

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université « Dr. Moulay Tahar » de Saida

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire présenté en vue de l'obtention

Du diplôme de Master en : Biologie

Option: Microbiologie appliquée

Par : Mokadem saliha

**Étude bibliographique sur le microbiote intestinal
humain, nouvelles applications.**

Soutenu devant le jury composé de :

Président	Halla Noureddine	MCB	Université de Saida
Examineur	Benreguieg Mokhtar	MCA	Université de Saida
Promoteur	Ghellai Lotfi	MCA	Université de Saida

2020-2021

Remerciements

Avant tout on remercie dieu tout puissant de nous avoir donné le privilège, la chance d'étudier et de nous avoir donné force, courage, et patience pour accomplir ce travail.

*Remerciements, à notre promoteur, **Mr GHELLAI**, d'avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir laissé la liberté nécessaire à l'accomplissement de notre travail, tout en y gardant un œil critique et avisé. Merci pour sa rigueur scientifique, ses conseils ainsi que sa sympathie. Nous le remercions également de nous avoir responsabilisées tout au long de notre travail.*

*Par ailleurs, je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude aux **enseignants** de la Microbiologie de l'Université Dr Moulay Tahar de SAIDA et en particulier à **Mr Benreguieg, Mr Halla et Mr Gacemi** pour tous les conseils qu'ils m'ont prodigué tout au long de notre cursus.*

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect

Mon cher père

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse

Mon adorable mère

A Cher mari, qui m'a donné une belle vie, aucun mot ne aurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour et tendresse dont tu m'as entouré, grâce à ton aide et ta patience avec moi que je pourrai avancer, que dieu nous accorde un avenir meilleur.

A mon future ange dans quelques mois inshallah tu seras permis nous, puisse dieu te protéger, te procurer santé et longue vie.

A mon frère et mes sœurs pour leurs conseils et orientations.

A mes aimables amis, collègues d'étude, et sœurs de cœur

qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient

toujours à mes côtés,

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible, je vous dis merci

Saliha

Résumé

L'objectif de cette étude était sur le microbiote intestinal est un ensemble de 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 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.

MOTS-CLES : Microbiote - flore intestinale – dysbiose – probiotiques – transplantation.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو حول بكتيريا الأمعاء التي تتكون من مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة التي تبطن الجهاز الهضمي لدينا. ترتبط بعض الأمراض بخلل الأمعاء، حيث لوحظ انخفاض في التنوع البكتيري والتغيرات في نسبة أنواع معينة من البكتيريا. هذا هو الحال بشكل خاص في أمراض الأمعاء الالتهابية المزمنة، ولكن أيضا في أمراض المناعة الذاتية والسمنة والسكري واضطرابات طيف التوحد. ينصح حاليا البروبيوتيك في مؤشرات مختلفة. تجري الدراسات لتقييم قدرتها على استعادة الخلل الموجود في هذه الأمراض المختلفة. وبالإضافة إلى ذلك، يمكن استخدام تقنية أخرى لاستعادة التوازن من الكائنات الحية المجهرية، هو زرع بكتيريا المعوية.

الكلمة المفتاحية

بكتيريا -بكتيريا المعوية -البروبيوتيك – زرع

Abstract:

The purpose of this study was for the intestinal microbiota is a collection of 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 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.

KEYWORDS : Microbiota - intestinal flora - dysbiosis - probiotics - transplantation.

Table des matières

Liste des abréviations.....	i
Liste des figures.....	ii
Introduction.....	iii

Chapitre I : Le microbiote intestinal : Structure et fonction

1. Flore intestinale	01
1.1 L'épithélium intestinal.....	01
1.2 Méthodes d'étude.....	02
1.3 Composition.....	03
1.4 La colonisation par le microbiote.....	06
1.4.1 Facteurs influençant la colonisation.....	06
1.4.1.1 Le mode d'accouchement	06
1.4.1.2 L'environnement.....	07
1.4.1.3 L'alimentation	07
1.4.1.4 Le terme de naissance.....	07
1.4.1.5 L'usage de l'antibiothérapie.....	08
2. Rôle du microbiote intestinal	08
2.1 Fonction de barrière et de protection	08
2.2 Fonction métabolique.....	09
a) Le métabolisme des glucides.....	09
b) Le métabolisme des gaz.....	10
c) Le métabolisme des protéines.....	10
d) Le métabolisme des lipides.....	10

2.3	Fonction immunitaire.....	11
3.	Le système immunitaire digestif	11
3.1	L'immunité innée.....	11
3.2	L'immunité adaptative.....	12
4.	Interactions hôte – microbiote dans l'intestin	12
4.1	Homéostasie intestinale.....	12
5.	Variation de la flore au cours du temps.....	13
5.1	L'alimentation.....	13
5.2	L'usage de médicaments tels que les antibiotiques.....	13
5.3	Les hospitalisations.....	14
5.4	Certaines situations cliniques	14
5.5	L'âge	14

Chapitre 2 : microbiote : nouvelles approches et applications

1.	Les avancées scientifiques chez l'homme et l'application	15
2.	Identification de signatures de pathologies par métagénomique quantitative.....	15
3.	Métagénomique fonctionnelle : étude des fonctions du microbiote intestinal	16
4.	Applications médicales	17
5.	Nouveaux usages des probiotiques.....	18
5.1	La maladie de Crohn.....	18
5.2	La rectocolite hémorragique.....	19

5.3 Les infections à C. difficile.....	20
5.4 La polyarthrite rhumatoïde.....	22
6 .La transplantation de microbiote fécal.....	23
6.1 Historique.....	23
6.2 Indications.....	23
6.3 Sélection du donneur et mode opératoire.....	23
6.4 Règlementation	25
6.5 Résultats actuels	26
6.5.1 Infections à C. difficile.....	26
6.5.2 Maladie de Crohn.....	27
6.5.3 Rectocolite hémorragique.....	28
6.5.4 Syndrome métabolique.....	29
6.5.5 Troubles du spectre de l'autisme.....	30
Conclusion.....	32
Référence bibliographique	33

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGCC : Acides Gras à Courtes Chaines

GALT : tissu lymphoïde associé au tube digestif

ICD : Infections à Clostridium difficile

IgA : Immunoglobulines A

INF : Interféron

IMC : Indice de Masse Corporelle

MALT : tissu lymphoïde associé aux muqueuses

MC : Maladie de Crohn

NOD : Nucleotide-binding Oligomerization Domain

PAMPs : motifs associés aux pathogènes

PUCAI : Paediatric Ulcerative Colitis Activity Index

PAR : Polyarthrite Rhumatoïde

PRR : Pattern Recognition Receptor

RCH : Rectocolite Hémorragique

TGF : Transforming growth Factor

TMF : Transplantation de Microbiote Fécal

TLR : Toll Like Receptor

TSA : Trouble du spectre de l'autisme

Liste des figures

Figure 1 : L'épithélium intestinal.....	01
Figure 2 : Concentration en bactéries le long du tube digestif.....	03
Figure 3 : Répartition topographique du microbiote intestinal	05

Introduction :

Historiquement, les microorganismes étaient vus comme des éléments étrangers déclenchant des maladies lorsqu'ils colonisaient le corps humain. Avec les progrès de la recherche, les scientifiques ont montré que non seulement tous les microorganismes ne sont pas des pathogènes mais qu'en plus notre propre corps coexiste en permanence avec bon nombre d'entre eux. Les chercheurs ont mis en évidence que notre organisme vit en symbiose avec plusieurs milliards de bactéries, bien implantées à différents endroits du corps comme la peau, la sphère ORL, le vagin et le tractus digestif en formant de véritables écosystèmes. La compréhension de cette relation étroite, dont les deux partis tirent profit, est devenue un véritable axe de recherche. Cet ensemble de microorganismes peuplant une partie du corps, anciennement appelé flore, est dorénavant appelé microbiote. Le microbiote intestinal est de loin le plus important du corps humain et est donc une piste de recherche particulièrement intéressante.

Un microbiote est défini comme une population de micro-organismes formant un écosystème complexe. L'Homme et les animaux d'élevage sont porteurs de nombreux microbiotes qui se distinguent en fonction de leur localisation sur le corps (**Cho et Blaser, 2012**). Le microbiote intestinal est celui qui comporte la population la plus abondante de microorganismes, surtout des bactéries, mais aussi des archées, champignons, protistes et virus. Il interagit en permanence avec son hôte, avec lequel il forme une symbiose. Ses rôles dans la fonction digestive sont connus de longue date, mais les avancées technologiques récentes dans le domaine du séquençage à haut débit de l'ADN ont permis un bond en avant des connaissances sur sa composition détaillée, ses rôles en fait multiples, et son fonctionnement chez l'Homme (**Blottière et al, 2013**). Le microbiote intestinal a un rôle important non seulement localement dans la digestion, le développement et le fonctionnement du système immunitaire et du tractus digestif, dans la protection contre les pathogènes entériques, mais aussi dans le métabolisme général de l'hôte et dans le fonctionnement du cerveau. La caractérisation d'un métagénome intestinal de référence (ensemble des gènes bactériens du microbiote intestinal) pour l'Homme a rendu possibles des approches de métagénomique quantitative et fonctionnelle. Ces approches ont récemment contribué à la mise en évidence de

l'importance considérable, et jusqu'à présent sous-estimée, du microbiote intestinal pour la santé de son hôte (**Clemente, 2012**). L'existence de profils de microbiotes spécifiques de conditions pathologiques diverses conduit déjà actuellement à la mise au point de nouvelles approches thérapeutiques. (**Calenge et al, 2014**).

Mais qu'est-ce que le microbiote intestinal ? De quoi est-il constitué ? Quel est son origine et quels sont les facteurs le déterminant ?

Les nombreuses données bibliographiques ont permis de résoudre, du moins en parti, ces interrogations. L'objectif de cette étude sur le microbiote intestinal est de comprendre ses implications sur la santé de l'hôte. En effet, il a été montré que microbiote intestinal exerce des effets bénéfiques sur l'organisme, notamment par ses fonctions protectrice, métabolique et immunologique.

Chapitre I : Le microbiote intestinal : structure et fonction

1. Flore intestinale :

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.

1.1 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).

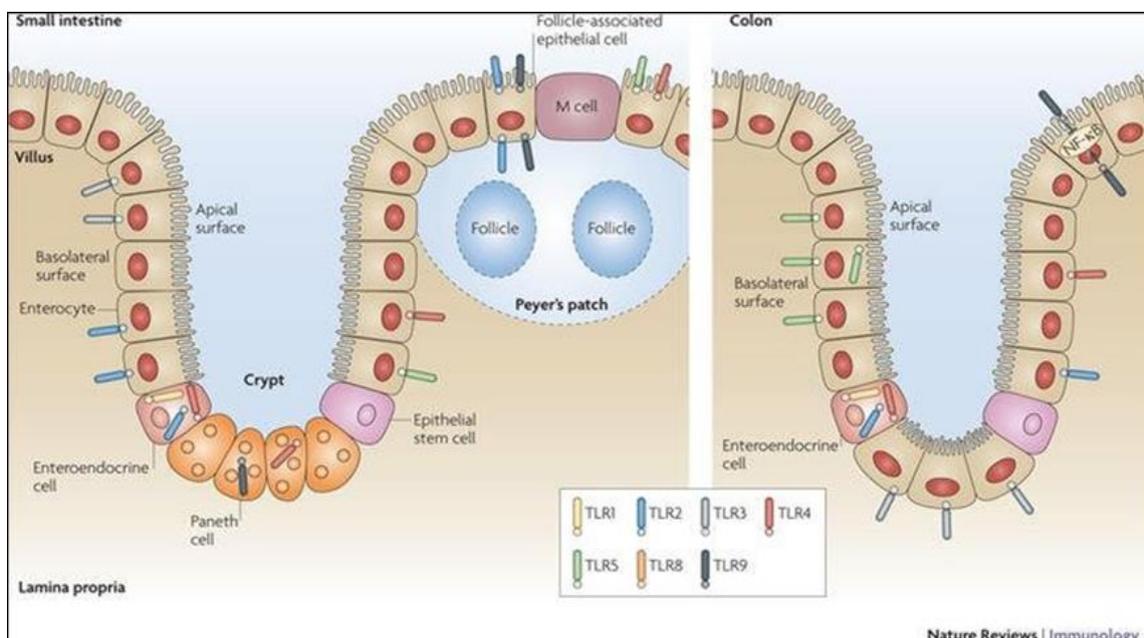


Figure 01 : L'épithélium intestinal. (Abreu 2010).

Les cellules majoritairement retrouvées sont les entérocytes (ou cœlonocytes 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.

1.2 Méthodes d'étude :

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.

1.3 Composition :

Chaque individu abrite dans son tube digestif 10¹⁴ 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 10¹¹ bactéries par gramme de contenu (figure 2).

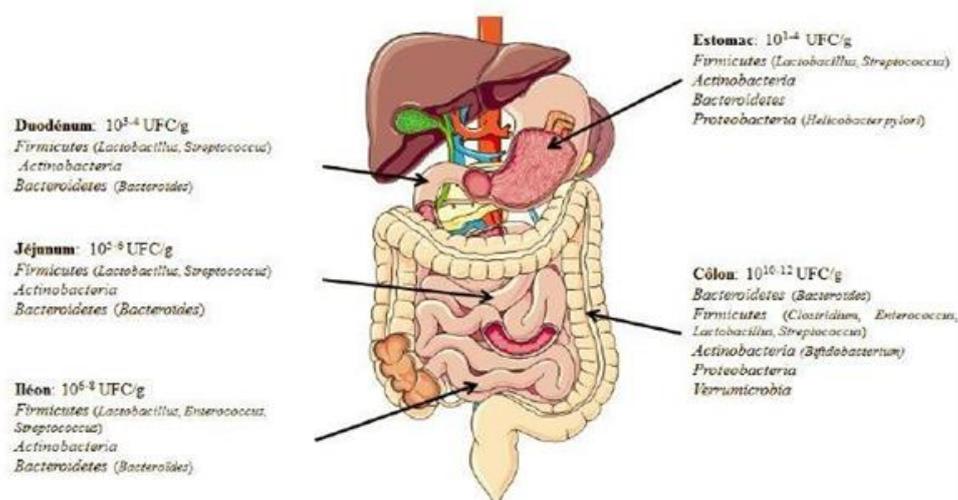


Figure 02 : Concentration en bactéries le long du tube digestif. (Le Lay 2015).

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 (environ 80%) avec une forte proportion du genre Clostridia. Ce phylum comporte actuellement 7 classes :

- * Classe des Clostridia contenant les genres Clostridium, Ruminococcus et Faecalibacterium,
- * Classe des Bacilli contenant les genres Listeria, Staphylococcus, Lactobacillus, Enterococcus et Streptococcus.
- * Classe des Tissierellia
- * Classe des Thermolithobacteria
- * Classe des Negativicutes
- * Classe des Limnochordia
- * Classe des Erysipelotrichia

-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 5-10% de la population du microbiote. Ce sont des bactéries gram positif, notamment des genres *Actinomyces*, *Mycobacterium* ou *Bifidobacterium*.

- **Dans la bouche et l'œsophage** on retrouve de nombreux germes et en grande quantité. On considère cette flore comme transitoire issue des aliments ingérés même si dans sa partie distale, l'œsophage dispose d'une flore résidente c'est-à-dire qui est toujours la même **(Bellon, 2011)**.

- Dans l'estomac, on retrouve une flore très pauvre du fait de son acidité ; principalement des streptocoques (Bellon, 2011).
- Dans l'intestin grêle, la flore est également pauvre en raison du péristaltisme et de l'abondance des sécrétions. Les germes présents sont essentiellement des streptocoques, des staphylocoques et des lactobacilles (Bellon, 2011).
- Dans le colon, on retrouve une prédominance des bactéries de type anaérobie car en progressant dans le tractus digestif, la quantité d'oxygène présente diminue. On peut retrouver des bactéries de type bactéroïdes, bifidobactéries et clostridium (Fusobacterium, clostridia et des streptocoques de type anaérobie). Il y a aussi des entérobactéries, des entérocoques et des staphylocoques. La flore colique est la plus abondante, elle représente 99% des bactéries de notre organisme. Eton retrouve aussi des bactéries type aérobie : Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Streptococcus viridans, Streptococcus faecalis, Staphylococcus aureus (Bellon, 2011) (figure3).

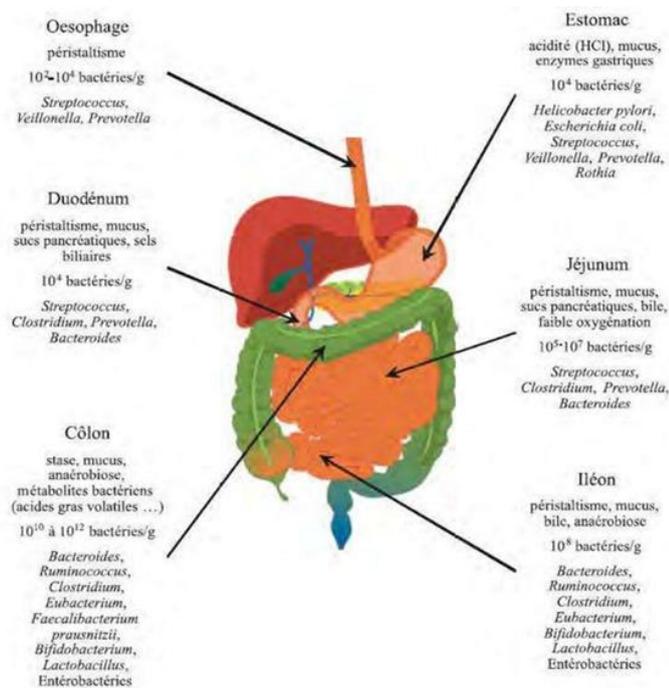


Figure 3 : Répartition topographique du microbiote intestinal (Coudeyras et Forestier 2010).

- 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, archaeophages 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.

1.4 La colonisation par le microbiote :

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.

1.4.1. Facteurs influençant la colonisation :

1. 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*).

2. 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.

3. 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.

4. 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.

5. 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.

2. Rôle du microbiote intestinal :

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.

2.1 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.

2.2 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.

a) 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.

b) 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.

c) 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.

d) 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.

2.3 Fonction immunitaire :

Le tractus gastro-intestinal est une véritable porte ouverte aux bactéries extérieures. C'est pourquoi la muqueuse intestinale doit être capable d'assurer la protection de l'organisme face à ces agressions extérieures.

3. Le système immunitaire digestif :

Le système immunitaire périphérique comporte des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses appelés MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue), dans le cas de la muqueuse intestinale ces tissus sont dénommés GALT (Gut-Associated Lymphoid Tissue). Le GALT se concentre à différents endroits du tractus gastro-intestinal, notamment au niveau des plaques de Peyer, dans des agrégats lymphoïdes de l'œsophage, du gros intestin, de l'estomac, et dans la Lamina propria de l'intestin (tissu conjonctif situé sous l'épithélium). Lors d'une agression extérieure, notre organisme possède deux types de réponse immunitaire : l'immunité innée, qui est une réponse immédiate mais non spécifique ; et l'immunité adaptative, réponse très spécifique qui se met en place après quelques jours. L'immunité intestinale peut schématiquement être séparée en une composante innée constituée des cellules épithéliales et des cellules présentatrices de l'antigène, et une composante adaptative constituée des lymphocytes. Cette seconde composante peut être séparée en sites inducteurs et en sites effecteurs de la réponse. Les plaques de Peyer et les follicules lymphoïdes isolés représentent les sites inducteurs tandis que les sites effecteurs sont constitués des cellules immunitaires qui peuplent la hauteur de la muqueuse.

3.1 Immunité innée :

Les bactéries pathogènes présentent à leur surface des motifs moléculaires qui leur sont propres appelés PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern). Les récepteurs capables de reconnaître ces motifs sont les Toll-like receptors (TLR). Ces récepteurs sont exprimés par les cellules épithéliales et par les cellules présentatrices d'antigène. Les NOD-like receptors sont également une importante famille de récepteurs reconnaissant les PAMP. L'ensemble des récepteurs reconnaissant les PAMP sont des PRR (Pattern Recognition Receptor). L'activation des PRR induit une cascade de signaux intracellulaires conduisant à l'activation et/ou modulation de la réponse immunitaire. Au niveau des cellules épithéliales intestinales cela induit notamment la production de peptides antimicrobiens, la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et recrutement de polynucléaires neutrophiles et macrophages. Au niveau des plaques de Peyer, les

cellules M endocytent les antigènes présents dans la lumière intestinale et les transfèrent aux cellules dendritiques qui ont alors le rôle de Cellule Présentatrice d'Antigène (CPA). Ces cellules jouent le rôle d'intermédiaire entre immunité innée et immunité adaptative.

3.2 Immunité adaptative :

Les CPA présentent alors l'antigène apprêté aux lymphocytes B qui vont se différencier en plasmocytes et produire des Immunoglobulines A (IgA) spécifiques de cet antigène. Les CPA vont également présenter l'antigène aux lymphocytes T présents dans la lamina propria. Ces lymphocytes seront alors activés et prendront selon l'environnement inflammatoire soit un phénotype pro-inflammatoire (lymphocytes T effecteurs Th1 Th2 et Th17) soit un phénotype anti-inflammatoire (lymphocytes régulateurs Treg).

4. Interactions hôte – microbiote dans l'intestin :

4.1 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 proinflammatoires 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.

5. 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 :

5.1 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 marquées 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.

5.2 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.

5.3 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).

5.4 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.

5.5 L'âge :

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.

Chapitre II : microbiote : nouvelles approches et applications

1. Les avancées scientifiques chez l'homme et l'application :

L'existence du catalogue de référence du métagénome humain a permis d'accéder pour la première fois de façon exhaustive aux fonctions codées par les gènes du microbiome intestinal humain, et de caractériser avec précision la variabilité du métagénome humain au sein des cohortes étudiées. Le catalogue recense actuellement presque 10 millions de gènes bactériens non redondant (**Li et al, 2014**), soit 400 fois plus que de gènes humains.

L'utilisation de ce catalogue pour caractériser les échantillons de fèces employés pour le constituer a mis en évidence la grande variabilité individuelle du microbiote intestinal humain, avec seulement 57 espèces bactériennes communes à au moins 90% des individus de la cohorte étudiée (**Qin et al, 2010**).

Ce microbiote « noyau » réalise des fonctions probablement essentielles à la survie des bactéries dans le tube digestif (**Qin et al, 2010**). Par ailleurs, les microbiotes des individus de la première cohorte étudiée sont structurés en trois grands types d'équilibres entre bactéries appelés entérotypes et nommés en fonction du genre bactérien dominant : *Bacteroides*, *Prevotella* et *Ruminococcus* (**Arumugam et al, 2011**). Ces entérotypes seraient façonnés par le type d'alimentation de l'hôte : la consommation de protéines et graisses animales serait associée à l'entérotype *Bacteroides*, tandis que les régimes riches en glucides complexes seraient associés à l'entérotype *Prevotella*. De plus il est probable que chacun des entérotypes possède des spécificités fonctionnelles, ce qui pourrait conditionner les interactions avec l'hôte, en particulier les réponses individuelles aux régimes alimentaires et aux thérapies médicamenteuses (**Aziz, 2013**).

2. Identification de signatures de pathologies par métagénomique quantitative

Une des applications les plus immédiates du métagénome de référence humain a été la caractérisation du profil de gènes et l'estimation de la richesse et diversité du microbiome d'individus atteints par une pathologie, par rapport au profil d'individus sains. Cette approche, dite de métagénomique quantitative, a conduit à la recherche de descripteurs du microbiote spécifiques de toute une série de pathologies, notamment des pathologies non infectieuses telles que par exemple des pathologies inflammatoires de l'intestin (maladie de Crohn) ou la cirrhose du foie (**Qin et al, 2014**).

Les descripteurs en question peuvent être des abondances de gènes ou d'espèces métagénomiques (MGS), ou bien le niveau de diversité ou de richesse du microbiote. La richesse en gènes semble être un marqueur de santé particulièrement important à l'âge adulte. Ainsi, les individus possédant un microbiote avec une faible richesse en gènes ont des caractéristiques inflammatoires et métaboliques moins favorables prédisposant au diabète de type 2 et à l'obésité (**Le Chatelier et al, 2013**), mais aussi potentiellement aux maladies cardio-vasculaires et à certains cancers. Par ailleurs l'entérotipe *Bacteroides* présenterait une richesse en gènes inférieure à celle des deux autres entérotypes (**Le Chatelier et al, 2013**).

Cette faible richesse du microbiote intestinal proviendrait de certaines caractéristiques du mode de vie occidental contemporain qui auraient conduit à un déséquilibre du microbiote intestinal: fort taux de naissance par césarienne empêchant la colonisation du microbiote de l'enfant par le microbiote vaginal, sédentarité, alimentation des nourrissons par du lait maternisé et non du lait maternel, hygiène excessive limitant la mobilisation précoce du système immunitaire de l'hôte pour lutter contre des pathogènes divers et régime alimentaire appauvri en fibres complexes d'origine végétale.

3. Métagénomique fonctionnelle : étude des fonctions du microbiote intestinal :

L'existence d'un métagénome de référence permet des approches globales de métagénomique fonctionnelle, qui visent à caractériser les fonctions portées par le microbiote. L'étude du métatranscriptome du microbiote intestinal est pour l'instant limitée, du fait notamment de la fragilité des molécules d'ARN messenger (ARNm) et de la difficulté à extraire des ARNm de bonne qualité (**Bashiardes et al, 2016**).

Il a cependant été montré que certains gènes abondants étaient relativement peu exprimés tandis que certains gènes peu abondants étaient très exprimés, ce qui souligne que le métatranscriptome reflète plus fidèlement l'activité fonctionnelle réelle du microbiote (**Franzosa et al, 2014**). Une autre approche très prometteuse consiste à identifier, par criblage à haut débit, les fonctions et/ou les protéines ou métabolites produits par des fragments (gènes) du métagénome, clonés dans des vecteurs d'expression puis criblés par contact avec des cellules en culture (**de Wouters et al., 2014**).

Un des avantages considérables de cette approche est qu'elle est sans *a priori* et permet d'identifier des gènes candidats pour des fonctions d'intérêt sans même connaître les génomes bactériens dont ils sont issus.

Ces deux types d'approches visent à identifier les produits de l'expression des gènes du métagénome : ARNm, protéines et métabolites, pour comprendre comment ces derniers interagissent avec l'hôte. Ces approches, bien que plus lourdes à mettre en œuvre qu'une simple étude de

la composition du microbiote, sont indispensables sur le long terme pour comprendre les mécanismes d'interaction hôte- microbiote, mais aussi les relations entre espèces bactériennes du microbiote, et leurs effets sur le métabolisme et la physiologie de l'hôte.

4. Applications médicales :

Les approches de métagénomique, en apportant des connaissances fondamentales sur le fonctionnement du microbiote intestinal humain, et en permettant l'identification de signatures du microbiote associées avec des pathologies diverses, ont permis la mise au point de nouvelles approches préventives, diagnostiques ou thérapeutiques en médecine. Les profils microbiens spécifiques identifiés par des approches de métagénomique quantitative peuvent être utilisés directement pour le diagnostic des pathologies associées, ce qui pour certaines pathologies telles que la cirrhose du foie pourrait être une aide précieuse au diagnostic (**Qin et al, 2014**).

On sait aussi que l'efficacité de certaines thérapies cancéreuses dépend du microbiote du patient (**Dzutsev, 2015**), ce qui devrait conduire à un diagnostic d'efficacité potentielle avant traitement et une modulation du microbiote pour rendre le traitement plus efficace.

L'effet démontré de l'alimentation sur la composition et surtout sur la richesse du microbiote intestinal conduit actuellement à des recommandations diététiques générales à visée préventive, dont le message est simple : il faut consommer plus de fibres d'origine végétale et en diversifier les sources, et limiter l'apport de matières grasses saturées d'origine animale et de sucres raffinés pour favoriser l'établissement d'un microbiote intestinal riche. Par ailleurs le développement de pré- et pro-biotiques de seconde génération à visée préventive ou curative est une piste de recherche très sérieuse. On peut imaginer à terme des recommandations individuelles, pour l'alimentation comme pour la prise de pré/probiotiques, quand les relations entre microbiote individuel et hôte seront comprises plus en détail (**Derrien et al, 2016**).

Pour ce qui est de la guérison de pathologies, les transferts de microbiote sont actuellement pratiqués dans les cas d'infection chronique par *Clostridium difficile*, une bactérie multi-résistante aux antibiotiques, qui peut coloniser les intestins de patients lourdement traités avec des antibiotiques. Il s'agit de transférer à un patient affecté et débarrassé au préalable de son microbiote intestinal un microbiote (fécal) de sujet sain (**Mondot et Lepage, 2013**). Ces transferts de flore sont également envisagés pour le traitement de l'obésité. Dans le cas de *Clostridium difficile*, cette approche comporte un taux de succès élevé. Cependant, elle ne saurait être généralisée à toute pathologie, notamment des pathologies moins graves. Il est impératif d'évaluer

le risque de transférer un écosystème entier qui peut ne pas être adapté à son hôte et comporter, par exemple, des pathogènes silencieux chez le donneur qui pourraient s'exprimer chez le receveur. La

constitution de populations synthétiques constituées de bactéries connues pourrait être une solution, mais réclame une meilleure compréhension du fonctionnement de l'écosystème et de son dialogue avec l'hôte, que les approches de métagénomique pourront apporter.

Enfin, les approches de métagénomique fonctionnelle associées à l'étude de l'immunité de l'hôte, devraient permettre d'identifier les acteurs du dialogue moléculaire hôte-microbiote : espèces microbiennes, gènes, transcrits, protéines et métabolites de l'hôte et du microbiote impliqués dans les pathologies de l'hôte. Ces acteurs pourraient constituer un jour de nouvelles cibles pour la formulation de médicaments ou de vaccins. La modulation du microbiote intestinal individuel pour une action efficace des médicaments, notamment anti- cancéreux, devrait aussi être mise au point à l'avenir (Pitt et al, 2016).

5. 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.

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.

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 billions 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.

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.

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.

1. 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, 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.

1. 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.

2. 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.

3. 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.

4. 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.

5. 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 ont été 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 ($IMC < 23 \text{ kg/m}^2$) à des receveurs masculins atteints de syndrome métabolique ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$ et glycémie à jeun $> 5,6 \text{ mmol/L}$) sur la composition du microbiote du receveur et le métabolisme du glucose.

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.

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 réussie 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.

Conclusion :

Le développement récent de la biologie 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.

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

Référence bibliographique

1. **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
2. **Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T., et al., (2011).** *Nature*, (473), 174-180
Aziz Q., Doré J., Emmanuel A., Guarner F., Quigley E.M., (2013). *Neurogastroenterol. Motil.*, (25), 4-15
3. **B. Coffin, J. Moreau, V. Abitbol, S. Blum-Sperisen et J. Y. Mary. 2006.**
3. **Barbut, Frédéric, et Francisca Joly. (2010).** « Le microbiote intestinal : équilibre et dysbiose ». *Hépatogastro & Oncologie Digestive* 17 (6) : 511-20
4. **Bashiardes S., Zilberman-Schapira G., Elinav E., (2016).** *Bioinform. Biol. Insights*, (10) ,19-25
5. **Blottière H., de Vos W.M., Ehrlich S.D., Doré J., (2013).** *Curr. Opin. Microbiol.*, (16), 232-239
6. **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
7. **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.
8. **Calenge F., Martin C., Le Floch N., Phocas F., Morgavi D., et al, (2014),** *INRA Prod. Anim.*, (27), 209-222
Cho I., Blaser M.J., (2012), *Nat. Rev. Genet.*, (13), 260-270
9. **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.
10. **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.

11. **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
12. **Clemente J.C., Ursell L.K., Parfrey L.W., Knight R., (2012).** *Cell* (148), 1258-1270.
13. **Coudeyras S, Forestier C. Microbiota and probiotics: effects on human health. Can J Microbiol. (2010) Aug ; 56(8) :611-50. doi: 10.1139/w10-052.**
14. **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.
15. **De Wouters T., Ledue F., Nepelska M., Doré J., Blottière H.M., Lapaque N., (2014).** PLoS ONE, (9),
16. **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.
17. **Derrien M., Veiga P., (2016).** *Trends Microbiol.* (25) ,100-112
18. **Dzutsev A., Goldszmid R.S., Viaud S., Zitvogel L., Trinchieri G., (2015).** *Eur. J. Immunol.*, (45), 17-31
19. **Franzosa E.A., Morgan X.C., Segata N., (2014).** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (111), E2329-E2338
20. **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.
21. **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.
22. **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.

23. **Hopkins, Roy J., et Robert B. Wilson. 2018.** « Treatment of Recurrent Clostridium Difficile Colitis: A Narrative Review ». *Gastroenterology Report* 6 (1): 21-28.
24. **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.
25. **Le Chatelier E., Nielsen T., Qin J., Prifti E., Hildebrand F., Falony G., et al, (2013).** *Nature.*, (500):541-6.
26. **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>
27. **Li, J., Jia, H., Cai, X., Zhong, H., Feng, Q., Sunagawa, S., et al, (2014).** *Nat Biotechnol*, (32), 834-841.
- M. Bartelsman, Geesje M. Dallinga-Thie, Mariette T. Ackermans, Mireille J. Serlie, Raish Oozer, Muriel Derrien et Anne Druesne. 2012.** « Transfer of Intestinal Microbiota from Lean Donors Increases Insulin Sensitivity in Individuals with Metabolic Syndrome ». *Gastroenterology* 143 (4): 913-916.
28. **Marteau, P., M. Lémann, P. Seksik, D. Laharie, J. F. Colombel, Y. Bouhnik, G. Cadot, J. C.Soulé, A. Bourreille, E. Metman, E. Lerebours, F. Carbonnel, J. L. Dupas, M. Veyrac,**
29. **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.
30. **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.
31. **Mondot S., de Wouters T., Doré J., Lepage P., (2013).** *Dig. Dis.*, (31), 278-85
32. **Muniz, Luciana R., Camille Knosp, et Garabet Yeretssian. (2012).** « Intestinal Antimicrobial Peptides during Homeostasis, Infection, and Disease ». *Frontiers in Immunology* 3: 310.
33. **Pitt J.M., Vétizou M., Waldschmitt N., Kroemer G., Chamailard M., Boneca I.G., Zitvogel L., (2016).** *Cancer Res.*, (76), 4602-7
34. **Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, et al, (2014).** *Nature*, (513), 59-64

35. **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.
36. **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 : à systematic review ». *BMC Gastroenterology* 16 (juillet): 86.
37. **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.
38. **Vaghef-Mehrabany, Elnaz, Beitullah Alipour, Aziz Homayouni-Rad, Sakineh-Khatoun Sharif, Mohammad Asghari-Jafarabadi, et Sema Zavvari. 2014.** « Probiotic Supplementation Improves Inflammatory Status in Patients with Rheumatoid Arthritis ». *Nutrition* 30 (4): 430-35.
39. **Van Gossom, Andre, Olivier Dewit, Edouard Louis, Geert de Hertogh, Filip Baert, Fernand Fontaine, Martine DeVos, Marc Enslin, Marc Paintin et Denis Franchimont. 2007.**
40. **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.
41. **Vrieze, Anne, Els Van Nood, Frits Holleman, Jarkko Salojärvi, Ruud S. Kootte, Joep F. W.**
42. **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.
43. **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.