaison à un placebo. Il a également été observé une diminution des concentrations sériques en protéine C réactive.

Les résultats de ces essais semblent montrer que les probiotiques permettent de diminuer l'inflammation chez les patients atteints de PAR. Ils pourraient être utilisés pour induire la rémission dans les formes légères de PAR. Mais des études supplémentaires et sur des échantillons plus grands d'individus sont nécessaires pour confirmer ces premiers résultats.

II. La transplantation de microbiote fécal :

La transplantation de microbiote fécal consiste en l'introduction des selles d'un donneur sain dans le tube digestif d'un patient receveur afin de rééquilibrer la flore intestinale altérée de l'hôte.

Actuellement, en France, les prélèvements sont effectués dans les hôpitaux, mais dans certains pays des banques de selles ont été ouvertes, comme aux Etats Unis depuis 2012 ou aux Pays Bas plus récemment.

A. Historique :

La transplantation fécale est une technique utilisée dans la médecine chinoise depuis le IV^e siècle. Des suspensions fécales humaines étaient administrées sous le nom de soupes dorées pour traiter les diarrhées sévères.

Depuis, cette technique fut utilisée dans les pays occidentaux en médecine vétérinaire chez les animaux d'élevage.

Cette technique est reconnue en France par l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) qui a émis des recommandations pour encadrer les essais cliniques depuis 2014.

B. Indications :

Les dernières recommandations européennes (Debast et al. 2014) proposent la transplantation de microbiote fécal dans les formes à récurrences multiples d'infections à *C. difficile* qui ne répondent pas à des traitements antibiotiques répétés.

L'infection à *C. difficile* est en effet la pathologie la mieux étudiée et avec des résultats très positifs. Mais de nouvelles études sont en cours pour évaluer son efficacité sur d'autres maladies telles que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, l'obésité et les maladies métaboliques ou bien encore les troubles du spectre de l'autisme.

C. Sélection du donneur et mode opératoire :

Le donneur potentiel doit répondre à un questionnaire de présélection, retrouvé dans les recommandations rédigées par l'ANSM, associé à un entretien médical, ayant pour but de diminuer le risque de transmission d'un agent pathogène.

Cet entretien est du même principe que ceux réalisés dans le cadre d'un don de sang. Le même questionnaire est utilisé mais il est complété par des mesures additionnelles pour l'adapter au don de selles et au contexte de transplantation fécale comme la coproculture avec recherche de certains parasites, virus et bactéries.

Si le candidat est retenu, l'équipe médicale devra l'informer des mesures à prendre pour limiter le risque de contamination par tout comportement à risque, voyage et risques liés à l'alimentation, jusqu'au don.

Le jour du don, un nouvel entretien avec un questionnaire simplifié aura lieu pour analyser le risque de contamination depuis le dernier rendez-vous. Avec une nouvelle recherche bactérienne sur un prélèvement de selles émises dans la semaine précédant le don. C'est à l'issue de cet entretien que le donneur sera définitivement sélectionné ou non.

Un recueil des événements survenus chez le donneur dans les semaines qui suivent le don est conseillé, comme la survenue d'une maladie infectieuse.

L'administration au receveur se fait sous contrôle médical, après signature d'un consentement éclairé dans le cadre d'une hospitalisation.

Le don doit être caractérisé par un aspect normal des selles c'est-à-dire des selles moulées et un examen macroscopique normal (absence d'urine, de sang, ou de pus). De plus, le don destiné à la transplantation doit être administré, une fois préparé, dans le délai le plus court possible et le jour de l'émission de selles.

Plusieurs voies d'administration sont utilisées selon les services. Dans la majorité des cas, l'administration est réalisée par l'utilisation d'une sonde nasogastrique ou naso-duodénale, mais peut aussi être réalisée lors d'une coloscopie ou par lavement.

Des études sont en cours pour étudier l'efficacité d'une administration par voie orale, sous la forme de gélules gastro-résistantes.

Des préparations de capsules orales de transplants fécaux congelés ont été étudiées (Youngster et al. 2016). Il a été rapporté une guérison prolongée après une administration orale unique de 30 capsules chez 147/180 patients avec un ICD récidivant ou réfractaire. Une deuxième administration réalisée chez 26 personnes qui ont rechuté a été couronnée de succès chez 17, ce qui a entraîné une résolution globale chez 91% des patients.

L'ICD a disparu chez 82% des patients après un seul traitement, atteignant un taux de guérison de 91% avec deux traitements. Ces résultats sont comparables avec ceux rapportés pour l'administration par coloscopie.

Dans tous les cas un suivi médical du receveur dans les heures suivant la procédure, puis à long terme (au minimum 2 ans, cette durée étant corrélée à celle de la conservation des coprothèques) et du donneur est réalisé.

D. Règlementation :

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.

Une coprothèque (ou fécothèque) doit être réalisée à partir des selles brutes émises par le donneur (lors du premier entretien 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.

Il n'existe actuellement aucun argument scientifique en faveur d'un don anonyme par rapport à un don d'une personne de l'entourage du receveur. La sécurisation du don repose en partie

sur l'honnêteté du donneur lors de l'entretien médical et de la complétude du questionnaire d'autre part.

E. Résultats actuels :

1. Infections à C. difficile :

La transplantation de microbiote fécal est recommandée au niveau européen dans les formes à récurrences multiples d'infections à C. difficile qui ne répondent pas à des traitements antibiotiques répétés.

Un essai clinique (van Nood et al. 2013) effectué par une équipe hollandaise a comparé 3 groupes de patients, souffrant d'infection récurrente à C. difficile.

Le premier groupe a reçu une transplantation fécale par l'emploi d'une sonde naso-duodénale, le second groupe a été traité par de la vancomycine seule pendant 14 jours à un dosage de 500mg 4 fois par jour par voie orale, et le dernier groupe a reçu un lavage gastrique en plus de la vancomycine.

L'efficacité a été de 81% après la première greffe dans le groupe de patients traités par transplantation fécale, de 31% pour le groupe de patients traités par vancomycine seule et de 23% pour le groupe ayant eu le traitement par vancomycine associé à un lavage gastrique. Il a été également noté que dans le groupe ayant eu la transplantation, la diversité de la flore bactérienne des patients a été augmentée, proche de celle des donneurs sains, avec une augmentation des bactéries du phylum Bacteroidetes et une diminution des Proteobacteria.

Cet essai qui compare le traitement de patients ayant des récurrences multiples à C. difficile semble montrer l'efficacité supérieure de la transplantation de microbiote fécal en comparaison à des traitements par antibiotique. Il convient quand même d'évaluer le maintien de ces résultats à plus long terme.

Une revue des essais réalisés au total sur 317 patients traités par TMF (Gough et al. 2011), a montré que le taux de réussite fut de 92 % sans que l'on observe d'épisodes de récurrence (89% après une greffe unique).

Une autre étude (Grehan et al. 2010), portant sur le suivi pendant 24 semaines de 10 patients ayant reçu une TMF, a montré que les modifications du microbiote restaient stables dans le temps et que le microbiote des patients était essentiellement composé de celui du donneur.

Ces résultats très prometteurs nécessitent encore de nouvelles études pour évaluer les modifications du microbiote intestinal à plus long terme ainsi que pour évaluer le nombre de transplantations nécessaires pour un résultat optimal. En effet, il semble que chez certains patients un changement durable du microbiote intestinal soit atteint dès la première administration, mais certains nécessitent une deuxième transplantation pour obtenir ce résultat.

2. Maladie de Crohn :

L'utilisation de la transplantation fécale dans la MC n'a pas encore démontré son efficacité, mais de nombreuses études mettent en avant des résultats prometteurs.

Une étude (Cui et al. 2014) a été réalisée sur 30 patients réfractaires aux traitements conventionnels de la MC. Chaque patient a été traité par une seule transplantation fécale.

Le taux d'amélioration clinique et de rémission 1 mois après la transplantation a été respectivement de 86,7% (26/30) et de 76,7% (23/30) des patients.

Après la TMF, le poids corporel des patients a augmenté et le profil lipidique s'est également amélioré. Il a également été observé un effet significatif rapide et continu de soulagement des douleurs abdominales.

Ces résultats montrent que la TMF est faisable, sans danger et efficace dans les formes réfractaires de la MC. Des études contre placebo sont maintenant nécessaires pour une meilleure évaluation de cette procédure. Plusieurs protocoles sont à l'étude, notamment en France, où des essais cliniques sont en cours pour les patients atteints de MC réfractaires.

3. Rectocolite hémorragique :

La transplantation fécale pourrait être une alternative thérapeutique dans les cas de RCH non contrôlés par les traitements conventionnels. Il n'y a pour l'instant pas d'indication en France dans le traitement de la RCH.

Une étude (Kunde et al. 2013) a été réalisée sur 10 enfants ou jeunes adultes, âgés de 7 à 21 ans, souffrant de RCH d'activités légères à modérées. Ils ont reçu une transplantation fécale sous la forme de lavements de selles fraîchement préparées chaque jour pendant 5 jours et on était suivis pendant 4 semaines.

Les critères de réponse étaient évalués selon les critères de l'échelle PUCAI (Paediatric Ulcerative Colitis Activity Index).

Aucun effet indésirable sévère n'a été rapporté. Des effets légers à type de crampes, flatulences, ballonnements, diarrhée, présence de sang dans les selles ont été notés, ainsi que de la fièvre, classée comme effet indésirable modéré. Tous ces événements ont été spontanément résolutifs.

Un sujet a été sorti de l'étude car n'a pas pu retenir les lavements. Après la TMF, 7 des 9 enfants (78%) ont montré une réponse clinique dans la première semaine, 6/9 (67%) ont maintenu une réponse pendant 1 mois et 3/9 (33%) ont été en rémission une semaine après la transplantation.

Ce premier essai sur un nombre très réduit d'individus montre que des résultats positifs sont possibles pour l'induction d'une rémission dans des formes de RCH d'activités légères à modérées. Mais des études sur un plus grand nombre d'individus sont nécessaires.

Un essai clinique en double aveugle (Moayyedi et al. 2015) a inclus 75 patients avec une RCH active. Ils ont été randomisés pour recevoir soit une TMF par lavements à partir de dons de sujets sains ou un placebo administré par lavement, une fois par semaine pendant 6 semaines.

Le premier critère évalué était l'induction de la rémission. Les patients ont fourni des échantillons de selles au début de l'étude puis chaque semaine pour des analyses microbiennes.

Les résultats ont montré que 9 patients qui ont reçu la TMF (24%) et 2 du groupe placebo (5%) ont été en rémission à 7 semaines. Dans le groupe recevant la TMF, 3 des 4 patients ayant une RCH diagnostiquée depuis moins de 1 an sont entrés en rémission contre seulement 6 des 34 ayant la RCH depuis plus d'un an.

Il n'a pas été vu de différence dans les effets indésirables entre les 2 groupes. Les selles des patients ayant reçu le TMF présentent une diversité supérieure à l'état initial et à celles des patients sous placebo.

La réalisation de transplantation fécale sous forme de lavements de selles de donneurs est faisable et bien tolérée chez les enfants, avec quelques effets indésirables acceptables et spontanément résolutifs. Ce traitement semble efficace mais il faudra effectuer plus d'études avec un suivi à plus long terme des patients. Il serait également nécessaire d'effectuer des recherches sur le mode de sélection des donneurs, le mode d'administration le plus adapté et la standardisation des préparations.

4. Syndrome métabolique :

Un essai clinique (Vrieze et al. 2012) de transplantation fécale chez des sujets souffrant d'un syndrome métabolique a été conduit par une équipe hollandaise. Cet essai a consisté à évaluer les effets du transfert du microbiote intestinal de donneurs maigres (IMC < 23 kg/m²) à des receveurs masculins atteints de syndrome métabolique (IMC > 30 kg/m² et glycémie à jeun > 5,6 mmol/L) sur la composition du microbiote du receveur et le métabolisme du glucose.

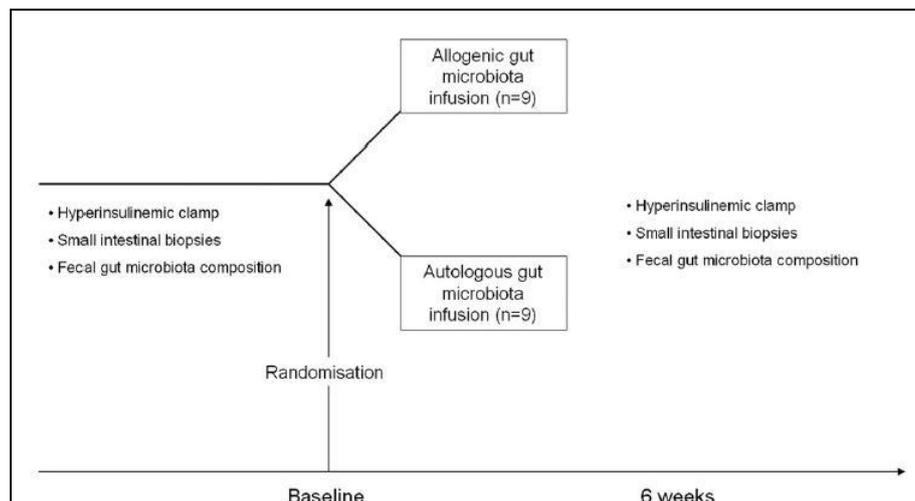


Figure 19 : Transplantation de microbiote fécal dans le syndrome métabolique. (Vrieze et al. 2012)

Les patients ont été randomisés en 2 groupes recevant chacun une transplantation fécale. Une biopsie intestinale suivie d'un lavage intestinal ont été réalisés sur tous les patients. Ils ont ensuite reçu l'échantillon par sonde duodénale, soit à partir d'un donneur allogénique soit de leur propre microbiote intestinal.

La mesure de la sensibilité à l'insuline, ainsi que l'étude de la biopsie intestinale et des échantillons fécaux a été réalisée juste avant la transplantation et 6 semaines après.

L'étude des selles des personnes obèses avant le transfert a montré, en comparaison aux sujets maigres, une diminution de la diversité globale, avec une augmentation des Bacteroidetes et une diminution des Firmicutes.

Après le transfert, l'étude des selles des patients des 2 groupes n'a pas montré de différence quantitative dans la population bactérienne, mais la diversité microbienne a été largement augmentée dans le groupe ayant eu une greffe allogénique, alors qu'elle était inchangée dans le groupe autologue. Les variations marquantes sont une augmentation de 2,5 fois du nombre de bactéries productrices de butyrate : Roseburia intestinalis, avec une diminution de la présence d'AGCC dans les fèces (acétate de 49,5 à 37,6 mmol/kg fèces; butyrate, de 14,1 à 8,9 mmol/kg fèces).

Après 6 semaines, une amélioration de la sensibilité à l'insuline périphérique a été observée dans le groupe ayant eu la transplantation de microbiote intestinal allogénique.

L'étude des biopsies intestinales n'a pas montré de différences quantitatives entre les 2 groupes après la greffe. Mais les bactéries Eubacterium hallii également productrices de butyrate ont été augmentées dans la muqueuse de l'intestin grêle après le transfert allogénique du microbiote intestinal. Alors que leur quantité a été diminuée par 2 dans le groupe traité par autogreffe.

Les AGCC, et notamment le butyrate semble donc jouer un rôle dans l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, notamment par sa capacité à prévenir la translocation de composés bactériens responsable de l'endoxémie métabolique. Ces AGCC semblent être des acteurs clés dans la régulation de diverses cascades de signalisation associées au métabolisme du glucose et des lipides humains.

Ces résultats de transplantation de microbiote fécal chez des sujets atteints de syndrome métabolique semblent prometteurs. D'autres études sont nécessaires, notamment chez des sujets avec un stade avancé de diabète de type 2.

5. Troubles du spectre de l'autisme :

Un essai de TMF (Kang et al. 2017) a été réalisé sur 18 enfants âgés de 7 à 16 ans présentant des TSA associés à des troubles gastro-intestinaux modérés à sévères.

Après 2 semaines de traitement antibiotique et un lavage gastrique, les enfants ont été randomisés pour recevoir une dose initiale forte d'échantillon standardisé de microbiote intestinal (SHGM) par voie orale ou rectale. Cela a été suivi pour tous d'une dose d'entretien journalière plus faible par voie orale durant 7 à 8 semaines.

Les enfants ont été suivis pendant une période de 8 semaines après le traitement.

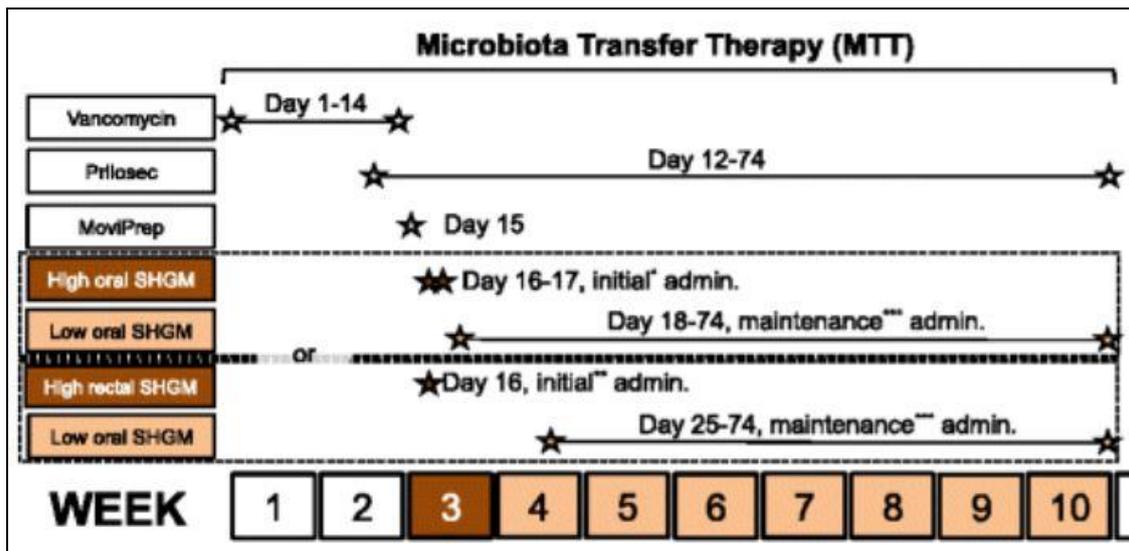


Figure 20 : Transplantation de microbiote fécal chez des enfants souffrants de TSA. (Kang et al. 2017)

L'échelle d'évaluation des symptômes gastro-intestinaux a révélé une réduction d'environ 80% des symptômes gastro-intestinaux à la fin du traitement, dont une amélioration significative des symptômes de la constipation, de la diarrhée, de l'indigestion et des douleurs abdominales. En plus des troubles digestifs, les évaluations cliniques ont montré que les symptômes comportementaux du TSA s'amélioraient significativement. L'ensemble de ces améliorations persiste 8 semaines après la fin du traitement.

Les analyses de séquençages bactériens ont révélé une greffe partielle réussit du microbiote du donneur sain et des changements bénéfiques dans le microbiote intestinal des enfants. En effet, la diversité bactérienne globale a été augmentée. De plus, l'abondance des bactéries des genres *Bifidobacterium* et *Prevotella* a augmenté après la TMF, et ces changements ont persisté 8 semaines après l'arrêt du traitement.

Ces résultats nous montrent que la TMF semble faisable et sans risque chez les enfants souffrant de TSA et permet d'observer des améliorations à la fois sur les symptômes intestinaux et comportementaux. Des études supplémentaires sur des échantillons plus grands seront nécessaires pour confirmer ces résultats.

SYNTHESE :

PATHOLOGIE	DYSBIOSE	REPERCUTIONS	PROBIOTIQUES ou TMF	PERSPECTIVES
<p style="text-align: center;">Maladie de Crohn</p>	<p>↓ Firmicutes dont la souche F. prausnitzii (une des souches les plus abondantes et productrice de butyrate et MAM) ↓ Bacteroidetes</p> <p>↑ Proteobacteria dont Enterobacteries ↑ pathogènes : E. coli AIEC ; Mycobacterium avium</p>	<p>↓ production d'AGCC</p> <p>↓ production de MAM (bloque activation NF-KB et production IL-8)</p> <p>→ ↓ de l'effet anti-inflammatoire intestinal</p>	<p>- probiotiques : pas d'amélioration des taux de rechute</p> <p>- TMF : 1^{ers} résultats montrent amélioration clinique et rémission → essais cliniques en cours</p>	<p>→ études à poursuivre : administration directe de F. prausnitzii ou de MAM ?</p> <p>→ possible usage TMF dans les formes non répondeantes</p>
<p style="text-align: center;">Rectocolite hémorragique</p>	<p>↓ Firmicutes dont la souche F. prausnitzii et le genre Roseburia ↓ Verrucomicrobia dont la souche A. muciniphila ↓ Bacteroidetes</p> <p>↑ Proteobacteria et Actinobacteria ↑ pathogènes : E. coli AIEC ; Mycobacterium avium</p>	<p>↓ production d'AGCC → butyrate ++</p>	<p>- probiotiques : → formes actives : ↓ score d'activité et favorise la rémission → phase de rémission : favorise le maintien de la rémission</p> <p>- TMF : résultats mitigés, études à poursuivre</p>	<p>→ probiotiques donnent des résultats positifs</p> <p>→ études à poursuivre : administration de souches A. muciniphila ou F. prausnitzii ?</p> <p>→ approfondir les études TMF sur plus grand nombre et différentes techniques d'administration</p>
<p style="text-align: center;">Infection à C. difficile</p>	<p><u>Formes récurrentes :</u></p> <p>↓ nette de la diversité microbienne modifications de la proportion des phyla dominants</p>	<p>Perte de la résistance à la colonisation → C. difficile peut devenir un membre dominant au sein du microbiote</p>	<p>- probiotiques : → prévention primaire ++ → associés aux traitements conventionnels : certains effets positifs mais études à poursuivre</p> <p>- TMF : taux de réussite supérieurs aux traitements conventionnels dans les infections à récurrences multiples</p>	<p>→ favoriser l'usage des probiotiques en prévention primaire</p> <p>→ TMF intéressant dans formes à récurrences multiples → études à approfondir notamment sur le nombre de transplantations à effectuer</p>

PATHOLOGIE	DYSBIOSE	REPERCUTIONS	PROBIOTIQUES ou TMF	PERSPECTIVES
<p>Obésité et diabète de type 2</p>	<p>↓ Bacteroidetes ↓ bactéries productrices de butyrate ↑ Firmicutes</p>	<p>↓ production AGCC ↑ perméabilité intestinale → translocation fragments bactériens (LPS) et bactéries vers foie et tissu adipeux → inflammation de bas grade → altération de la transmission du signal insulinique</p>	<p>- probiotiques chez la souris : ↓ perméabilité intestinale et améliore sensibilité à l'insuline - TMF : améliore sensibilité périphérique à l'insuline</p>	<p>→ études de souches probiotiques productrices d'AGCC chez l'homme est nécessaire → approfondir les études TMF sur plus grand nombre</p>
<p>Lupus érythémateux disséminé</p>	<p>↓ Firmicutes ↑ Bacteroidetes</p>	<p>- ↑ différenciation des lymphocytes Th17 - réactivité croisée entre auto-antigène Ro60 humain et protéine apparentée de certaines bactéries du microbiote</p>	<p>Probiotiques inducteurs de Treg chez la souris : ↓ sur-activation lymphocytes CD4+</p>	<p>→ études de souches probiotiques inductrices de Treg chez l'homme → cibler des bactéries présentant la protéine apparentée à Ro60 pour éviter les réponses B et T auto-réactives</p>
<p>Polyarthrite rhumatoïde</p>	<p>Rapport Firmicutes / Bacteroidetes normal <u>Patients diagnostic récent non traités :</u> ↓ Bacteroidaceae ↑ Prevotellaceae dont la souche P. copri</p>	<p>- présence de P. copri entraîne activation de cellules T auto-réactives - ↑ lymphocytes T CD4+ Th17 dans l'intestin</p>	<p>Probiotiques : → semblent améliorer score d'activité et ↓ marqueurs de l'inflammation</p>	<p>→ approfondir les études sur probiotiques et sur plus grands échantillons → cibler la souche P. copri pour diminuer sa prolifération</p>
<p>Troubles de la sphère autistique</p>	<p>↓ Bacteroides ↑ Firmicutes Proportions inhabituelles de plusieurs genres : Lactobacillus, Bifidobacterium Clostridia et Desulfovibro.</p>	<p>↓ production AGCC ↑ perméabilité intestinale</p>	<p>- probiotiques chez la souris : améliore les comportements communicatif, répétitif, anxiogène et sensorimoteur. - TMF : améliore les symptômes gastro-intestinaux et comportementaux.</p>	<p>→ études de souches probiotiques chez l'homme → approfondir les études comportementales après TMF</p>

Conclusion générale :

Le développement récent de la biologie moléculaire a permis lors de ces dernières années une étude beaucoup plus poussée du microbiote intestinal grâce au séquençage haut débit.

Cet ensemble de micro-organismes est propre à chaque individu mais certaines espèces dominantes sont communes à tous pour assurer les fonctions essentielles de barrière, ainsi que des fonctions métaboliques et immunitaires.

Le microbiote est en relation étroite avec les systèmes immunitaires innés et acquis de l'organisme et cet équilibre est primordial pour maintenir l'homéostasie intestinale.

Un certain nombre de facteurs peut entraîner le déséquilibre de la flore intestinale, de manière transitoire, comme la prise d'antibiotique, la modification du régime alimentaire ou un épisode de diarrhée aiguë. Mais la dysbiose peut également être retrouvée à long terme dans certaines pathologies, où l'on observe une diminution de la diversité du microbiote, comme dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. La maladie de Crohn se caractérise par une diminution d'une des bactéries majeures de la flore : *F. prausnitzii*, reconnue pour ses propriétés anti-inflammatoires, notamment par la production de MAM.

Dans les maladies métaboliques, les tissus adipeux et le foie sont caractérisés par une inflammation de bas grade, dont le développement semble être dû à la translocation de bactéries et de fragments bactériens provenant du microbiote intestinal.

Les recherches les plus récentes ont également impliqué le microbiote dans le développement de maladies auto-immunes. Soit par la découverte de réactions croisées entre les protéines humaines et bactériennes comme dans le lupus, ou la présence marquée au sein de la flore intestinale, d'une bactérie aux propriétés pro-inflammatoire comme *P. copri* dans la polyarthrite rhumatoïde.

Le microbiote intestinal semble aussi impliqué dans des maladies caractérisées par des altérations du neurodéveloppement comme les troubles du spectre de l'autisme, dans lesquels une dysbiose est retrouvée.

Le marché des probiotiques vendus en pharmacie est en forte progression ces deux dernières années. La voie digestive concerne plus de 70% des indications. Les probiotiques à base de la levure *S. boulardii* bénéficient d'une grande notoriété et étaient à l'époque remboursés, ils sont donc les probiotiques les plus connus par le public et les médecins ce qui explique qu'ils soient leaders sur le marché. Mais de nombreux compléments alimentaires à base de probiotiques se développent. Il est important d'étudier les formules car les études effectuées sur des souches spécifiques ne peuvent pas être appliquées à tous les probiotiques.

Des recherches sont en cours et pourraient permettre de développer des probiotiques avec des souches spécifiques d'une dysbiose retrouvée dans une maladie, comme *F. prausnitzii* dans la maladie de Crohn ou *A. muciniphila* dans la rectocolite hémorragique.

De plus, de nouvelles options thérapeutiques se développent comme la transplantation de microbiote fécal. Celle-ci permet de rééquilibrer la flore intestinale suite à une dysbiose. Son utilisation est déjà recommandée au niveau international dans les formes à récurrences multiples d'infections à *C. difficile*. Elle donne également des résultats très prometteurs dans les MICI, les maladies métaboliques et les troubles du spectre de l'autisme.

Les maladies telles que les MICI ou les maladies auto-immunes n'ont pas à l'heure actuelle de traitement spécifique. Dans les formes sévères, les traitements lourds à base d'immunosuppresseurs et la chirurgie sont les seules options. Ces nouvelles pistes thérapeutiques pourraient permettre une prise en charge spécifique et précoce. Pour cela, des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer les effets de ces nouvelles thérapeutiques et de permettre un jour leur développement.

Bibliographie :

- Abreu, Maria T. 2010. « Toll-like Receptor Signalling in the Intestinal Epithelium: How Bacterial Recognition Shapes Intestinal Function ». *Nature Reviews Immunology* 10 (2): 131-44.
- Alunno, Alessia, Elena Bartoloni, Onelia Bistoni, Giuseppe Nocentini, Simona Ronchetti, Sara Caterbi, Valentina Valentini, Carlo Riccardi, et Roberto Gerli. 2012. « Balance between Regulatory T and Th17 Cells in Systemic Lupus Erythematosus: The Old and the New ». *Clinical & Developmental Immunology* 2012: 823085.
- Alliance Apnées du sommeil « Apnée du sommeil et surpoids : quels liens ? ». Disponible sur : <https://www.allianceapnees.org/apnee-du-sommeil-et-surpoids-quels-liens/>.
- Amar, Jacques, Chantal Chabo, Aurélie Waget, Pascale Klopp, Christelle Vachoux, Luis G. Bermúdez-Humarán, Natalia Smirnova, Mathieu Bergé, Thierry Sulpice, Sampo Lahtinen, Arthur Ouwehand, Philippe Langella, Nina Rautonen, Philippe J. Sansonetti et Rémy Burcelin. 2011. « Intestinal Mucosal Adherence and Translocation of Commensal Bacteria at the Early Onset of Type 2 Diabetes: Molecular Mechanisms and Probiotic Treatment ». *EMBO Molecular Medicine* 3 (9): 559-72.
- ANSM. Novembre 2016 (Actualisation de la version de juin 2015) « La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques - Point d'Information ». Disponible sur : <http://ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/La-transplantation-de-microbiote-fecal-et-son-encadrement-dans-les-essais-cliniques-Point-d-Information2>.
- Bäckhed, Fredrik, Hao Ding, Ting Wang, Lora V. Hooper, Gou Young Koh, Andras Nagy, Clay F. Semenkovich, et Jeffrey I. Gordon. 2004. « The Gut Microbiota as an Environmental Factor That Regulates Fat Storage ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (44): 15718-23.
- Baelde D., D. Brassart, G. Corthier, J. Doré, M. Heyman, P. Marteau, C. Matuchansky et C. Michel. 2005 « Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte ». Disponible sur : <https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT-Ra-Preprobiotiq.pdf>.
- Barbut, F., C. Bernet, A. Carbonne, B. Coignard, C. Dumartin, I. Poujol, I. Raclot, H. Sénéchal, JM. Thiolet et H. Tronel. 2006. « Conduite à tenir : diagnostic, investigation, surveillance, et principes de prévention et de maîtrise des infections à *Clostridium difficile* ». Disponible sur : http://invs.santepubliquefrance.fr/publications/2006/guide_raisin/conduite_clostridium_difficile.pdf.
- Barbut, Frédéric, et Francisca Joly. 2010. « Le microbiote intestinal : équilibre et dysbiose ». *Hépto-Gastro & Oncologie Digestive* 17 (6): 511-20.
- Boissier, Marie-Christophe. 2017. « Polyarthrite rhumatoïde. Une maladie modèle pour la recherche sur l'inflammation chronique ». Disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/polyarthrite-rhumatoide>.
- Bousvaros, Athos, Stefano Guandalini, Robert N. Baldassano, Christine Botelho, Jonathan Evans, George D. Ferry, Barry Goldin, Lori Hartigan, Subra Kugathasan, Joseph Levy, Karen F. Murray, Maria Oliva-Hemker, Joel R. Rosh, Vasundhara Tolia, Anna Zholudev, Jon A. Vanderhoof et Patricia L. Hibberd. 2005. « A Randomized, Double-Blind Trial of Lactobacillus GG Versus Placebo in Addition to Standard Maintenance

- Therapy for Children with Crohn's Disease ». *Inflammatory Bowel Diseases* 11 (9): 833-39.
- Boutoille, David. 2017. « Traitements médicamenteux d'une infection à Clostridium difficile : place des anciennes et nouvelles molécules », 36.
- Burcelin, R., L. Zitvogel, G. Fond et H. Sokol. 2016. « Microbiote intestinal (flore intestinale) »
 Disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>.
- Burcelin, R., S. Nicolas, et V. Blasco-Baque. 2016. « Microbiotes et maladies métaboliques - De nouveaux concepts pour de nouvelles stratégies thérapeutiques ». *médecine/sciences* 32 (11): 952-60.
- Campeotto, Florence, Anne-Judith Waligora-Dupriet, Florence Doucet-Populaire, Nicolas Kalach, Christophe Dupont, et Marie-José Butel. 2007. « Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né ». *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 31 (5): 533-42.
- Cani, Patrice D., Jacques Amar, Miguel Angel Iglesias, Marjorie Poggi, Claude Knauf, Delphine Bastelica, Audrey M. Neyrinck, Francesca Fava, Kieran M. Tuohy, Chantal Chabo, Aurélie Waget, Evelyne Delmée, Béatrice Cousin, Thierry Sulpice, Bernard Chamontin, Jean Ferrières, Jean-François Tanti, Glenn R. Gibson, Louis Casteilla, Nathalie M. Delzenne, Marie Christine Alessi et Rémy Burcelin. 2007. « Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance ». *Diabetes* 56 (7): 1761-72.
- CDU-HGE « Microbiote et immunité intestinale ». Editions Elsevier-Masson - Octobre 2014.
 Disponible sur : https://www.snfge.org/sites/default/files/SNFGE/Formation/chap-13_fondamentaux-pathologie-digestive_octobre-2014.pdf.
- Chang, Ju Young, Dionysios A. Antonopoulos, Apoorv Kalra, Adriano Tonelli, Walid T. Khalife, Thomas M. Schmidt, et Vincent B. Young. 2008. « Decreased Diversity of the Fecal Microbiome in Recurrent Clostridium Difficile—Associated Diarrhea ». *The Journal of Infectious Diseases* 197 (3): 435-38.
- Charles, Marie-Aline, Arnaud Basdevant et Eveline Eschwège. 2009. « L'enquête épidémiologique ObÉpi-Roche ».
 Disponible sur : http://www.roche.fr/medias/actualites/l_enquete_epidemiologique_obepi_roche.html.
- Chatelier, Emmanuelle Le, Trine Nielsen, Junjie Qin, Edi Prifti, Falk Hildebrand, Gwen Falony, Mathieu Almeida. 2013. « Richness of Human Gut Microbiome Correlates with Metabolic Markers ». *Nature* 500 (7464): 541-46.
- Cheng, Jing, Airi M. Palva, Willem M. de Vos, et Reetta Satokari. 2013. « Contribution of the Intestinal Microbiota to Human Health: From Birth to 100 Years of Age ». *Current Topics in Microbiology and Immunology* 358: 323-46.
- Chmielewska, Anna et Hania Szajewska. 2010. « Systematic review of randomised controlled trials: Probiotics for functional constipation ». *World Journal of Gastroenterology : WJG* 16 (1): 69-75.
- Claude, J.-R., L. Domenjoud, E. Fattal, J. Guillemain, A. Guillouzo, S. Le Crom, A. Le Pape, S. Lerondel, P. Lescuyer, B. Maillere, F. Morel, M. Pallardy, C. Pineau, T. Rabilloud et R. Rahmani. 2011. « CONCEPT PAPER : le séquençage à haut débit méthodes et enjeux en médecine, pharmacologie et toxicologie ».
 Disponible sur : http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0edd877424b6f7301df42c2aff2a9a5a.pdf
- COFER, Collège Français des Enseignants en Rhumatologie. 2010. « Item 121 : Polyarthrite rhumatoïde ».

- Disponible sur :
<http://campus.cerimes.fr/rhumatologie/enseignement/rhumato16/site/html/cours.pdf>
- Cui, Bota, Qiang Feng, Honggang Wang, Min Wang, Zhaoyuan Peng, Pan Li, Guangming Huang, Zheng Liu, Ping Wu, Zhining Fan, Guozhong Ji, Xin Wang, Kaichun Wu, Daiming Fan et Faming Zhang. 2014 « Fecal Microbiota Transplantation through Mid-Gut for Refractory Crohn's Disease: Safety, Feasibility, and Efficacy Trial Results ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 30 (1): 51-58.
- Debast, S. B., M. P. Bauer, E. J. Kuijper et European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2014. « European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the Treatment Guidance Document for Clostridium Difficile Infection ». *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 20 Suppl 2 (mars): 1-26.
- Desbonnet, L, G Clarke, F Shanahan, T G Dinan, et J F Cryan. 2014. « Microbiota is essential for social development in the mouse ». *Molecular Psychiatry* 19 (2): 146-48.
- Doron, Shira, et David R. Snyderman. 2015. « Risk and Safety of Probiotics ». *Clinical Infectious Diseases* 60 (suppl_2): S129-34.
- Fedorak, Richard N., Brian G. Feagan, Naomi Hotte, Des Leddin, Levinus A. Dieleman, Denis M. Petrunia, Robert Enns, Alain Bitton, Naoki Chiba, Pierre Paré, Alaa Rostom, John Marshall, William Depew, Charles N. Bernstein, Remo Panaccione, Guy Aumais, A. Hillary Steinhart, Alan Cockram, Robert J. Bailey, Paolo Gionchetti, Cindy Wong et Karen Madsen. 2015. « The Probiotic VSL#3 Has Anti-Inflammatory Effects and Could Reduce Endoscopic Recurrence After Surgery for Crohn's Disease ». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 13 (5): 928-935.e2.
- Gao, Xing Wang, Mohamed Mubasher, Chong Yu Fang, Cheryl Reifer, et Larry E. Miller. 2010. « 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 ». *The American Journal of Gastroenterology* 105 (7): 1636-41.
- Gough, Ethan, Henna Shaikh et Ameer R. Manges. 2011. « Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent Clostridium Difficile Infection ». *Clinical Infectious Diseases* 53 (10): 994-1002.
- Grehan, Martin J., Thomas Julius Borody, Sharyn M. Leis, Jordana Campbell, Hazel Mitchell et Antony Wettstein. 2010. « Durable Alteration of the Colonic Microbiota by the Administration of Donor Fecal Flora ». *Journal of Clinical Gastroenterology* 44 (8): 551.
- Greiling, Teri M., Carina Dehner, Xinguo Chen, Kevin Hughes, Alonso J. Iñiguez, Marco Boccitto, Daniel Zegarra Ruiz, Stephen C. Renfroe, Silvio M. Vieira, William E. Ruff, Soyeong Sim, Christina Kriegel, Julia Glanternik, Xindi Chen, Michael Girardi, Patrick Degnan, Karen H. Costenbader, Andrew L. Goodman, Sandra L. Wolin et Martin A. Kriegel. 2018. « Commensal Orthologs of the Human Autoantigen Ro60 as Triggers of Autoimmunity in Lupus ». *Science Translational Medicine* 10 (434).
- Guarner, Francisco, Aamir G. Khan, James Garisch, Rami Eliakim, Alfred Gangl, Alan Thomson, Justus Krabshuis, Ton Lemair et Jean-Jacques Gonvers. 2011. « World Gastroenterology Organisation Global Guidelines - Probiotiques et Prébiotiques ». Disponible sur :
<http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-french-2011.pdf>.
- Gutiérrez-Castrellón, Pedro, Flavia Indrio, Alexis Bolio-Galvis, Carlos Jiménez-Gutiérrez, Irma Jimenez-Escobar, et Gabriel López-Velázquez. 2017. « Efficacy of Lactobacillus

- Reuteri DSM 17938 for Infantile Colic: Systematic Review with Network Meta-Analysis ». *Medicine* 96 (51): e9375.
- Hachulla, Eric et Jean Sibilia. 2016 « Diagnostic, traitement et prise en charge du lupus érythémateux systémique : les avancées de la recherche ».
Disponible sur : <http://neovacs.fr/wp-content/uploads/cp-04-05-16.pdf>.
- Haute Autorité de Santé. 2009. « Obésité : prise en charge chirurgicale chez l'adulte ».
Disponible sur : https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-11/obesite_-_prise_en_charge_chirurgicale_chez_ladulte_-_argumentaire.pdf.
- Haute Autorité de Santé. 2011. « Surpoids et obésité de l'adulte : prise en charge médicale de premier recours ».
Disponible sur : https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-09/2011_09_30_obesite_adulte_argumentaire.pdf.
- Hevia, Arancha, Christian Milani, Patricia López, Adriana Cuervo, Silvia Arbolea, Sabrina Duranti, Francesca Turroni, Sonia Gonzalez, Ana Suarez, Miguel Gueimonde, Marco Ventura, Borja Sanchez et Abelardo Margolles. 2014. « Intestinal Dysbiosis Associated with Systemic Lupus Erythematosus ». *MBio* 5 (5): e01548-14.
- Hopkins, Roy J., et Robert B. Wilson. 2018. « Treatment of Recurrent Clostridium Difficile Colitis: A Narrative Review ». *Gastroenterology Report* 6 (1): 21-28.
- Hrnčířová, Lucia, Jan Krejsek, Igor Šplíchal, et Tomáš Hrnčíř. 2014. « Crohn's Disease: A Role of Gut Microbiota and Nod2 Gene Polymorphisms in Disease Pathogenesis ». *Acta Medica (Hradec Kralove)* 57 (3): 89-96.
- Hsiao, Elaine Y., Sara W. McBride, Sophia Hsien, Gil Sharon, Embriette R. Hyde, Tyler McCue, Julian A. Codelli, Janet Chow, Sarah E. Reisman, Joseph F. Petrosino, Paul H. Patterson et Sarkis K. Mazmanian. 2013. « Microbiota Modulate Behavioral and Physiological Abnormalities Associated with Neurodevelopmental Disorders ». *Cell* 155 (7): 1451-63.
- Kang, Dae-Wook, James B. Adams, Ann C. Gregory, Thomas Borody, Lauren Chittick, Alessio Fasano, Alexander Khoruts, Elizabeth Geis, Juan Maldonado, Sharon McDonough-Means, Elena L. Pollard, Simon Roux, Michael J. Sadowsky, Karen Schwarzberg Lipson, Matthew B. Sullivan, J. Gregory Caporaso et Rosa Krajmalnik-Brown. 2017. « Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study ». *Microbiome* 5 (janvier): 10.
- Kunde, Sachin, Angela Pham, Sarah Bonczyk, Teri Crumb, Meg Duba, Harold Conrad, Deborah Cloney, et Subra Kugathasan. 2013. « Safety, Tolerability, and Clinical Response after Fecal Transplantation in Children and Young Adults with Ulcerative Colitis ». *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 56 (6): 597-601.
- Le Lay, Christophe. 2015. « Lactococcus lactis ssp. lactis biovar. diacetylactis UL719 et la nisine : une nouvelle approche dans le traitement des infections à Clostridium difficile ».
Disponible sur : <https://corpus.ulaval.ca/jspui/handle/20.500.11794/26552>.
- Ley, Ruth E., Peter J. Turnbaugh, Samuel Klein, et Jeffrey I. Gordon. 2006. « Microbial Ecology: Human Gut Microbes Associated with Obesity ». *Nature* 444 (7122): 1022-23.
- López, Patricia, Banesa de Paz, Javier Rodríguez-Carrio, Arancha Hevia, Borja Sánchez, Abelardo Margolles, et Ana Suárez. 2016. « Th17 Responses and Natural IgM Antibodies Are Related to Gut Microbiota Composition in Systemic Lupus Erythematosus Patients ». *Scientific Reports* 6 (avril): 24072.
- Maeda, Yuichi, Takashi Kurakawa, Eiji Umemoto, Daisuke Motooka, Yoshinaga Ito, Kazuyoshi Gotoh, Keiji Hirota, Masato Matsushita, Yoki Furuta, Masashi Narazaki,

- Noriko Sakaguchi, Hisako Kayama, Shota Nakamura, Tetsuya Iida, Yukihiko Saeki, Atsushi Kumanogoh, Shimon Sakaguchi et Kiyoshi Takeda. 2016. « Dysbiosis Contributes to Arthritis Development via Activation of Autoreactive T Cells in the Intestine ». *Arthritis & Rheumatology* 68 (11): 2646-61.
- Marteau, P., M. Lémann, P. Seksik, D. Laharie, J. F. Colombel, Y. Bouhnik, G. Cadiot, J. C. Soulé, A. Bourreille, E. Metman, E. Lerebours, F. Carbonnel, J. L. Dupas, M. Veyrac, B. Coffin, J. Moreau, V. Abitbol, S. Blum-Sperisen et J. Y. Mary. 2006. « Ineffectiveness of Lactobacillus Johnsonii LA1 for Prophylaxis of Postoperative Recurrence in Crohn's Disease: A Randomised, Double Blind, Placebo Controlled GETAID Trial ». *Gut* 55 (6): 842-47.
- Martinez-Medina, Margarita, Xavier Aldeguer, Ferran Gonzalez-Huix, Doroteo Acero, et Jesús L. Garcia-Gil. 2006. « Abnormal Microbiota Composition in the Ileocolonic Mucosa of Crohn's Disease Patients as Revealed by Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis ». *Inflammatory Bowel Diseases* 12 (12): 1136-45.
- Mathis, Diane, et Christophe Benoist. 2011. « Microbiota and Autoimmune Disease: The Hosted Self ». *Cell Host & Microbe* 10 (4): 297-301.
- Matricon, Julien. 2010. « Immunopathogénèse des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ». *médecine/sciences* 26 (4): 405-10.
- Maziade, Pierre-Jean, Pascale Pereira, et Ellie J. C. Goldstein. 2015. « A Decade of Experience in Primary Prevention of Clostridium Difficile Infection at a Community Hospital Using the Probiotic Combination Lactobacillus Acidophilus CL1285, Lactobacillus Casei LBC80R, and Lactobacillus Rhamnosus CLR2 (Bio-K+) ». *Clinical Infectious Diseases* 60 (suppl_2): S144-47.
- McFarland, Lynne V. 2007. « Meta-Analysis of Probiotics for the Prevention of Traveler's Diarrhea ». *Travel Medicine and Infectious Disease* 5 (2): 97-105.
- McFarland, Lynne V. 2010. « Systematic review and meta-analysis of Saccharomyces boulardii in adult patients ». *World Journal of Gastroenterology: WJG* 16 (18): 2202-22.
- Moayyedi, Paul, Michael G. Surette, Peter T. Kim, Josie Libertucci, Melanie Wolfe, Catherine Onischi, David Armstrong, John K. Marshall, Zain Kassam, Walter Reinisch et Christine H. Lee. 2015. « Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial ». *Gastroenterology* 149 (1): 102-109.
- Muniz, Luciana R., Camille Knosp, et Garabet Yeretssian. 2012. « Intestinal Antimicrobial Peptides during Homeostasis, Infection, and Disease ». *Frontiers in Immunology* 3: 310.
- Nood, Els van, Anne Vrieze, Max Nieuwdorp, Susana Fuentes, Erwin G. Zoetendal, Willem M. de Vos, Caroline E. Visser, Ed J. Kuijper, Joep F. W. M. Bartelsman, Jan G. P. Tijssen, Peter Speelman, Marcel G. W. Dijkgraaf et Josbert J. Keller. 2013. « Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent Clostridium difficile ». *New England Journal of Medicine* 368 (5): 407-15.
- Palleja, Albert, Alireza Kashani, Kristine H. Allin, Trine Nielsen, Chenchen Zhang, Yin Li, Thorsten Brach, Suisha Liang, Qiang Feng, Nils Bruun Jorgensen, Kirstine Bojsen-Moller, Carsten Dirksen, Kristoffer S. Burgdorf, Jens J. Holst, Sten Madsbad, Jun Wang, Oluf Pedersen, Torben Hansen et Manimozhiyan Arumugam. 2016. « Roux-en-Y gastric bypass surgery of morbidly obese patients induces swift and persistent changes of the individual gut microbiota ». *Genome Medicine* 8 (juin): 67.
- « Polyarthrite rhumatoïde et Micro-Immuno thérapie ».

- Disponible sur : <http://monsystemeimmunitaire.fr/polyarthrite-rhumatoide-et-micro-immunotherapie/>.
- Qin, Junjie, Ruiqiang Li, Jeroen Raes, Manimozhiyan Arumugam, Kristoffer Solvsten Burgdorf, Chaysavanh Manichanh et Trine Nielsen. 2010. « A Human Gut Microbial Gene Catalogue Established by Metagenomic Sequencing ». *Nature* 464 (7285): 59-65.
- Quévrain, E., M. A. Maubert, C. Michon, F. Chain, R. Marquant, J. Tailhades, S. Miquel et L. Carlier. 2016. « Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease ». *Gut* 65 (3): 415-25.
- Richez « Physiopathologie du lupus ».
Disponible sur : http://www.realites-cardiologiques.com/wp-content/uploads/sites/2/2012/04/Richez_lupus.pdf.
- Rutayisire, Erigene, Kun Huang, Yehao Liu, et Fangbiao Tao. 2016. « The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review ». *BMC Gastroenterology* 16 (juillet): 86.
- Saad, M. J. A., A. Santos, et P. O. Prada. 2016. « Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance ». *Physiology* 31 (4): 283-93.
- Saggioro, Alfredo. 2004. « Probiotics in The Treatment of Irritable Bowel Syndrome ». *Journal of Clinical Gastroenterology* 38 (juillet): S104.
- Sakakibara, Shoji, Toshimasa Yamauchi, Yoshifumi Oshima, Yoshinori Tsukamoto, et Takashi Kadowaki. 2006. « Acetic acid activates hepatic AMPK and reduces hyperglycemia in diabetic KK-A(y) mice ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 344 (2): 597-604.
- Salonen, Anne, Willem M. de Vos, et Airi Palva. 2010. « Gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome: present state and perspectives ». *Microbiology* 156 (11): 3205-15.
- Sandler, R. H., S. M. Finegold, E. R. Bolte, C. P. Buchanan, A. P. Maxwell, M. L. Väisänen, M. N. Nelson, et H. M. Wexler. 2000. « Short-Term Benefit from Oral Vancomycin Treatment of Regressive-Onset Autism ». *Journal of Child Neurology* 15 (7): 429-35.
- Sartor, R. Balfour et Sarkis K. Mazmanian. 2012. « Intestinal Microbes in Inflammatory Bowel Diseases ». *The American Journal of Gastroenterology Supplements* 1 (1): 15-21.
- Scher, Jose U, Andrew Szczesnak, Randy S Longman, Nicola Segata, Carles Ubeda, Craig Bielski, Tim Rostron, Vincenzo Cerundolo, Eric G Pamer, Steven B Abramson, Curtis Huttenhower et Dan R Littman. 2013. « Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis ». *eLife* 2 (novembre).
- Shen, Zhao-Hua, Chang-Xin Zhu, Yong-Sheng Quan, Zhen-Yu Yang, Shuai Wu, Wei-Wei Luo, Bei Tan, et Xiao-Yan Wang. 2018. « Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation ». *World Journal of Gastroenterology* 24 (1): 5-14.
- Sonnenberg, Gregory F. et David Artis. 2015. « Innate Lymphoid Cells in the Initiation, Regulation and Resolution of Inflammation ». *Nature Medicine* 21 (7): 698-708.
- Sood, Ajit, Vandana Midha, Govind K. Makharia, Vineet Ahuja, Dinesh Singal, Pooja Goswami, et Rakesh K. Tandon. 2009. « The Probiotic Preparation, VSL#3 Induces Remission in Patients With Mild-to-Moderately Active Ulcerative Colitis ». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 7 (11): 1202-1209.
- Surawicz, Christina M., Lynne V. McFarland, Richard N. Greenberg, Moshe Rubin, Robert Fekety, Maury E. Mulligan, Reuben J. Garcia, Sally Brandmarker, Karen Bowen, Delia Borjal et Gary W. Elmer. 2000. « The Search for a Better Treatment for

- Recurrent Clostridium Difficile Disease: Use of High-Dose Vancomycin Combined with Saccharomyces Boulardii ». *Clinical Infectious Diseases* 31 (4): 1012-17.
- Swidsinski, Alexander, Axel Ladhoff, Annelie Pernthaler, Sonja Swidsinski, Vera Loening-Baucke, Marianne Ortner, Jutta Weber, Uwe Hoffmann, Stefan Schreiber, Manfred Dietel et Herbert Lochs. 2002. « Mucosal Flora in Inflammatory Bowel Disease ». *Gastroenterology* 122 (1): 44-54.
- Szajewska, H. et J. Mrukowicz. 2005. « Meta-Analysis: Non-Pathogenic Yeast Saccharomyces Boulardii in the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhoea ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 22 (5): 365-72.
- Szajewska, H., A. Skórka et M. Dylag. 2006. « Meta-Analysis: Saccharomyces Boulardii for Treating Acute Diarrhoea in Children ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 25 (3): 257-64.
- Tanti, J. F., P. Gual, T. Grémeaux, T. Gonzalez, R. Barrès, et Y. Le Marchand-Brustel. 2004. « Alteration in Insulin Action: Role of IRS-1 Serine Phosphorylation in the Retroregulation of Insulin Signalling ». *Annales D'endocrinologie* 65 (1): 43-48.
- Tedelind, Sofia, Fredrik Westberg, Martin Kjerrulf et Alexander Vidal. 2007. « Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: A study with relevance to inflammatory bowel disease ». *World Journal of Gastroenterology : WJG* 13 (20): 2826-32.
- Tomova, Aleksandra, Veronika Husarova, Silvia Lakatosova, Jan Bakos, Barbora Vlkova, Katarina Babinska, et Daniela Ostatnikova. 2015. « Gastrointestinal Microbiota in Children with Autism in Slovakia ». *Physiology & Behavior* 138 (janvier): 179-87.
- Tremaroli, Valentina, Fredrik Karlsson, Malin Werling, Marcus Ståhlman, Petia Kovatcheva-Datchary, Torsten Olbers, Lars Fändriks, Carel W. le Roux, Jens Nielsen, et Fredrik Bäckhed. 2015. « Roux-en-Y Gastric Bypass and Vertical Banded Gastroplasty Induce Long-Term Changes on the Human Gut Microbiome Contributing to Fat Mass Regulation ». *Cell Metabolism* 22 (2): 228-38.
- Turnbaugh, Peter J., Ruth E. Ley, Michael A. Mahowald, Vincent Magrini, Elaine R. Mardis, et Jeffrey I. Gordon. 2006. « An Obesity-Associated Gut Microbiome with Increased Capacity for Energy Harvest ». *Nature* 444 (7122): 1027-31.
- Urbańska, Magdalena et Hania Szajewska. 2014. « The efficacy of Lactobacillus reuteri DSM 17938 in infants and children: a review of the current evidence ». *European Journal of Pediatrics* 173 (10): 1327-37.
- Vaghef-Mehrabany, Elnaz, Beitullah Alipour, Aziz Homayouni-Rad, Sakineh-Khatoon Sharif, Mohammad Asghari-Jafarabadi, et Sema Zavvari. 2014. « Probiotic Supplementation Improves Inflammatory Status in Patients with Rheumatoid Arthritis ». *Nutrition* 30 (4): 430-35.
- Van Gossum, Andre, Olivier Dewit, Edouard Louis, Geert de Hertogh, Filip Baert, Fernand Fontaine, Martine DeVos, Marc Enslin, Marc Paintin et Denis Franchimont. 2007. « Multicenter Randomized-Controlled Clinical Trial of Probiotics (Lactobacillus Johnsonii, LA1) on Early Endoscopic Recurrence of Crohn's Disease after Ileo-Caecal Resection ». *Inflammatory Bowel Diseases* 13 (2): 135-42.
- Vanderhoof, Jon A., David B. Whitney, Dean L. Antonson, Terri L. Hanner, James V. Lupo, et Rosemary J. Young. 1999. « Lactobacillus GG in the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhea in Children ». *The Journal of Pediatrics* 135 (5): 564-68.
- VIDAL Recos « Crohn (maladie de) - Prise en charge - VIDAL eVIDAL ». Disponible sur : https://www.vidal.fr/recommandations/3751/crohn_maladie_de/prise_en_charge/.
- VIDAL Recos « Polyarthrite rhumatoïde - Prise en charge - VIDAL eVIDAL ».

- Disponible sur :
https://www.vidal.fr/recommandations/1481/polyarthrite_rhumatoide/prise_en_charge/.
- VIDAL Recos « Rectocolite hémorragique - Prise en charge - VIDAL eVIDAL ».
- Disponible sur :
https://www.vidal.fr/recommandations/4021/rectocolite_hemorragique/prise_en_charge/.
- Vrieze, Anne, Els Van Nood, Frits Holleman, Jarkko Salojärvi, Ruud S. Kootte, Joep F. W. M. Bartelsman, Geesje M. Dallinga-Thie, Mariette T. Ackermans, Mireille J. Serlie, Raish Oozer, Muriel Derrien et Anne Druésne. 2012. « Transfer of Intestinal Microbiota from Lean Donors Increases Insulin Sensitivity in Individuals with Metabolic Syndrome ». *Gastroenterology* 143 (4): 913-916.
- Vuong, Helen E. et Elaine Y. Hsiao. 2017. « Emerging roles for the gut microbiome in autism spectrum disorder ». *Biological psychiatry* 81 (5): 411-23.
- Westerbeek, Elisabeth A. M., Anemone van den Berg, Harrie N. Lafeber, Jan Knol, Willem P. F. Fetter, et Ruurd M. van Elburg. 2006. « The Intestinal Bacterial Colonisation in Preterm Infants: A Review of the Literature ». *Clinical Nutrition* 25 (3): 361-68.
- Whorwell, Peter J., Linda Altringer, Jorge Morel, Yvonne Bond, Duane Charbonneau, Liam O'Mahony, Barry Kiely, Fergus Shanahan, et Eamonn M. M. Quigley. 2006. « Efficacy of an Encapsulated Probiotic *Bifidobacterium Infantis* 35624 in Women with Irritable Bowel Syndrome ». *The American Journal of Gastroenterology* 101 (7): 1581-90.
- Youngster, Ilan, Jasmin Mahabamunuge, Hannah K. Systrom, Jenny Sauk, Hamed Khalili, Joanne Levin, Jess L. Kaplan, et Elizabeth L. Hohmann. 2016. « Oral, frozen fecal microbiota transplant (FMT) capsules for recurrent *Clostridium difficile* infection ». *BMC Medicine* 14 (septembre): 134.
- Zamani, Batol, Hamid R. Golkar, Shima Farshbaf, Modjtaba Emadi-Baygi, Maryam Tajabadi-Ebrahimi, Parvaneh Jafari, Reyhaneh Akhavan, Mohsen Taghizadeh, Mohammad R. Memarzadeh, et Zatollah Asemi. 2016. « Clinical and Metabolic Response to Probiotic Supplementation in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial ». *International Journal of Rheumatic Diseases* 19 (9): 869-79.
- Zocco, M. A., L. Zileri Dal Verme, F. Cremonini, A. C. Piscaglia, E. C. Nista, M. Candelli, M. Novi, D. Rigante, I. A. Cazato, V. Ojetti, A. Armuzzi, G. Gasbarrini et A. Gasbarrini. 2006. « Efficacy of Lactobacillus GG in Maintaining Remission of Ulcerative Colitis ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 23 (11): 1567-74.

THE ROLE OF INTESTINAL MICROBIOTA: CURRENT USE OF PROBIOTICS AND FUTURE INDICATIONS.

ABSTRACT:

The intestinal microbiota is a collection of 10^{14} microorganisms that colonise our digestive tract. Some pathologies are associated with a intestinal dysbiosis, in which we notice a global decrease in the biodiversity of the microbiota and changes in the proportion of certain bacteria species. This is particularly the case in Inflammatory bowel disease, and also in autoimmune diseases, obesity, type 2 diabetes mellitus and autism spectrum disorder.

Probiotics are currently advised in pharmacies for different indications. Studies are in progress to evaluate their ability to restore the dysbiosis found in these different pathologies. Furthermore, an other technique for restoring the balance of the microbiota could be used, the fecal microbiota transplantation. It has already been shown to be effective in treating refractory or relapsing *C. difficile* infections, and is now being considered in other situations with alteration of the intestinal microbiota.

ROLE DE LA FLORE INTESTINALE DANS L'IMMUNITE : USAGE ACTUEL DES PROBIOTIQUES ET FUTURES INDICATIONS.

LIEU ET DATE DE SOUTENANCE : Toulouse, le 9 juillet 2018

RÉSUMÉ :

Le microbiote intestinal est un ensemble de 10^{14} micro-organismes qui tapissent notre tube digestif. Certaines pathologies sont associées à une dysbiose intestinale, dans lesquelles on observe une diminution de la diversité bactérienne et des modifications de la proportion de certaines espèces de bactéries. C'est notamment le cas dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, mais également dans les maladies auto-immunes, l'obésité, le diabète et les troubles du spectre de l'autisme.

Les probiotiques sont actuellement conseillés en pharmacie dans différentes indications. Des études sont en cours pour évaluer leur capacité à rétablir la dysbiose retrouvées dans ces différentes pathologies. De plus, une autre technique de restauration de l'équilibre du microbiote pourrait être utilisée, il s'agit de la transplantation de microbiote intestinal. Elle a déjà fait ses preuves dans le traitement des infections récidivantes à *C. difficile*, et est maintenant étudiée dans d'autres situations avec altération du microbiote intestinal.

TITRE ET RÉSUMÉ EN ANGLAIS : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : Pharmacie

MOTS-CLES : Microbiote - flore intestinale – dysbiose – probiotiques – transplantation microbiote fécal

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Faculté des sciences pharmaceutiques
35, chemin des Maraîchers
31400 Toulouse, France.

DIRECTEUR DE THESE : Mme le Docteur Anne Dominique Terrisse