



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -  
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1  
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES  
FACULTE DE PHARMACIE DE LYON  
8, avenue Rockefeller – 69373 Cédex 08

Année 2012

Thèse n°02-2012

**MEMOIRE**  
**DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE**  
**BIOLOGIE MEDICALE**

**Travail effectué sous la direction de Mr le docteur Grégoire COZON**  
**du service d'immunologie clinique de l'hôpital Edouard Herriot**

SOUTENU DEVANT LE JURY INTERREGIONAL LE 14 FEVRIER 2012

PAR MR VINCENT BONAÏTI

NE LE 19 septembre 1975 à GAP

CONFORMEMENT AUX DISPOSITIONS DU DECRET N° 90-810 DU 10 SEPTEMBRE 1990,  
TIENT LIEU DE THESE

**THESE**  
**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**TITRE DU MEMOIRE**  
**IMPORTANCE DE LA FLORE MICROBIENNE INTESTINALE DANS LES**  
**PATHOLOGIES HUMAINES**

**JURY**

**PRESIDENT :**

**M. LE PROFESSEUR JACQUES BIENVENU**

**MEMBRES :**

**Mme LE PROFESSEUR MARTINE LAVILLE**  
**M. LE PROFESSEUR STEPHANE NANCEY**  
**M. LE PROFESSEUR GERARD LINA**  
**M. LE DOCTEUR GREGOIRE COZON**

## UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

Président de l'Université

M. A. BONMARTIN

Vice-Président du Conseil Scientifique

M. Jean-François MORNEX

Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

M. Daniel SIMON

### Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

#### SANTE

UFR de Médecine Lyon Est

Directeur : M. Jérôme ETIENNE

UFR de Médecine Lyon Sud Charles Mérieux

Directeur : M. François-Noël GILLY

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Directrice: Mme Christine VINCIGUERRA

UFR d'Odontologie

Directeur : M. Denis BOURGEOIS

Institut des Techniques de Réadaptation

Directeur : M. Yves MATILLON

Département de formation et centre de recherche en  
Biologie Humaine

Directeur : M. Pierre FARGE

#### SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Faculté des Sciences et Technologies

Directeur : M. Fabien DE MARCHI

Physiques et Sportives (STAPS)

Directeur : M. Claude COLLIGNON

Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon (ex ISTIL)

Directeur : M. Pascal FOURNIER

I.U.T. LYON 1

Directeur : M. Christian COULET

Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA)  
I.U.F.M.

Directeur : M. Jean Claude AUGROS

Directeur : M. Régis BERNARD

Septembre 2011

**UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1**

**ISPB - Faculté de Pharmacie Lyon**

**Directrice : Madame la Professeure Christine VINCIGUERRA**

**Directeurs Adjointes : Madame S. BRIANCON, Monsieur P. LAWTON, Monsieur P. NEBOIS  
Madame S. SENTIS, Monsieur M. TOD**

**Directrice Administrative : Madame P. SILVEIRA**

**LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES**

**DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE GALENIQUE**

• **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Jean-François SABOT (Pr)

Monsieur Alain BANNIER (MCU)

Monsieur Philippe BERNARD (MCU)

Mademoiselle Julie-Anne CHEMELLE (MCU)

Monsieur Raphaël TERREUX (MCU - HDR)

Monsieur Pierre TOULHOAT (PAST)

• **PHARMACIE GALENIQUE - COSMETOLOGIE**

Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)

Madame Françoise FALSON (Pr)

Monsieur Hatem FESSI (Pr)

Madame Joëlle BARDON (MCU - HDR)

Madame Valérie BERTHOLLE (MCU)

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (MCU - HDR)

Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)

Madame Ghania HAMDY-DEGOBERT (MCU)

Monsieur Fabrice PIROT (MCU - PH - HDR)

Madame Karine PORET-PADOIS (MCU)

Monsieur Patrice SEBERT (MCU - HDR)

• **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Richard COHEN (PU - PH)

Monsieur Henri DECHAUD (MCU - PH - HDR)

Madame Laurence HEINRICH (MCU)

Monsieur David KRYZA (MCU - PH)

Madame Sophie LANCELOT (MCU - PH)

Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (MCU)

**DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE**

• **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU - PH)

Mademoiselle Valérie SIRANYAN (MCU)

• **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU)

Monsieur Hans-Martin SPATH (MCU)

Madame Carole SIANI (MCU - HDR)

• **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)

Septembre 2011

- **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**  
Madame Joëlle GOUDABLE (PU - PH)
- **HYGIENE, ENVIRONNEMENT ET BIOSECURITE**  
Monsieur Dominique TREPO (MCU - PH - HDR)
- **DISPOSITIFS MEDICAUX**  
Monsieur Gilles AULAGNER (PU - PH)  
Monsieur Daniel HARTMANN(Pr)
- **QUALITOLOGIE - MANAGEMENT DE LA QUALITE**  
Madame Alexandra CLAYER-MONTEBAULT (MCU)  
Monsieur François COMET (MCU)  
Monsieur Vincent GROS (MCU PAST)  
Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)
- **MATHEMATIQUES - STATISTIQUES**  
Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU)  
Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)  
Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU - HDR)

#### **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT**

- **CHIMIE ORGANIQUE**  
Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)  
Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)  
Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)  
Madame Christelle MARMINON (MCU)  
Madame Sylvie RADIX (MCU - HDR)  
Monsieur Luc ROÇHEBLAVE (MCU)
- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**  
Monsieur Roland BARRET (Pr)  
Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)  
Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)  
Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU - HDR)  
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**  
Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)  
Madame Anne-Emmanuelle DE BETTIGNIES (MCU)  
Madame KERZAON Isabelle (MCU)  
Monsieur Serge MICHALET (MCU)
- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**  
Madame Roselyne BOULIEU (PU - PH)  
Madame Magali BOLON-LARGER (MCU - PH)  
Madame Céline PRUNET-SPANNO (MCU)  
Madame Catherine RIOUFOL (MCU - PH)

Septembre 2011

## DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**  
Monsieur Jérôme GUITTON (PU - PH)  
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)  
Madame Léa PAYEN (MCU - HDR)  
Monsieur Sylvain GOUTELLE (AHU)
- **PHYSIOLOGIE**  
Monsieur Christian BARRES (Pr)  
Monsieur Daniel BENZONI (Pr)  
Monsieur Alain BATAILLARD (MCU - HDR)  
Madame Kiao Ling LIU (MCU)  
Monsieur Ming LO (MCU - HDR)
- **PHARMACOLOGIE**  
Monsieur Bernard RENAUD (Pr)  
Monsieur Michel TOD (PU - PH)  
Monsieur Jean-Marie VAUGEOIS (Pr)  
Monsieur Luc ZIMMER (PU - PH)  
Madame Bernadette ASTIER (MCU - HDR)  
Monsieur Roger BESANCON (MCU)  
Madame Evelyne CHANUT (MCU)  
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)  
Madame Dominique MARCEL-CHATELAIN (MCU - HDR)  
Monsieur Olivier CATALA (Pr PAST)  
Monsieur Pascal THOLLOT (MCU PAST)

## DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**  
Monsieur Jacques BIENVENU (PU - PH)  
Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)  
Monsieur Paul ROUZAIRE (AHU)
- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**  
Madame Christine TROUILLOT-VINCIGUERRA (PU - PH)  
Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)  
Monsieur Olivier ROUALDES (AHU)
- **MICROBIOLOGIE et MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES**  
Monsieur Patrick BOIRON (Pr)  
Monsieur Jean FRENEY (PU - PH)  
Madame Florence MORFIN (PU - PH)  
Monsieur Didier BLAHA (MCU)  
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU)  
Madame Emilie FROBERT (AHU)  
Madame Marie-Andrée MAZOYER (MCU - HDR)  
Mme Véronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU)
- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**  
Madame Anne-Françoise PETAVY (Pr)  
Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)  
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU)  
Monsieur Philippe LAWTON (MCU - HDR)

Septembre 2011

## **DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B**

- **BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (Pr)  
Monsieur Alain PUISIEUX (Pr)  
Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)  
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU)  
Monsieur Bruno MATHIAN (MCU - PH - HDR)  
Madame Caroline MOYRET-LALLE (MCU - HDR)  
Madame Angélique MULARONI (MCU)  
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)  
Madame Marie VILLEDIEU (MCU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU)

### **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**

Monsieur Philippe LAWTON (MCU - HDR)  
Madame Angélique MULARONI (MCU)  
Monsieur Patrice SEBERT (MCU - HDR)  
Madame Valérie VOIRON (PAST)

### **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**

Mademoiselle Nathalie CARTISIER	85 <sup>ème</sup> section
Monsieur Waél ZEINYEH	86 <sup>ème</sup> section
Monsieur Antony ZOROPOGUI	87 <sup>ème</sup> section

**Pr : Professeur**

**PU-PH : Professeur Universitaire, Praticien Hospitalier**

**MCU : Maître de Conférences Universitaire**

**MCU-PH : Maître de Conférences Universitaire, Praticien Hospitalier**

**HDR : Habilitation à Diriger des Recherches**

**AHU : Assistant Hospitalier Universitaire**

**PAST : Personnel Associé Temps Partiel**

Septembre 2011

## REMERCIEMENTS

**Au président du jury,**

**Monsieur le professeur Jacques Bienvenu,**

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse.

Veillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et ma profonde gratitude.

**Aux membres du jury,**

**Madame le professeur Martine LAVILLE,**

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger parmi les membres du jury,

Veillez trouver ici le témoignage de ma plus haute considération

**Monsieur le professeur Gérard LINA,**

Je vous remercie de m'avoir conseillé pour ce travail,

Soyez assuré de ma grande estime

**Monsieur le professeur Stéphane NANCEY,**

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger parmi les membres du jury,

Veillez trouver ici le témoignage de ma plus haute considération

**Monsieur le docteur Grégoire COZON,**

Vous m'avez fait l'honneur de pouvoir réaliser cette thèse

Je vous remercie de votre gentillesse, de votre enthousiasme, votre patience et votre disponibilité.

Permettez-moi de vous témoigner mon profond respect et ma sincère reconnaissance.

## SOMMAIRE

<b>1</b>	<b>Liste des figures .....</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Liste des abréviations.....</b>	<b>9</b>
<b>4</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>13</b>
<b>5</b>	<b>Ecologie intestinale et méthodes d'étude.....</b>	<b>15</b>
5.1	Historique : .....	15
5.1.1	Des méthodes traditionnelles... : .....	15
5.1.2	A l'apparition des méthodes moléculaires .....	16
5.1.3	De la phylogénétique à la métagénomique .....	17
5.1.4	Les projets en cours : .....	18
5.2	Communautés bactériennes intestinales chez l'homme .....	18
5.2.1	Etablissement du microbiote chez l'Homme .....	18
5.2.1.1	De la naissance à l'équilibre .....	18
5.2.1.2	Facteurs influençant l'installation du microbiote.....	19
5.2.1.2.1	Les facteurs génétiques : .....	20
5.2.1.2.2	Les facteurs environnementaux : .....	21
5.2.1.2.2.1	Influence du mode d'accouchement : .....	21
5.2.1.2.2.2	Influence de la date du terme de la grossesse : .....	21
5.2.1.2.2.3	Influence de l'environnement : .....	22
5.2.1.2.2.4	Influence du mode d'alimentation : .....	22
5.2.1.2.2.5	Influence de l'antibiothérapie : .....	23

5.2.1.2.3	Facteurs n'influençant pas la colonisation intestinale : .....	23
5.2.2	Eubiose – Normobiose : composition du microbiote intestinal humain .....	24
5.2.2.1	Définitions.....	24
5.2.2.2	Spécificité anatomique du microbiote intestinal.....	24
5.2.2.2.1	Axe longitudinal .....	25
5.2.2.2.2	Axe radial .....	25
5.2.2.3	Composition du microbiote humain à partir de l'étude des selles .....	26
5.2.2.3.1	Flore bactérienne : .....	26
5.2.2.3.2	Les <i>Archaea</i> :.....	31
5.2.2.3.3	Les eucaryotes : .....	33
5.2.2.3.4	Les virus .....	35
5.2.2.3.5	Notion de noyau du microbiome humain (core human microbiome) ....	35
5.2.2.4	Composition du microbiote bactérien suivant l'anatomie du tractus intestinal	37
5.2.2.4.1	Axe longitudinal : .....	37
5.2.2.4.2	Axe radial .....	38
5.2.2.5	Homéostasie du microbiote.....	38
5.2.3	Variations au cours de la vie et des conditions physiologiques .....	39
5.2.3.1	Microbiote et ménopause .....	39
5.2.3.2	Microbiote et âges extrêmes : .....	41
5.2.4	Notion de microbiome.....	42
5.3	Fonctions du microbiote intestinal humain .....	44

5.3.1	Fonctions métaboliques .....	44
5.3.1.1	Dégradation et fermentation des polysaccharides.....	44
5.3.1.1.1	Métabolisme des polysaccharides par le microbiote humain .....	45
5.3.1.1.2	Métabolisme des protéines .....	47
5.3.1.2	Régulation et stockage .....	47
5.3.2	Prévention contre la colonisation d'agents infectieux.....	49
5.3.3	Maintien de l'intégrité et développement de la structure intestinale .....	51
5.3.4	Rôle dans l'immunité : Immunomodulation .....	51
5.3.5	Interconnexions des fonctions .....	54
<b>6</b>	<b>Dysbioses et pathologies.....</b>	<b>55</b>
6.1	Dysbiose et pathologies métaboliques .....	55
6.1.1	Obésité.....	55
6.1.1.1	Le microbiote intestinal dans l'obésité .....	56
6.1.1.2	Mécanismes.....	59
6.1.1.2.1	Mécanismes d'inflammation de bas grade .....	59
6.1.1.2.2	Mécanismes métaboliques sur la régulation des graisses .....	61
6.1.1.2.3	Rôle du système nerveux entérique. ....	61
6.1.1.2.4	Augmentation du système endocannabinoïde .....	62
6.1.1.3	Conclusions :.....	62
6.1.2	Diabète de type II .....	63
6.1.3	Diabète de type I .....	64
6.2	Dysbiose et maladies intestinales .....	67

6.2.1	Maladies inflammatoires chroniques intestinales :	67
6.2.1.1	Bactéries entéropathogènes et MICI	68
6.2.1.2	Le microbiote intestinal dans la MICI	70
6.2.1.3	Facteurs affectant le microbiote intestinale	73
6.2.2	Syndrome de l'intestin irritable	75
6.2.3	Maladie cœliaque	76
6.2.3.1	Le microbiote intestinal dans la maladie cœliaque :	77
6.2.3.2	Interactions avec le système immunitaire et perspectives	79
6.3	Dysbiose et allergies	80
6.4	Dysbiose et pathologies rhumatismales	82
6.5	Dysbiose et pathologies neurologiques	85
6.5.1	Sclérose en plaque	85
6.5.2	Maladie de Parkinson	86
6.5.3	Autisme	86
6.6	Dysbiose et cancer colorectal	87
6.6.1	Le microbiote intestinal dans le cancer colorectal (CRC) :	88
6.6.2	Mécanismes	90
6.6.3	Conclusion	91
6.7	Autres pathologies	91
<b>7</b>	<b>Perspectives</b>	<b>93</b>
7.1	Diagnostics	93
7.2	Traitements	95

7.2.1	Prébiotiques .....	95
7.2.2	Probiotiques.....	95
7.2.3	Antibiotiques .....	98
7.2.4	Transplantation fécale .....	98
7.2.4.1	Choix des patients .....	98
7.2.4.2	Choix des donneurs.....	99
7.2.4.3	Voie d'administration .....	99
7.2.4.4	Préparation du patient avant transplantation.....	99
7.2.4.5	Préparation des selles .....	100
7.2.4.6	Résultats cliniques .....	100
7.2.4.7	Résultats sur la composition des selles après transplantation.....	100
7.2.4.8	Conclusions.....	101
<b>8</b>	<b>Conclusions .....</b>	<b>102</b>
<b>9</b>	<b>Bibliographie.....</b>	<b>104</b>

## 1 Liste des figures

Figure 1 : Profil phylogénétique du microbiome humain d'après Arumugam, 2011 .....	27
Figure 2 : Arbre phylogénétique des groupes IX et XIVa du phylum des Firmicutes d'après Duncan, 2007. ....	28
Figure 3 : Arbre phylogénétique basé sur 1500 nucléotides par ARNr 16S des Actinobactéries d'après Ventura et al, 2007 .....	30
Figure 4 : Rôle des <i>Archea</i> au sein du microbiote intestinal.....	32
Figure 5 : Arbre phylogénétique des eucaryotes. En rouge, les espèces pouvant se retrouver dans l'intestin des vertébrés, en orange chez les invertébrés et les jaunes les espèces ne se retrouvant jamais chez l'Homme. D'après Parfrey et al, 2010. ....	34
Figure 6 : Abondance relative des 57 génomes bactériens les plus fréquents rencontrés chez au moins 90% des individus de la cohorte d'après Qin, 2010. ....	36
Figure 7 : Phylums majeurs tout le long du tractus gastro-intestinal d'après Marchesi, 2011	37
Figure 8 : Composition des phylums des microbiotes intestinaux des personnes âgées (A) et jeunes (B) d'après Claesson et al, 2011 .....	42
Figure 9 : 30 fonctions les plus abondantes d'après Arumugam, 2011 .....	43
Figure 10 : Dégradation et fermentation des polysaccharides par le microbiote humain .....	46
Figure 11 : Interconnexions des fonctions du microbiote intestinal.....	54
Figure 12 : Relation entre le BMI et la mortalité chez l'homme et la femme de 50 ans sains et non-fumeurs d'après Adams et al, 2006 .....	55
Figure 13 : Proportion moyenne des 11 genres bactériens les plus abondants entre les sujets diabétiques et sains d'après Brown <i>et al</i> , 2011. ....	66
Figure 14 : Proportion moyenne de 4 groupes de fonctions entre diabétiques et sains d'après Brown <i>et al</i> , 2011 .....	66
Figure 15 : Facteurs influençant le déclenchement par le microbiote intestinal .....	74

Figure 16 : Le microbiote intestinal favorise l'inflammation et la néoplasie dans le colon  
d'après Arthur et Jobin, 2011..... 90

## 2 Liste des tableaux

Tableau I : Principales publications sur la dysbiose et les maladies inflammatoires de l'intestin .....	72
Tableau II : Principales publications récentes sur l'exploration du microbiote intestinale dans la maladie cœliaque. ....	78
Tableau III: Principales publications sur la dysbiose dans l'allergie et l'asthme.....	81
Tableau IV : Principales publications sur la dybiose et le cancer colorectal .....	89

### 3 Liste des abréviations

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AGCC: Acide Gras Chaîne Courte

AIEC: Adhérent-Invasif *Escherichia coli*

AMPK: Activated Protein Kinase

Anticorps anti-CCP: Anticorps anti-peptides cycliques citrullinés

Anticorps anti-Omp: Anticorps anti Outer Membrane Protein

ASCA: Antibody anti *Saccharomyces cerevisiae*

ATG16L1: Autophagy Related protein 16-like 1

BMI : Body Mass Index

CB1 mRNA : Acide ribonucléique messenger du récepteur cannabinoïde 1

CD: Cluster of Differentiation

CEACAM6: Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6

CFU : Colony Forming Unit

CMH: Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CMV: Cytomégalovirus

CRC: Cancer Colo-Rectal

DGGE: denaturing gradient gel electrophoresis

DID : Diabète Insulino-Dépendant

DNID : Diabète Non Insulino-Dépendant

EBV: Epstein - Barr virus

eCB: enDocannaBinoïde

Fiaf: Fast-Induced Adipocyte Factor

FISH: Fluorescent In Situ Hybridation

FMF : Fièvre Méditerranéenne Familiale

Gene NOD2: Nucleotide oligomerization domain 2

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

Gpr: G Protein Récepteur

HIV: Human Immunodeficiency Virus

HLA: Human Leukocyte Antigen

HMP: Human Microbiome Project

HTLV: Human T-lymphotropic Virus

IHMC: International Human Microbiome Consortium

IL : Interleukine

INF: Interferon

INRA : Institut Scientifique de Recherche Agronomique

JNK: c-Jun NH2-terminal kinase

LP : *lamina propria*

Lpl: Lipoprotéine lipase

LPS: Lipopolysaccharide

LTh: Lymphocyte T Helper

LTreg: Lymphocyte T regulator

MAP: *Mycobacterium avium paratuberculosis*

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase

MC: Maladie de Crohn

MetaHIT: Metagenomics of the Human Intestinal Tract

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales

NF- $\kappa$ B: Nuclear Factor-kappa B

NIH: National Institute of Health

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

pANCA: perinuclear Antineutrophilic Cytoplasmic Antibody

PCR: polymerase chain reaction

PEG : polyéthylène glycol

PR : Polyarthrite rhumatoïde

PSA: Polysaccharide A

RCH : Rectocolite Hémorragique

SAA : Serum Amyloid A

SEP : Sclérose En Plaque

SII: Syndrome de l'Intestin Irritable

SNE : Système nerveux entérique

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

Souris NOD : Non Obèse et Diabétique

TGF- $\beta$ 2: Transforming Growth Factor-beta 2

THS: Traitement hormonal substitutif

TI: Tractus Intestinal

TLR: Toll Like Receptor

TMA: triméthylamine

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

TNF: Tumor Necrosis Factor

ZO-1: Zonula Occludens 1

## 4 Introduction

Dès la naissance, le corps humain est colonisé de l'extérieur (peau et muqueuses) mais aussi de l'intérieur (sphère ORL, tube digestif) par un ensemble de bactéries, parasites ou virus. Historiquement, ces organismes ont d'abord été considérés comme pathogènes et étudiés comme tels. Cependant et assez récemment, l'hypothèse d'un rôle bénéfique des microorganismes a été avancée. De plus, il s'est avéré que l'ensemble du génome humain n'était pas capable de subvenir aux besoins de l'Homme et la voie la plus rapide pour un organisme pour posséder d'autres facultés est d'acquérir les gènes nécessaires à partir d'un autre organisme. A l'inverse, des bactéries qui peuvent transférer leurs gènes horizontalement, les eucaryotes multicellulaires forment des associations symbiotiques avec d'autres organismes qui apportent les gènes nécessaires, permettant une extension rapide de leurs capacités phénotypiques. Comme l'a cité, dès le XVII<sup>ème</sup> siècle dans « Le Lion et le Rat », Jean de la Fontaine « On a souvent besoin de plus petit que soi ».

Au niveau du tractus intestinal, la communauté bactérienne est estimée à  $10^{14}$  bactéries et est composée de plus de 1000 espèces différentes (Eckburg *et al*, 2005). Cette communauté appelée anciennement flore (ou microflore) intestinale est dorénavant nommé microbiote. A l'âge adulte chez des sujets sains, ce microbiote est considéré comme équilibré, c'est l'eubiose. Cependant l'intérêt porté au microbiote intestinal dans diverses maladies intestinales ou extra-intestinales a fortement augmenté. Les progrès des techniques moléculaires ainsi que de la bio-informatique ont permis de décrire plus précisément cette communauté bactérienne intestinale et ses variations, appelées dysbiose, dans des pathologies.

Cette thèse bibliographique portera dans une première partie sur l'évolution de la composition du microbiote intestinal du nouveau-né jusqu'à l'âge extrême de la vie, mais aussi sur les fonctions biologiques que le microbiote apporte à son hôte. Puis, dans une

deuxième partie, il sera fait un point sur les récentes découvertes où la dysbiose est mise en cause dans la survenue de certaines pathologies métaboliques, auto-immunes, inflammatoires ou cancéreuses. Deux pathologies seront plus particulièrement étudiées, l'obésité et les maladies inflammatoires de l'intestin, la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Enfin, les perspectives seront abordées rapidement dans une troisième partie, perspectives à la fois sur l'exploration du microbiote intestinal et les différents projets qui sont menés mais aussi thérapeutiques, avec les prébiotiques, probiotiques, antibiotiques et la transplantation fécale.

## 5 Ecologie intestinale et méthodes d'étude

### 5.1 Historique :

#### 5.1.1 Des méthodes traditionnelles... :

La recherche sur la flore bactérienne intestinale a été initiée à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, mais ce n'est que vers le début des années 1960 que l'intérêt a grandi (Savage, 2001). Dès la fin des années 70, il a été estimé que cette flore contenait 10 fois plus de cellules procaryotes (la plupart bactérienne) que de cellules (eucaryotes) du corps humains (Savage, 1977). Les premières estimations de la composition de la flore microbienne ont été tirées des techniques traditionnelles de bactériologie telles que la culture, la microscopie et l'étude de la fermentation des sucres des bactéries isolées de selles humains (Holdeman *et al*, 1972; Moore *et al*, 1974; Moore *et al*, 1978; Finegold *et al* 1978). L'intérêt de la composition de cette flore était alors l'identification d'agents pathogènes responsables de diarrhées infectieuses (*Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* enterotoxinogène...). Rapidement, il est apparu que le microbiote (la communauté bactérienne) intestinal possédait d'autres rôles tels que la protection des cellules épithéliales intestinales, la régulation du stockage des graisses mais aussi une interaction avec le système immunitaire et donc potentiellement responsable de pathologie humaine. Cette prise de conscience a été le point de départ de très nombreuses études durant ces 10 dernières années. L'avènement des techniques moléculaires a permis de faciliter mais aussi de compléter la composition cette flore, en effet une proportion estimée à environ 80% de germes intestinaux étant non cultivables (Eckburg *et al*, 2005).

### 5.1.2 ... A l'apparition des méthodes moléculaires

En effet, dès la fin des années 1980, Carl Woese révéla qu'une petite sous unité ribosomale (ARN16s dans le cas des bactéries) contenait des régions de séquences nucléotidiques qui sont hautement conservées et qu'elles sont entrecoupées de régions hypervariables (Woese, 1987). Ces régions hypervariables contiennent la signature du groupe et de l'espèce phylogénétique. Grâce au développement de ces techniques, mais aussi à la prise de conscience que la santé humaine dépendait de la flore qui se trouve à l'extérieur et à l'intérieur du corps humain, l'étude de la microbiologie intestinale a connu une renaissance dans la dernière décennie.

Les premières études moléculaires ont combiné la PCR (polymerase chain reaction) et une méthode d'électrophorèse en gel couplée avec un gradient dénaturant (DGGE, denaturing gradient gel electrophoresis), ce qui a permis de comparer les microbiotes intestinaux (Zoetendal *et al*, 1998). Puis, une technique d'hybridation (FISH, Fluorescent In Situ Hybridation) a permis de détecter environ 32 espèces différentes de bactéries intestinales (Franks *et al*, 1998). Cette dernière technique possède une très bonne spécificité mais il faut connaître dans un premier temps les séquences que l'on veut observer pour pouvoir choisir les amorces. Cette première évaluation de la flore a permis de constater que la famille des *Bacteroidetes* et celle des *Firmicutes* (*clostridium*) constituaient pour plus de la moitié du microbiote. Une autre approche a été d'observer directement les produits biochimiques du métabolisme microbien par spectrométrie de masse (Wickoff *et al*, 2009). Cette méthode n'est utilisée qu'en complément de techniques traditionnelles de séquençages.

La première tentative pour déchiffrer la diversité du microbiote intestinal revient à un groupe de scientifiques de l'université de Stanford qui a créé un programme d'analyse des produits de séquençages (Eckburg *et al*, 2005). Cette analyse a été réalisée sur 13 355 séquences de gènes de procaryotes du tissu muqueux et des selles de 3 adultes sains. Les résultats ont montré que

sur 13 355 séquences, 11 831 appartenaient aux bactéries (395 espèces phylogénétiquement différents) et 1 524 aux *Archea* (1 seule espèce : *Methanobrevibacter smithii*). Sur les 395 espèces bactériennes, 301 font parties de la famille des *Firmicutes* et 65 des *Bacteroides*. Ces résultats ont été confirmés par une étude de cohorte (Quin *et al*, 2010) sur 124 échantillons de selles humains qui a révélé la présence de 1000 à 1150 espèces différentes dans le pool de selles et au moins 160 espèces différentes dans chaque selles.

### 5.1.3 De la phylogénétique à la métagénomique

Mais, il s'est avéré que l'étude phylogénétique ne répondrait pas à toutes les questions. Après la découverte de la totalité du génome humain, Julian Davies indiquait que le décodage du génome humain n'était pas suffisant pour comprendre la biologie humaine car la flore microbienne affectait de façon importante la vie humaine (Davies, 2001). En effet, il prédit que ces bactéries pourraient être porteuses de 2 à 4 millions de gènes non caractérisés additionnés aux 30 000 gènes humains. Quelques mois plus tard, Reldan and Folkow appellent à réaliser un second projet sur le génome humain pour entreprendre une étude métagénomique des communautés bactériennes de la bouche, du tractus intestinal, de l'appareil reproducteur et de la peau (Reldan, 2002). Dans un même temps, Handelsman invente le terme métagénome (Handelsman, 2001) et Joshua Lederberg (Lauréat du prix Nobel) le terme de microbiome (Lederberg et McCray, 2001). Ces 2 termes désignent l'ensemble du génome de tous les membres de la communauté bactérienne.

#### 5.1.4 Les projets en cours :

En novembre 2005, l'institut scientifique de recherche agronomique (INRA) tient un meeting international à Paris pour discuter d'une large investigation sur le microbiome humain ce qui amènera à la formation de l'International Human Microbiome Consortium (IHMC) (Peterson *et al*, 2009). Ce projet de recherche est nommé le « MetaHIT » (Metagenomics of the human intestinal Tract, [www.matahit.eu](http://www.matahit.eu)).

Après le meeting de Paris, le NIH (National Institute of Health) localisé aux Etats Unis ont officiellement lancé le HMP (Human Microbiome Project) en 2007 pour étudier au minimum 4 microbiotes dont celui du tractus intestinal) (Turnbaugh *et al*, 2007 ; Peterson *et al*, 2009). Le but de l'HMP est de séquencer 1000 nouveaux génomes bactériens que l'on retrouve communément dans le tractus intestinal humain et de séquencer la totalité du microbiome humain chez 250 individus sains dans les 5 ans (2009 à 2014).

## 5.2 Communautés bactériennes intestinales chez l'homme

### 5.2.1 Etablissement du microbiote chez l'Homme

Le microbiote intestinal étant responsable sur de nombreux aspects de la santé humaine, il est important de comprendre comment la composition de cette flore écologique s'établie.

#### 5.2.1.1 De la naissance à l'équilibre

A la naissance, le tractus intestinal est stérile. Rapidement (quelques heures), les bactéries commencent à apparaître dans les selles. La colonisation bactérienne, pendant les premiers jours de vie de l'enfant, dépend principalement de la flore de la mère (vaginale et fécale) et de l'environnement. Cependant, la flore fécale maternelle apparaît être le déterminant essentiel

des premières bactéries s'implantant chez l'enfant, les nouveau-nés étant colonisés plutôt par des entérobactéries et des bifidobactéries que par des lactobacilles (Campeotto et al, 2007).

Malgré les différences observées entre les études, liées aussi bien aux techniques bactériologiques mises en œuvre qu'aux variations interindividuelles ou géographiques, un schéma général d'implantation se dégage. L'environnement intestinal des nouveau-nés montrant un potentiel oxydatif supérieur au pouvoir réducteur, le tractus intestinal (TI) est colonisé en premier par une flore aérobie composée d'entérobactéries (principalement *Escherichia coli*), d'entérocoques et de staphylocoques. Au fur et à mesure, la consommation de l'oxygène par ces bactéries qui atteignent  $10^9$  à  $10^{10}$  ufc (unités formant colonie)/g change l'environnement du TI en un milieu réducteur permettant la croissance de bactéries anaérobies strictes (*Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides*) (Bezirtzoglou, 1997). Le nouveau-né est ensuite continuellement exposé à de nouvelles bactéries provenant de l'environnement, de la nourriture et des bactéries cutanées de l'adulte. Vers l'âge d'un mois, la flore intestinale présente une majorité de bifidobactéries chez tous les enfants, ainsi que la présence d'*E.coli* et *B. fragilis*, la présence de lactobacilles et de *C. difficile* est moins constante. Une flore complexe et stable, proche de celle de l'adulte, semble obtenue entre l'âge de 2 à 4 ans (Campeotto et al, 2007).

#### 5.2.1.2 Facteurs influençant l'installation du microbiote

Les éléments pouvant influencer la cinétique d'installation et la composition de ce microbiote sont nombreux. Ces facteurs peuvent être classés en 2 types, les facteurs génétiques et les facteurs environnementaux.

#### 5.2.1.2.1 Les facteurs génétiques :

La première publication qui a démontré l'influence de la génétique sur le microbiote intestinal a été publiée par Toivanen et al en 2000. Cette étude a extrapolé la composition de la flore en déterminant par chromatographie en phase gazeuse le profil en acide gras dans les selles de souris congéniques élevées dans des conditions identiques et présentant ou non un même complexe majeur d'histo-compatibilité (CMH). Les résultats obtenus ont indiqué que le CMH avait clairement une contribution sur la composition de la communauté microbienne, cependant, l'auteur ajoute que d'autres gènes seraient susceptibles de modifier le microbiote (Toivanen et al, 2000). Plus récemment, une expérimentation sur des prélèvements caecaux sur souris consanguines a montré que les microbiotes intestinaux étaient plus semblables entre ces animaux qu'entre ceux des animaux non consanguins. Cette étude réalisée en obtenant les profils caecaux par DGGE démontre le lien entre les gènes et le microbiote. Par contre, deux populations de souris consanguines mais élevées chez deux vendeurs différents, ne présentaient pas la même flore, ce qui prouve que les facteurs environnementaux ont aussi un rôle important dans la composition du microbiote (Hufeldt et al, 2010). Une étude à grande échelle (n=645) sur des selles de souris analysées par pyroséquençage a permis de confirmer ces résultats. En effet, il a pu être défini un noyau du microbiote composé de 64 groupes taxonomiques différents qui varie quantitativement à travers la plupart des animaux dans la population. Puis, ce noyau a été comparé avec 530 SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Il en est ressorti que 18 locus de caractères quantitatifs montrés un lien significatif avec l'abondance de certains taxons bactériens (Benson et al, 2010).

Il est donc certain que la génétique quantitative apparaît comme une approche fortement prometteuse qui peut être utilisée pour mieux comprendre l'influence génétique hôte sur le microbiote et découvrir des gènes hôtes supplémentaires contrôlant la diversité microbienne dans le tractus intestinal.

#### 5.2.1.2.2 Les facteurs environnementaux :

Une étude hollandaise a analysé par PCR en temps réel 1032 selles d'enfants âgés de plus de 3 semaines et de moins de 6 semaines ce qui permis d'estimer la flore suivant des facteurs précis (mode d'accouchement, régime alimentaire de la mère et de l'enfant, antibiothérapie (Penders *et al*, 2006).

##### 5.2.1.2.2.1 Influence du mode d'accouchement :

Une étude du département de biologie de Puerto Rico a montré que de la composition du méconium prélevé dans les premières 24 heures était déjà très différent entre un nouveau-né accouché par césarienne ou par voie basse. Les enfants nés par voie basse présentaient une flore proche de la flore vaginale de leurs mères (*Lactobacillus*, *Prevotella*) alors que les enfants nés par césarienne présentaient une communauté bactérienne proche de celle de la peau (*Staphylococcus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium*) (Domingoz-Bello *et al*, 2010).

Chez le nouveau-né âgé d'un mois, la différence de composition est toujours importante, l'accouchement par césarienne est associé à une plus faible colonisation par des bifidobactéries et *Bacteroides fragilis* et à une plus forte colonisation par des *Clostridium difficile* (Penders *et al*, 2006 ; Biasucci *et al*, 2010).

##### 5.2.1.2.2.2 Influence de la date du terme de la grossesse :

Chez les nouveau-nés prématurés, deux observations ont pu être mises en évidence. D'une part, un retard de colonisation important par rapport aux enfants arrivés à terme ainsi qu'un nombre réduit d'espèces bactériennes (Magne *et al*, 2005 ; Westerbeek *et al*, 2006). Si la flore aérobie colonise assez rapidement le prématuré, la flore anaérobie (*Bifidobacterium* et *Bacteroides*) est retardée. Ce retard d'implantation peut s'expliquer par le fait que les enfants plus fréquemment nés par césarienne, sont rapidement séparés de leurs mères et placés dans un environnement de soins intensifs très aseptisé et fréquemment soumis à une

antibioprophylaxie à large spectre. D'autre part, il a été observé une colonisation considérablement plus importante en fréquence mais aussi en quantité de *Clostridium difficile* (Penders *et al*, 2006).

Enfin, une étude sur l'entérocolite nécrosante, pathologie survenant chez 5-10% des prématurés de moins de 1,5 kilogramme, montre une association entre la présence dans les selles de certaines entérobactéries (*Klebsiella*, *Citrobacter* et *Tatumella*) et l'entérocolite. Cette étude a été réalisée dans la phase précoce de l'entérocolite nécrosante (marqueurs inflammatoires encore négatifs et clinique asymptomatique), ce qui pourrait être une voie pour prévenir cette pathologie (Carlisle *et al*, 2011).

#### 5.2.1.2.2.3 Influence de l'environnement :

L'environnement joue un rôle important dans la colonisation intestinale. Certaines études ont mis en évidence une colonisation par les bifidobactéries plus fréquentes et à un niveau plus important chez les enfants nés dans les pays en voie de développement (Campeotto *et al*, 2007). Ces différences au niveau du microbiote sont vraisemblablement liées aux conditions plus strictes d'hygiène dans les pays industrialisés.

#### 5.2.1.2.2.4 Influence du mode d'alimentation :

La flore qui s'implante chez le nouveau-né allaité est moins diversifiée que celle d'un nouveau-né nourri au lait artificiel. La différence la plus notable est la colonisation dominante avec le genre *Bifidobacterium* chez le nouveau-né allaité. Parallèlement, l'implantation des entérobactéries, mais surtout des *Clostridium* et des *Bacteroides* est retardée et/ou se fait à un niveau moins élevé. En revanche, dès la fin de l'allaitement, ou l'instauration d'une alimentation mixte, la flore prend rapidement un profil de flore de nouveau-né nourris au lait artificiel. De nombreux travaux ont recherché les composants du lait responsables de cette colonisation dominante du genre *Bifidobacterium*, mais ce n'est que tardivement que l'on

s'est intéressé aux oligosaccharides (3<sup>ème</sup> constituants quantitativement du lait maternel). En raison de leur structure, ils ne sont pas hydrolysés et donc non assimilés et peuvent jouer leurs rôles de facteurs bifidogènes (Coppa *et al*, 2004).

Enfin et étrangement, *Clostridium difficile* colonise plus fréquemment et en plus grand nombre les enfants nourris par du lait maternel (Penders *et al*, 2006), mais ce portage dans la petite enfance reste dans la majorité des cas asymptomatique.

#### 5.2.1.2.2.5 Influence de l'antibiothérapie :

L'administration orale d'antibiotiques (principalement l'amoxicilline) mais aussi d'antifongiques (le miconazole) à l'enfant pendant le premier mois de vie a montré une diminution du nombre de *Bifidobacterium* et de *Bacteroides fragilis* (Penders *et al*, 2006).

De plus, l'antibiothérapie chez la femme *per partum* (surtout pour la prévention du risque d'infection néonatale par le Streptocoque du groupe B) a montré une augmentation des infections néo natales par des bactéries résistantes à l'antibiotique (Stoll *et al*, 2002).

#### 5.2.1.2.3 Facteurs n'influençant pas la colonisation intestinale :

D'autres facteurs ont été étudiés, mais aucune corrélation n'a pu être trouvée avec la colonisation bactérienne dans la rupture des membranes amniotiques arrivant plus de 24 heures avant la délivrance, la saison de l'accouchement, la prise ou non d'antibiothérapie par la mère pendant la grossesse (à l'exception du traitement avant l'accouchement chez les femmes porteuses de *Streptococcus agalactiae*) et la survenue d'une fièvre chez l'enfant. De plus, l'âge et le sexe de l'enfant n'influencent pas le microbiote (Penders, 2006).

## 5.2.2 Eubiose – Normobiose : composition du microbiote intestinal humain

### 5.2.2.1 Définitions

Le terme d'eubiose a été employé pour la première fois en 1966 et opposé à la dysbiose (Zawodsky, 1966). Ces deux termes se rapportent à l'équilibre du microbiote ; on parle d'eubiose quand l'hôte est sain et de dysbiose dans les situations pathologiques (Corthier et Doré, 2010).

Le microbiote intestinal a été étudié majoritairement sur des prélèvements de selles, représentatif du contenu de la partie terminale du colon, cependant d'autres études ont analysé des biopsies prélevées tout au long du tractus intestinal. Après un rappel sur la spécificité anatomique du TI, la composition microbiologique au niveau des selles sera abordée puis au niveau du mucus et de la lumière intestinal.

La diversité du microbiote intestinal humain commençant juste à être révélée grâce aux techniques de séquençage à haut-débit, cette partie se veut être une mise à jour des connaissances mais de nombreux points restent à découvrir.

### 5.2.2.2 Spécificité anatomique du microbiote intestinal

Dans le tractus intestinal humain, la distribution spatiale du microbiote s'étend selon deux axes, l'un longitudinal (de la cavité orale jusqu'au rectum) et l'autre radial (de la lumière intestinale jusqu'à la couche du mucus en contact avec les cellules épithéliales).

#### 5.2.2.2.1 Axe longitudinal

La densité de bactéries augmente tout le long du tractus intestinal humain si on excepte la cavité orale.

Au niveau de l'estomac, la densité bactérienne est de  $10^{2-3}$  cellules/mL. Cette densité reste relativement faible tout le long du tractus intestinal proximal :  $10^{3-4}$  cellules/mL dans le duodénum,  $10^{4-5}$  cellules/ml dans le jéjunum et  $10^{6-8}$  cellules/ml dans l'iléon.

Cette faible densité peut-être expliquée par le faible pH gastrique, le flux luminal rapide qui limite la croissance bactérienne, les acides biliaires qui sont sécrétés dans le duodénum et qui possèdent un fort pouvoir bactéricide et la sécrétion d'immunoglobulines de type A (IgA) qui limitent la pénétration des bactéries dans le mucus et donc augmentent l'élimination des bactéries par péristaltisme. Enfin, de nombreux antimicrobiens synthétisés par les cellules épithéliales exercent leurs actions sélectivement sur différentes bactéries.

A l'inverse, au niveau du tractus intestinal distal, les propriétés du colon permettent la prolifération bactérienne (pH neutre, faible concentration d'acide biliaire, temps rétention plus long...). La densité peut excéder  $10^{11}$  cellules/mL. Cette population bactérienne n'est pas capable de remonter jusqu'à l'iléon du fait de la présence de la valve ileocaecal qui limite le reflux (Walter and Ley, 2011).

#### 5.2.2.2.2 Axe radial

L'organisation radiale pourrait permettre la détermination d'espèces résidentes étroitement liées à la couche du mucus elle-même étroitement liée aux cellules épithéliales intestinales, alors que des espèces transitoires sont localisées dans la lumière intestinale et se retrouvent au niveau des selles. L'anatomie du TI contient d'importantes variations locales qui peuvent fournir des niches pour les espèces résidentes. Chez l'Homme, le petit intestin et le colon proximal contiennent des plis circulaires ou semi-circulaires (*plicae circularis* ou *plicae*

*semilunaris*) qui se projettent dans la lumière intestinale et sont perpendiculaires au sens du courant fécal. Leurs rôles ne sont pas encore clairement connus (ralentir le transit intestinal) mais ils présentent des niches écologiques (Nava et Stappenbeck, 2011).

### 5.2.2.3 Composition du microbiote humain à partir de l'étude des selles

La connaissance sur la composition et les fonctions du microbiome humain s'accroît de jour en jour, mais les travaux sont basés sur de faibles cohortes et peu d'études ont été réalisées sur les variations des microbiomes à travers le monde. Cependant, une étude récente sur les selles de 22 sujets européens, 13 japonais et 2 américains tous sains a permis de déterminer les phylums majoritaires pays et continents indépendants (Arumugam M *et al*, 2011).

La grande majorité de ces séquences appartiennent aux bactéries (92.76%), puis arrivent les séquences des virus (5.8%), *Archea* (0.8%), eucaryotes (0.5%) et seulement 0,14% des séquences ont été classées comme contamination humaine.

#### 5.2.2.3.1 Flore bactérienne :

La composition phylogénétique des séquences à montrer que les phylums des *Firmicutes* et des *Bacteroidetes* constituent la majorité (environ 40% pour chacun des phylums) du microbiote intestinal humain (Figure 1), le troisième phylum est celui des Actinobactéries qui représente moins de 10% du microbiote. Cela confirme l'étude réalisée par Qin *et al* en 2010 sur l'analyser Illumina Genome qui comprenait 124 échantillons de selles d'Hommes sains, en surpoids, obèses ou présentant une maladie inflammatoire de l'intestin.

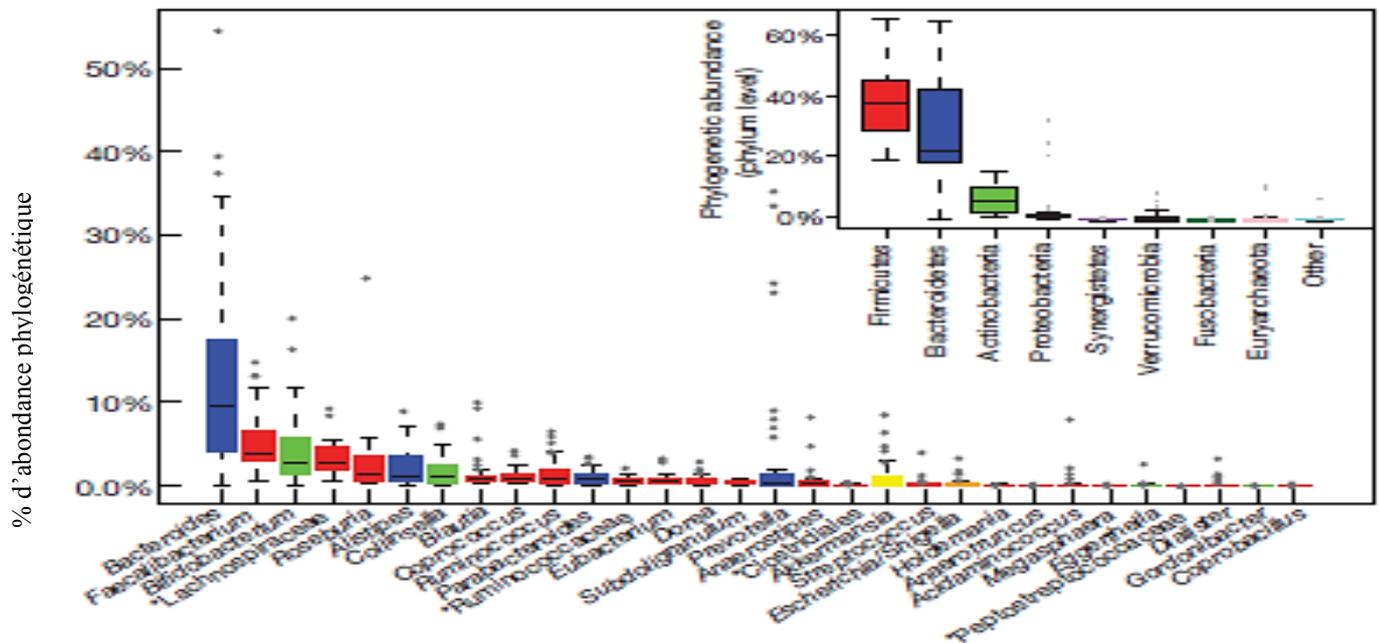


Figure 1 : Profil phylogénétique du microbiome humain d'après Arumugam, 2011

🚩 Phylum des *Firmicutes* :

Les *firmicutes* sont des bactéries gram positives présentant un faible pourcentage de base G+C (moins de 50%) et ils constituent l'un des principaux phylums des bactéries. Leur diversité est très importante que ce soit sur leurs formes (coccoïde, spiralé...), leurs métabolismes (aérobie, anaérobie) ou leurs formes de résistances (présence ou absence de spores). Ce phylum contient 3 classes : *Bacilli*, *Clostridia* et *Mollicutes* incluant 164 genres. Au niveau des selles, les phylotypes les plus abondants sont représentés dans les 2 principaux groupes des *Clostridia*, le groupe IV et XIVa (Figure 2).

Le groupe IV (anciennement nommé groupe des *Clostridium leptum*) représente environ 20% du microbiote. L'espèce prédominante est *Faecalibacterium prausnitzii* (précédemment classé dans les *Fusobacterium*) qui possède un large éventail d'enzymes pouvant métaboliser les carbohydrates pour former du butyrate et du lactate (Duncan, 2007 ; Arumugam, 2011).

Le groupe XIVa représente comme le IV environ 20% du microbiote intestinal et est composé d'une collection disparate de genres et d'espèces de bactéries. Les genres les plus abondants retrouvés dans les selles sont : *Roseburia* et *Ruminococcus* ainsi que la famille des *Lachnospiraceae* comprenant les genres (*Eubacterium* et *Clostridium*) d'après Arumugam, 2011. *Anaerostipes* et *Coprococcus* sont aussi retrouvés mais en plus faible quantité.

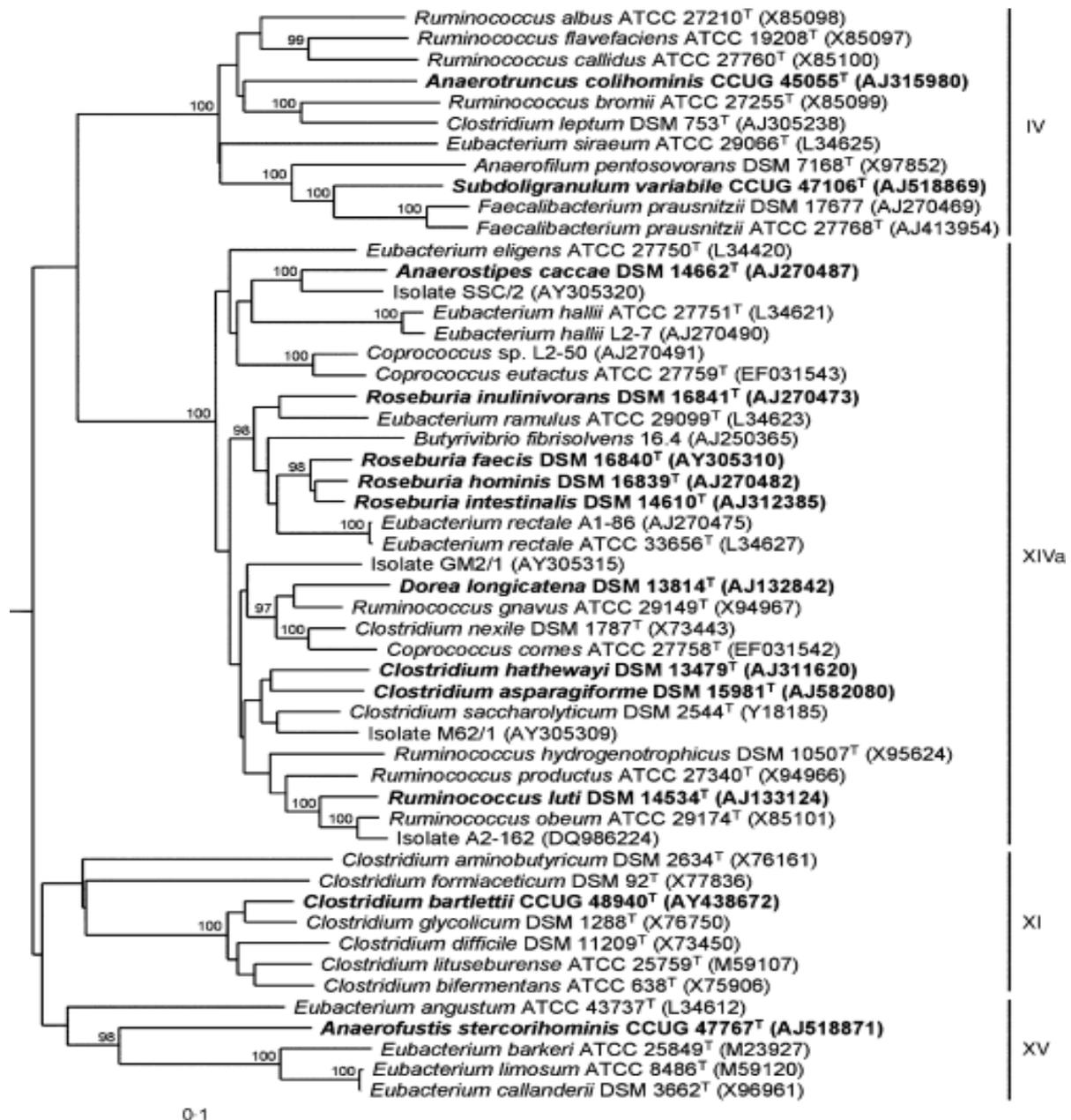


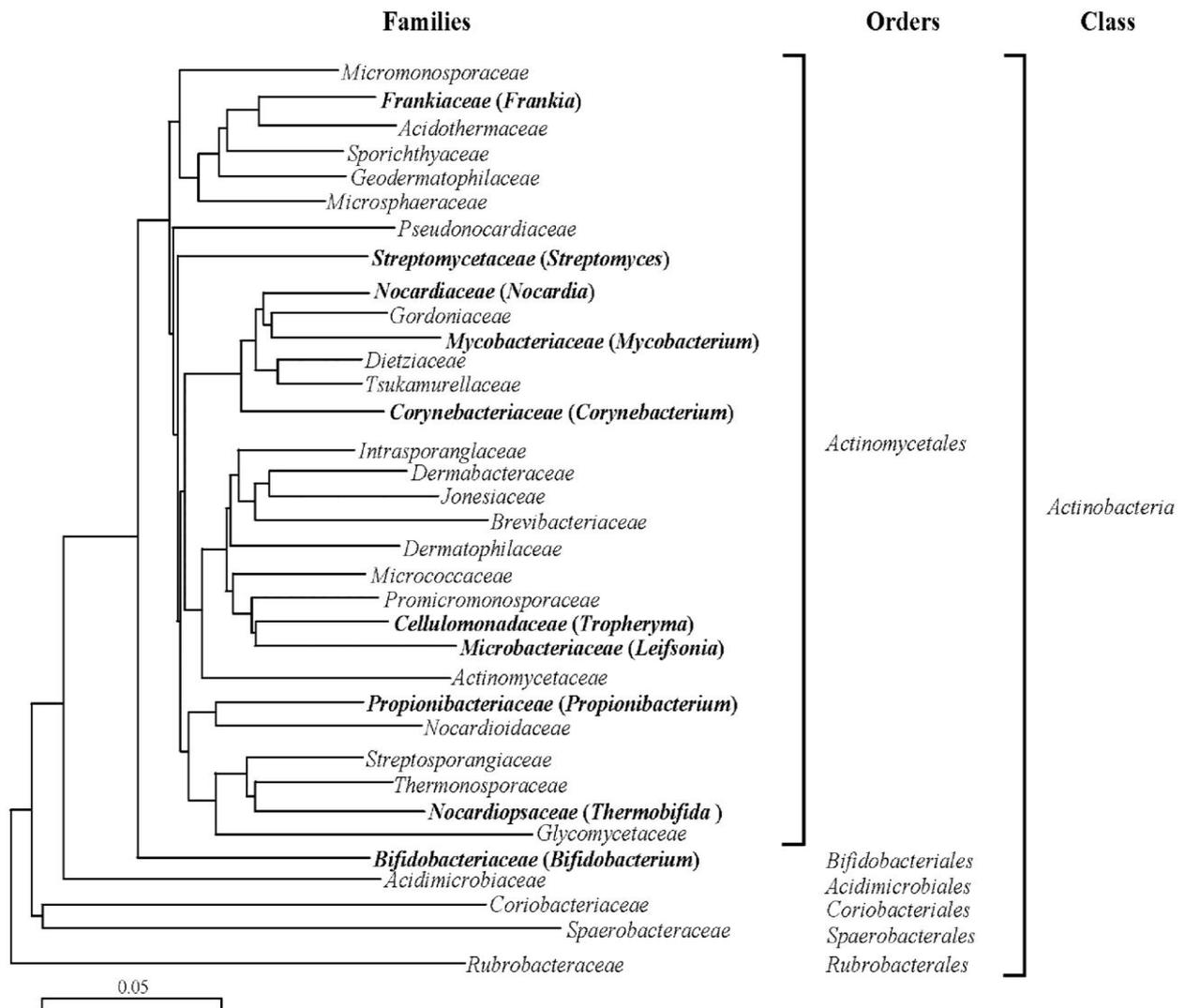
Figure 2 : Arbre phylogénétique des groupes IX et XIVa du phylum des Firmicutes d'après Duncan, 2007.

#### ✚ Phylum des *Bacteroidetes* :

Anciennement nommé phylum des *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*, il représente comme le phylum des *Firmicutes* près de 40% du microbiote intestinal. Ce phylum comporte 3 classes : *Bacteroidetes*, *Flavobacteria*, *Sphingobacteria*. Les espèces les plus représentées sont *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides caccae* et *Bacteroides thetaiotaomicron* (Qin J, 2010). Cette dernière bactérie est connue pour être impliquée dans des fonctions bénéfiques pour l'hôte, tel que l'absorption des nutriments, la maturation et la maintenance des cellules épithéliales.

#### ✚ Phylum des *Actinobacteria* :

Les deux genres retrouvés en abondance dans les selles sont *Bifidobacterium* et *Collinsella* (Arumugam, 2011). Ce phylum est composé d'organismes gram positif ayant un pourcentage de base G+C élevé (plus de 55%). Il est composé de bactéries morphologiquement différentes, des formes coccoïdes (*Micrococcus*), cocco-bacillaire (*Arthrobacter*) et des formes pouvant présenter des hyphes (*Noocardia*). (Figure 3)



**Figure 3 : Arbre phylogénétique basé sur 1500 nucléotides par ARNr 16S des Actinobactéries d'après Ventura et al, 2007**

✚ Autres phylums :

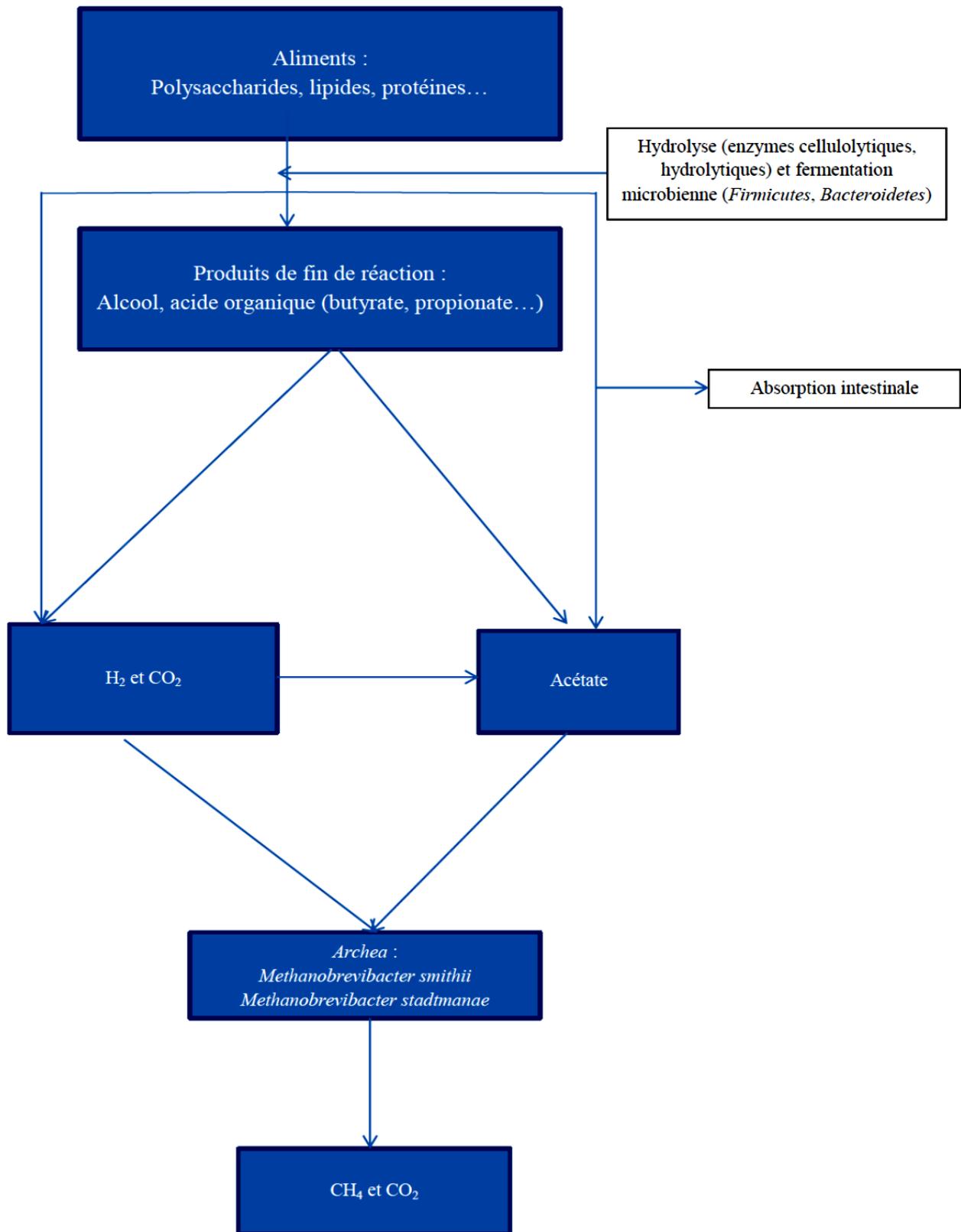
D'autres phylums sont représentés mais en faible quantité, il s'agit du phylum *Verrucomicrobia* avec comme espèces *Akkermansia mucinophila* (Derrien *et al*, 2004) et *Victivallis vadensis* (Zoetendal *et al*, 2003), mais aussi des *Proteobacteria* (phylum des entérobactéries) et *Fusobacteria*.

#### 5.2.2.3.2 Les *Archaea* :

Les *Archea* ont été découverts vers la fin des années 70 dans des environnements extrêmes. Ils sont assez similaires en taille et en forme aux bactéries et comme elles, ils appartiennent aux procaryotes. Cependant, ils possèdent des propriétés métaboliques et génétiques proches des eucaryotes. De plus, les membranes des *Archea* sont composées de lipides d'éther de glycérol alors que les bactéries et les eucaryotes sont composés principalement de lipides d'ester de glycérol. Cette différence confère à la membrane une plus grande stabilité et donc de pouvoir survivre à des conditions extrêmes.

Dans une étude de 2011, l'extraction et la détection de l'ADN des *Archea* a été réalisée sur 650 selles humaines. Il a été détecté une grande prévalence de *Methanobrevibacter smithii* (95,5%) et *Methanobrevibacter stadtmanae* (29,4%) dans l'intestin humain.

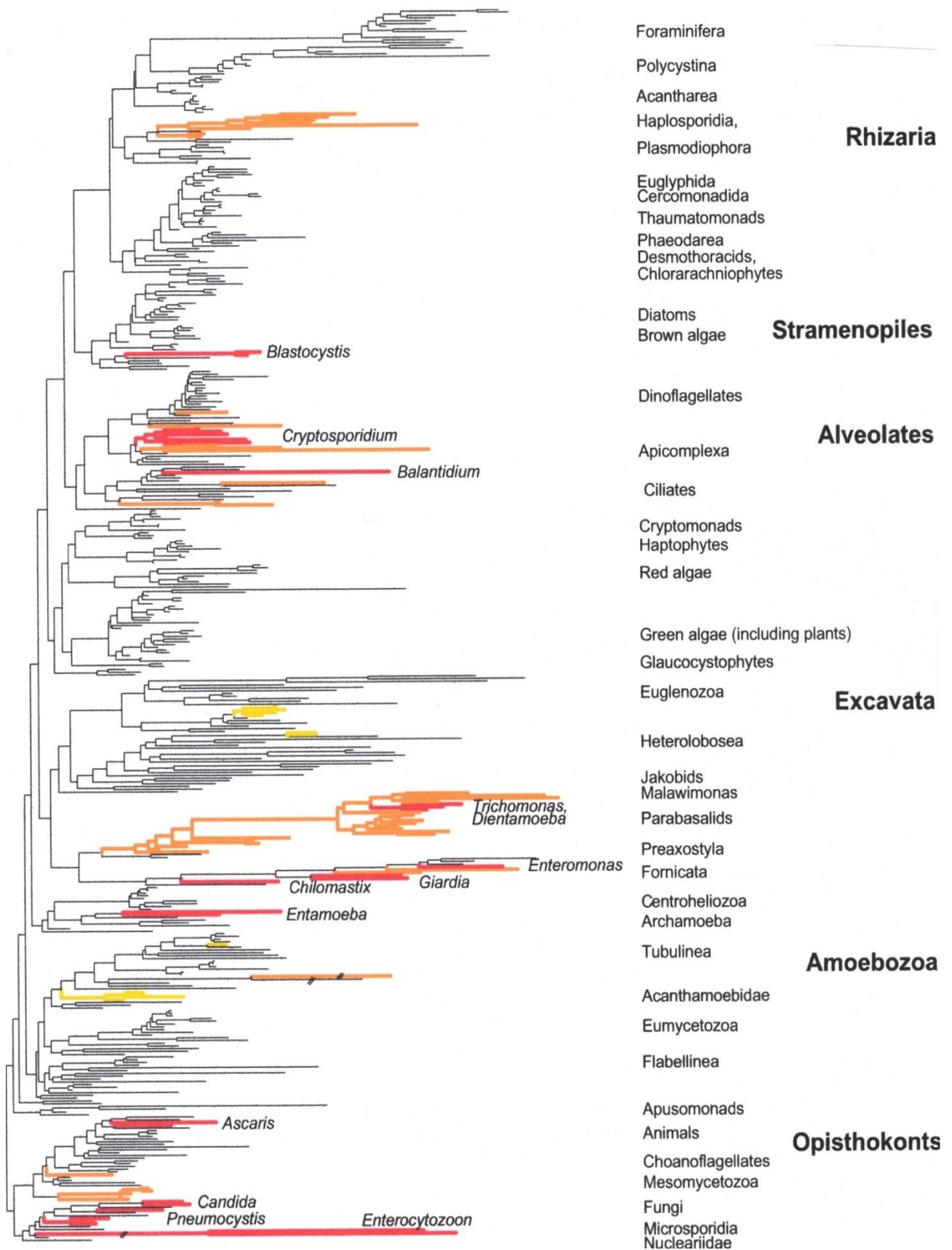
Ces procaryotes sont capables de produire du méthane dans des conditions d'anaérobie. Cette production est importante pour prévenir l'accumulation d'acides et de produits de fin de réaction dans l'intestin (Figure 4) (Dridi *et al*, 2011).



**Figure 4 : Rôle des *Archea* au sein du microbiote intestinal**

#### 5.2.2.3.3 Les eucaryotes :

L'étude complète du composant eucaryote dans le microbiote intestinal n'en est qu'à son début, loin derrière l'étude des bactéries. Les premières études ont été réalisées sur les parasites présentant une pathogénicité certaine (*Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*). Chez l'adulte sain, ils représentent environ 0,5% de la flore microbienne intestinale, les champignons ainsi que le genre *Blastocystis* sont les eucaryotes dominants (et dans de nombreux cas les seuls) (Nam *et al*, 2008 ; Ott *et al*, 2008 ; Scanlan and Marchesi, 2008). D'autres sont plus rarement retrouvés tel que *Pentatrichomonas* et *Entamoeba dispar*. De plus, la diversité intra-individuelle est faible (moins de dix phylotypes par individus) et les communautés eucaryotes sont stables dans le temps (Parfrey *et al*, 2011). (Figure 5)



**Figure 5 : Arbre phylogénétique des eucaryotes. En rouge, les espèces pouvant se retrouver dans l'intestin des vertébrés, en orange chez les invertébrés et les jaunes les espèces ne se retrouvant jamais chez l'Homme. D'après Parfrey et al, 2010.**

#### 5.2.2.3.4 Les virus

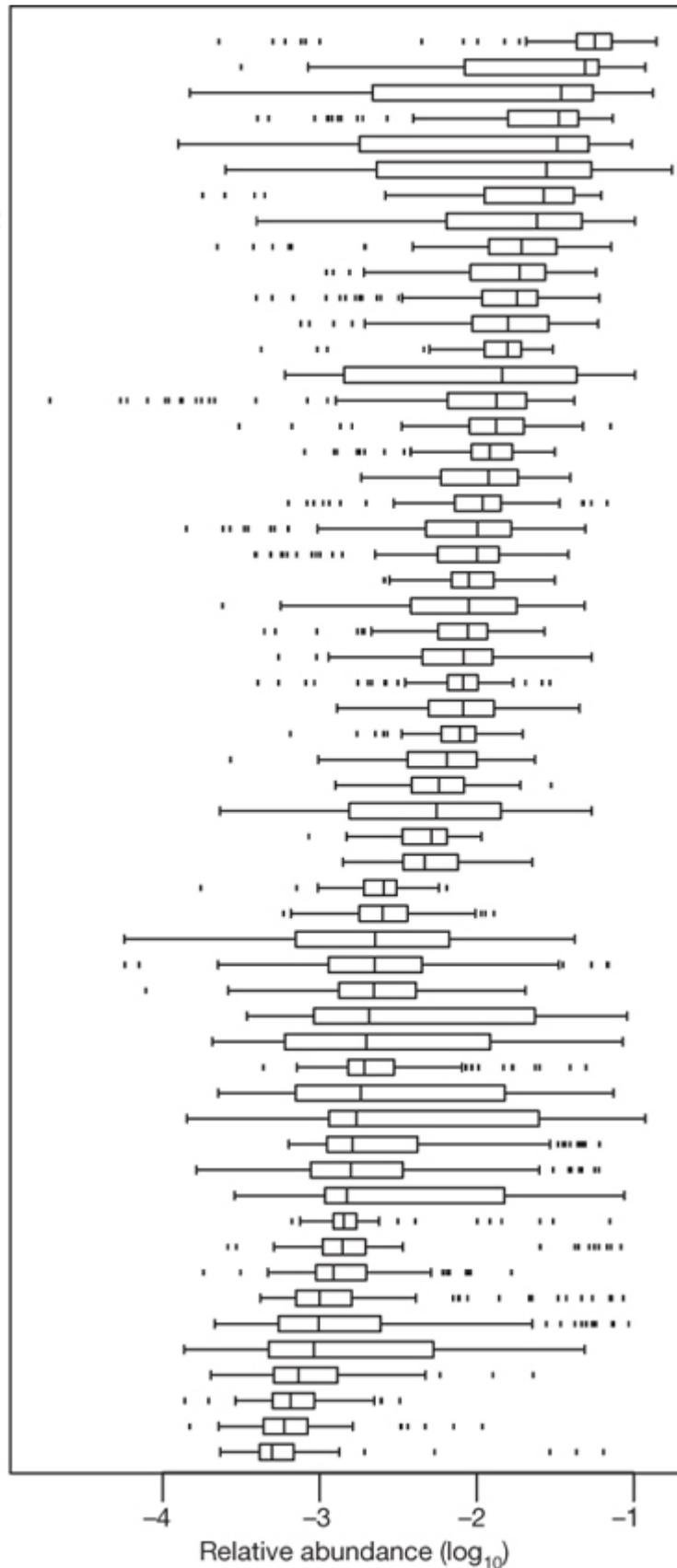
Après la communauté bactérienne, les virus sont considérés comme l'espèce la plus abondante au niveau intestinal. Pour l'instant, peu d'études ont été réalisées, la première en 2003 a montré la présence majoritaire de phages et de prophages (Breitbart *et al*, 2003). On estime le nombre de phages à  $10^{12}$  à  $10^{13}$  particules par microbiote qui sont répartis dans environ une centaine d'espèces dont le taxon prédominant appartient à la famille des Podoviridés (Angly et Tyson, 2011).

#### 5.2.2.3.5 Notion de noyau du microbiome humain (core human microbiome)

Plusieurs auteurs ont cherché l'existence d'un noyau du microbiome humain. Dans la publication la plus récente (Qin *et al*, 2010), 18 espèces bactériennes ont été détectées dans chacun des 124 individus, 57 espèces dans au moins 90% (Figure 6) et 75 dans au moins 50%. Pour les 57 espèces présentes chez plus de 90% des individus, le génome de chaque espèce couvrait au moins 1% de la totalité des génomes et comme attendu, les *Bacteroidetes* et les *Firmicutes* étaient majoritaires. De même, sur les 124 selles, 155 espèces dont la prévalence était supérieure à 1% ont été caractérisées chez au moins un individu.

Dans une revue générale présentée en 2009 lors d'un symposium, les auteurs ont indiqué que l'on pouvait identifier à l'échelon du gène un noyau du microbiome, en dépit de larges variations dans la distribution des communautés à l'échelon du phylum (Turnbaugh et Gordon, 2009). L'existence même d'un noyau de microbiote et/ou de microbiome humain ouvre des perspectives nouvelles d'applications nutritionnelles ou thérapeutiques pour restaurer l'eubiose et les principales fonctions du microbiote (Corthier et Doré, 2010).

*Bacteroides uniformis*  
*Alistipes putredinis*  
*Parabacteroides merdae*  
*Dorea longicatena*  
*Ruminococcus bromii* L2-63  
*Bacteroides caccae*  
*Clostridium* sp. SS2-1  
*Bacteroides thetaiotaomicron* VPI-5482  
*Eubacterium hallii*  
*Ruminococcus torques* L2-14  
 Unknown sp. SS3 4  
*Ruminococcus* sp. SR1 5  
*Faecalibacterium prausnitzii* SL3 3  
*Ruminococcus lactaris*  
*Collinsella aerofaciens*  
*Dorea formicigenerans*  
*Bacteroides vulgatus* ATCC 8482  
*Roseburia intestinalis* M50 1  
*Bacteroides* sp. 2\_1\_7  
*Eubacterium siraeum* 70 3  
*Parabacteroides distasonis* ATCC 8503  
*Bacteroides* sp. 9\_1\_42FAA  
*Bacteroides ovatus*  
*Bacteroides* sp. 4\_3\_47FAA  
*Bacteroides* sp. 2\_2\_4  
*Eubacterium rectale* M104 1  
*Bacteriodes xylanisolvans* XB1A  
*Coprococcus comes* SL7 1  
*Bacteroides* sp. D1  
*Bacteroides* sp. D4  
*Eubacterium ventriosum*  
*Bacteroides dorei*  
*Ruminococcus obeum* A2-162  
*Subdoligranulum variabile*  
*Bacteroides capillosus*  
*Streptococcus thermophilus* LMD-9  
*Clostridium leptum*  
*Holdemania filiformis*  
*Bacteroides stercoris*  
*Coprococcus eutactus*  
*Clostridium* sp. M62 1  
*Bacteroides eggerthii*  
*Butyrivibrio crossotus*  
*Bacteroides fingoldii*  
*Parabacteroides johnsonii*  
*Clostridium* sp. L2-50  
*Clostridium nexile*  
*Bacteroides pectinophilus*  
*Anaerotruncus colihominis*  
*Ruminococcus gnavus*  
*Bacteroides intestinalis*  
*Bacteroides fragilis* 3\_1\_12  
*Clostridium asparagiforme*  
*Enterococcus faecalis* TX0104  
*Clostridium scindens*  
*Blautia hansenii*



**Figure 6 : Abondance relative des 57 génomes bactériens les plus fréquents rencontrés chez au moins 90% des individus de la cohorte d'après Qin, 2010.**

## 5.2.2.4 Composition du microbiote bactérien suivant l'anatomie du tractus intestinal

### 5.2.2.4.1 Axe longitudinal :

La densité bactérienne augmente tout au long de l'appareil digestif, à l'exception de la cavité buccale. Les bactéries retrouvées au niveau de la bouche sont nombreuses en quantité, mais aussi en qualité avec différentes espèces telles que *Streptococcus* spp, *Neisseria* spp, *Veillonella*, *Prevotella*, *Fusobacterium*. Cette densité diminue au niveau de l'estomac (Figure 7) en grande partie à cause du pH gastrique. On retrouve en petite quantité des bactéries de la flore buccale mais aussi quelques bactéries intestinales. Un cas particulier est la présence d'*Helicobacter pylori*, témoin d'ulcération gastrique. Au niveau de l'intestin proximal (jéjunum, duodénum et iléon), les trois phylums principaux de la flore du colon (*Firmicutes*, *Bacteroidetes* et *Actinobacteria*) sont présents, accompagnés de bactéries buccales ainsi que d'entérobactéries. Au niveau du colon, la flore est pratiquement identique à celle des selles avec la présence majoritaire des 3 phylums (*Firmicutes*, *Bacteroidetes* et *Actinobacteria*) et en petite proportion de plus de 1000 espèces différentes (Marchesi, 2011 ; Walter et Ley, 2011).

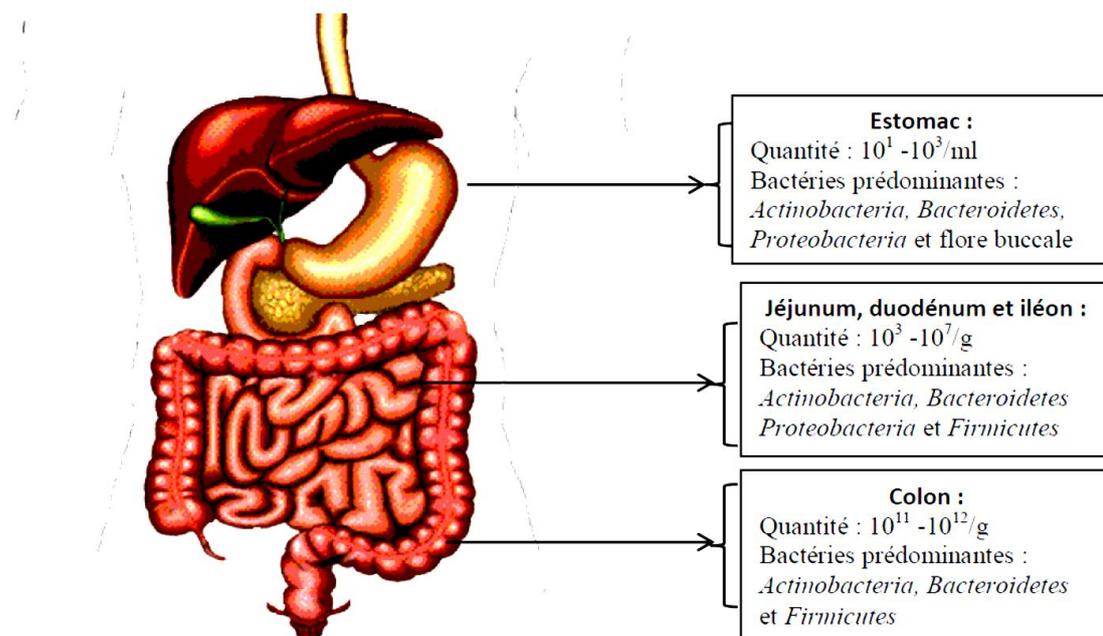


Figure 7 : Phylums majeurs tout le long du tractus gastro-intestinal d'après Marchesi, 2011

#### 5.2.2.4.2 Axe radial

Une seule étude chez la souris a été entreprise. Des prélèvements aux niveaux des plis circulaires ou semi-circulaires du colon à l'aide d'une technique de microdissection au laser d'une part et de la lumière intestinale d'autre part ont été réalisés et soumis à une technique de pyrosequençage. Au niveau du mucus, les bactéries les plus abondantes sont les *Firmicutes* (principalement *Lachnospiraceae* et *Ruminococcaceae*) puis les *Bacteroidetes*, les *Lactobacillaceae* ne venant qu'en troisième position. Par contre au niveau luminal, les *Lactobacillaceae* sont largement majoritaires, les *Firmicutes* sont beaucoup moins présents (les *Lachnospiraceae* et les *Ruminococcaceae* ont totalement disparus). Par contre, les *Bacteroidetes* sont plus représentés au niveau de la lumière que dans le mucus épithélial (Nava et Stappenbeck, 2011). Ces études devront être élargies à l'Homme car même s'il existe des similitudes, la flore bactérienne n'est pas commune entre les deux espèces en particulier les *Faecalibacterium* qui ne sont pas retrouvés chez la souris.

#### 5.2.2.5 Homéostasie du microbiote

La composition de la flore microbienne dominante semble constante pour un même individu dans le temps. De même, les phylums majeurs sont présents chez tous les individus avec des proportions qui varient entre individus mais le plus souvent restent dans les mêmes équivalents logarithmiques. Cette stabilité de communautés est supérieure au niveau du colon comparativement à l'iléon. En revanche, en ce qui concerne les souches, la stabilité paraît moins claire et dépendra du sujet ce qui dissimulerait un taux important de renouvellement au niveau des souches. A l'inverse des flores dominantes, la stabilité des phylums faiblement représentés (tels que les *Lactobacillus*) est nettement moins grande dans le temps. Ainsi, la possibilité pour les bactéries lactiques apportées par l'ingestion d'aliments fermentés de survivre pendant le transit doit également être envisagée, conduisant à leur passage transitoire dominant dans l'intestin grêle et le colon.

Le microorganisme qui colonise au début de la vie une niche donnée persistera et se multipliera sans nécessiter de réinoculation. Pour un individu, des modifications du microbiote pourraient venir soit de la colonisation par des microorganismes exogènes, soit d'une modulation des niveaux de population des bactéries commensales. Dans la plupart des cas, elles seront essentiellement la conséquence de relais de dominance en réponse à des facteurs modulant les niches écologiques. Cependant, il semble difficile d'induire des altérations durables des populations dominantes établies. En effet, de nombreuses observations illustrent la capacité du microbiote à résister aux modifications. Par exemple, l'administration d'une souche allochtone, comme un probiotique, ou d'un substrat, comme un prébiotique, ou encore d'un antibiotique modifie de façon transitoire l'équilibre de la flore microbienne, mais le retour à l'équilibre est très rapide (de l'ordre de 2-3 jours) après l'arrêt de l'administration. Cette faculté du microbiote à récupérer sa constitution est appelée : résilience. Cette résilience suggère une adaptation du microbiote à l'intestin et même au génotype de l'hôte qui l'héberge.

### 5.2.3 Variations au cours de la vie et des conditions physiologiques

Malgré, la grande stabilité intra-individuelle du microbiote humain, certaines conditions physiologiques peuvent le modifier à long terme.

#### 5.2.3.1 Microbiote et ménopause

Chez la femme, la ménopause peut engendrer un déséquilibre de la flore vaginale avec une déplétion des *Lactobacillus* entraînant vaginoses et infections de l'arbre urinaire. Encore peu d'études ont été réalisées sur la flore intestinale, mais certaines maladies gastro-intestinales ont tendance à débiter dès les premières années de la ménopause (Pardi *et al*, 2007). Une étude suédoise a exploré la relation entre la flore lactique vaginale et rectale et l'imprégnation hormonale chez 20 femmes saines en âge de procréer et 20 femmes saines ménopausées. La

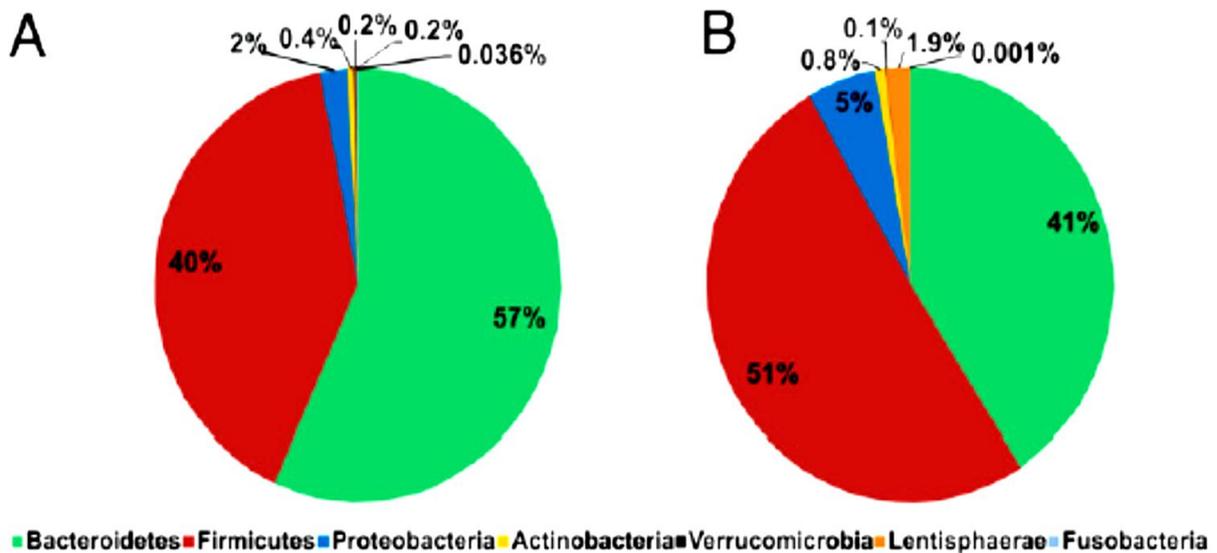
découverte principale de cette étude était la présence accrue de *Lactobacillus crispatus* au niveau la flore vaginale de femmes fertiles en comparaison à la flore de femmes post-ménopausées, par contre au niveau rectal aucune différence n'a été observée (Gustafsson *et al*, 2011). Une étude a aussi été réalisée sur la flore vaginale pour évaluer le bénéfice d'un traitement hormonal substitutif (THS) associant œstrogène et progestérone. Les *Lactobacillus* ont été retrouvés dans 95 % des femmes dans les deux groupes, mais dans le groupe THS, les *Lactobacillus* étaient plus souvent l'espèce dominante et de rares bactéries pathogènes ont été retrouvées et en quantité peu importante. De plus, l'incidence de la vaginose bactérienne était significativement plus basse dans le groupe THS que dans les femmes sans traitement (5,6% contre 31%) (Heinemann C, Reid, 2005).

Cependant, il est difficile d'extrapoler les résultats trouvés sur la flore vaginale à la flore intestinale. Mais, il apparaît néanmoins probable qu'un lien existe entre l'imprégnation hormonale et le microbiote intestinale chez la femme.

### 5.2.3.2 Microbiote et âges extrêmes :

Comme nous l'avons vu précédemment la communauté du microbiote se stabilise vers l'âge de 2 ans. De même, certaines publications montrent une différence significative entre la flore intestinale d'une personne âgée saine et d'une personne jeune. De nombreux facteurs entrent en jeu dans la modification de la flore, le changement du régime alimentaire, du style de vie, la réduction du péristaltisme intestinal, l'augmentation de la perméabilité intestinale et la présence d'une inflammation de bas grade chronique ainsi qu'une baisse de l'immunocompétence (Biagi E *et al*, 2011).

Les 3 phylums principaux (*Firmicutes*, *Bacteroidetes* et *Actinobacteria*) sont conservés mais leurs proportions varient. En effet le consortium ELDERMET (créé en 2007 pour établir le rôle de la flore intestinale de personnes âgées irlandaises sur la santé) a montré que les *Bacteroidetes* présentaient plus de la moitié du microbiote (57%) chez les personnes âgées alors qu'ils ne constituaient que 41% dans la population jeune (Claessons *et al*, 2011) (Figure 8). Dans une autre étude, les *Clostridium* du groupe XIVa et du groupe IV diminuent avec l'âge alors que les bactéries aérobies opportunistes augmentent : *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae* (Biagi *et al*, 2010).



**Figure 8 : Composition des phylums des microbiotes intestinaux des personnes âgées (A) et jeunes (B) d'après Claesson et al, 2011**

#### 5.2.4 Notion de microbiome

Au-delà de l'étude phylogénétique, qui a été largement explorée jusqu'à maintenant, se trouvent le pool génétique combiné, les transcrits, les protéines et même les métabolites des membranes de la communauté bactérienne intestinale. Ils sont connus comme le métagénome, le métatranscriptome, le métaprotéome et, ensemble, sous l'appellation microbiome intestinal humain. De fait, la grande majorité des bactéries intestinales dominantes n'ayant pas encore été cultivée, le contenu génomique de cette communauté microbienne est encore majoritairement inconnu. Le développement de technologies de séquençage à très haut débit contribue au développement de la métagénomique. En pratique, la communauté bactérienne pourrait être extraite des selles ou des biopsies, puis son ADN analysé pour déterminer sa séquence. Le répertoire génétique complet des organismes dominants cultivables et non cultivables pourrait être obtenu et fournir des informations sur les potentiels fonctionnels de la communauté complète (Doré et Corthier, 2010).

Mais, la métagénomique nous permet aussi d'étudier la présence de fonctions dominantes (figure 9) portées par plusieurs espèces faiblement représentées qui pourrait éclairer leurs stratégies de survie dans l'intestin humain. Par exemple, malgré la faible abondance d'*Escherichia coli* au niveau intestinal, elle contribue à plus de 90% de deux abondantes protéines codant pour des pilis (FimA et papC). Ces pilis possèdent des rôles de fixation spécifique au niveau des cellules épithéliales, mais aussi aident les bactéries à rester plus longtemps au niveau du tractus intestinal. De plus, ils jouent un rôle important dans le transfert de plasmides entre bactéries, transfert nécessaire à des échanges de fonctions telles que la résistance aux antibiotiques.

L'exploration métagénomique du microbiote intestinal humain est actuellement en cours grâce à des programmes tels que celui du MetaHIT et du Roadmap du NIH. Ces programmes sont structurés au sein du IHMC (International Human Microbiome Project).

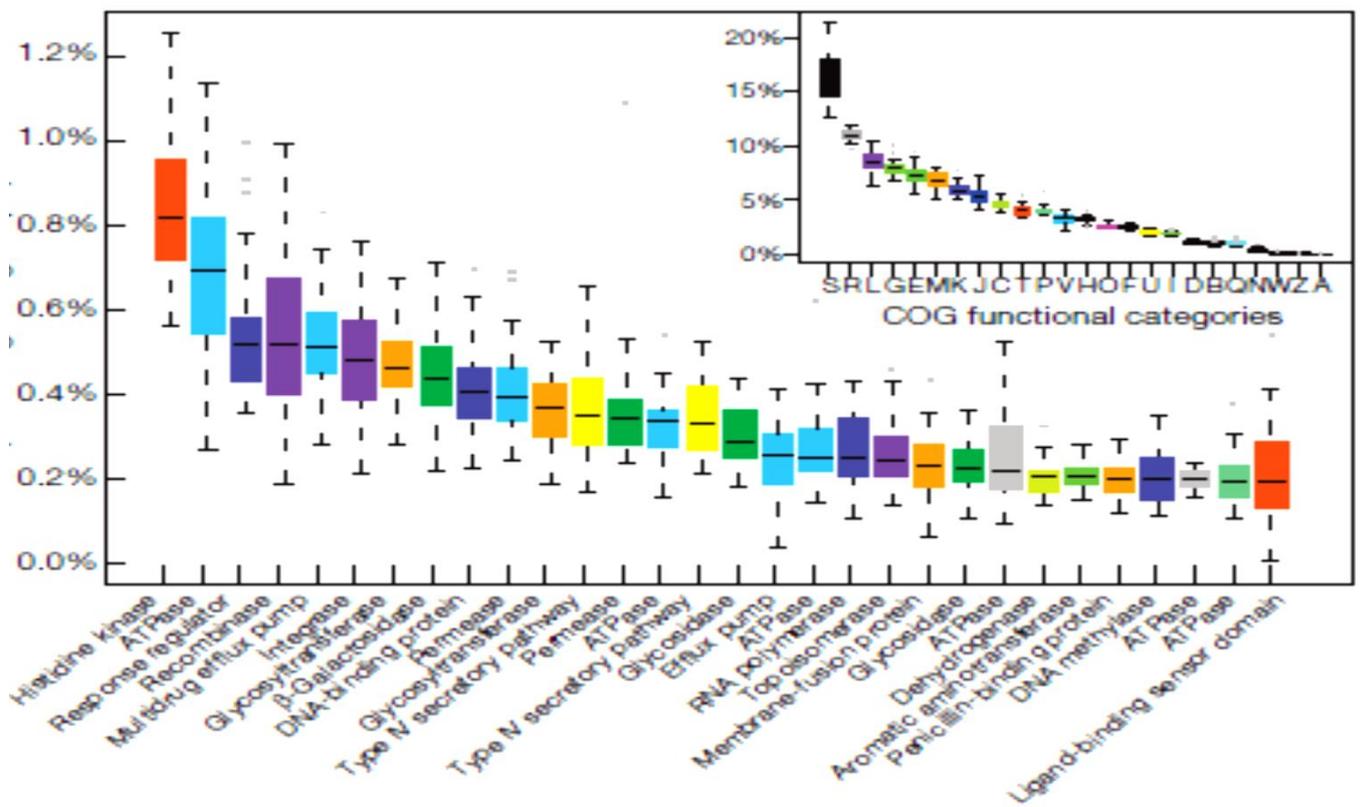


Figure 9 : 30 fonctions les plus abondantes d'après Arumugam, 2011

### **5.3 Fonctions du microbiote intestinal humain**

Cette communauté microbienne dense et complexe hébergé par le côlon humain, essentiellement composée de bactéries anaérobies strictes, exerce de nombreuses fonctions physiologiques qui ont des répercussions importantes sur l'hôte.

#### 5.3.1 Fonctions métaboliques

Au niveau métabolique, le microbiote possède deux rôles essentiels d'une part la dégradation et la fermentation des substrats alimentaires et d'autre part la régulation de l'extraction et du stockage de l'énergie.

##### 5.3.1.1 Dégradation et fermentation des polysaccharides

Le microbiote intestinal contribue à l'extraction des calories de polysaccharides non digérables dans la partie supérieure du tube digestif par les enzymes encodées par le génome humain. Ces substrats sont d'origines exogènes (fibres alimentaires) ou endogènes (produits par l'hôte).

Les substrats provenant de l'alimentation se composent principalement d'hydrates de carbone des céréales, des légumes et des fruits. Ils ont essentiellement composés d'amidon résistant, de polysaccharides végétaux (paroi cellulaire) et de certains oligosaccharides et sucres comme l'inuline, les gommes, les mucilages ou les fructo-oligosaccharides. La quantité totale varie selon le régime alimentaire de 10 à 40 grammes par jour.

Quantitativement, le métabolisme des protéines est moins important que celui des polysaccharides. En effet, on estime à 6 à 18 grammes/jour, la quantité de totale de produits azotés arrivant au colon dont seulement 1 à 2 grammes venant de l'iléon. Les principales sources de protéines sont les substrats générés par l'hôte (enzymes pancréatiques, sécrétions biliaires, desquamation des cellules épithéliales, mucines, ...).

#### 5.3.1.1.1 Métabolisme des polysaccharides par le microbiote humain

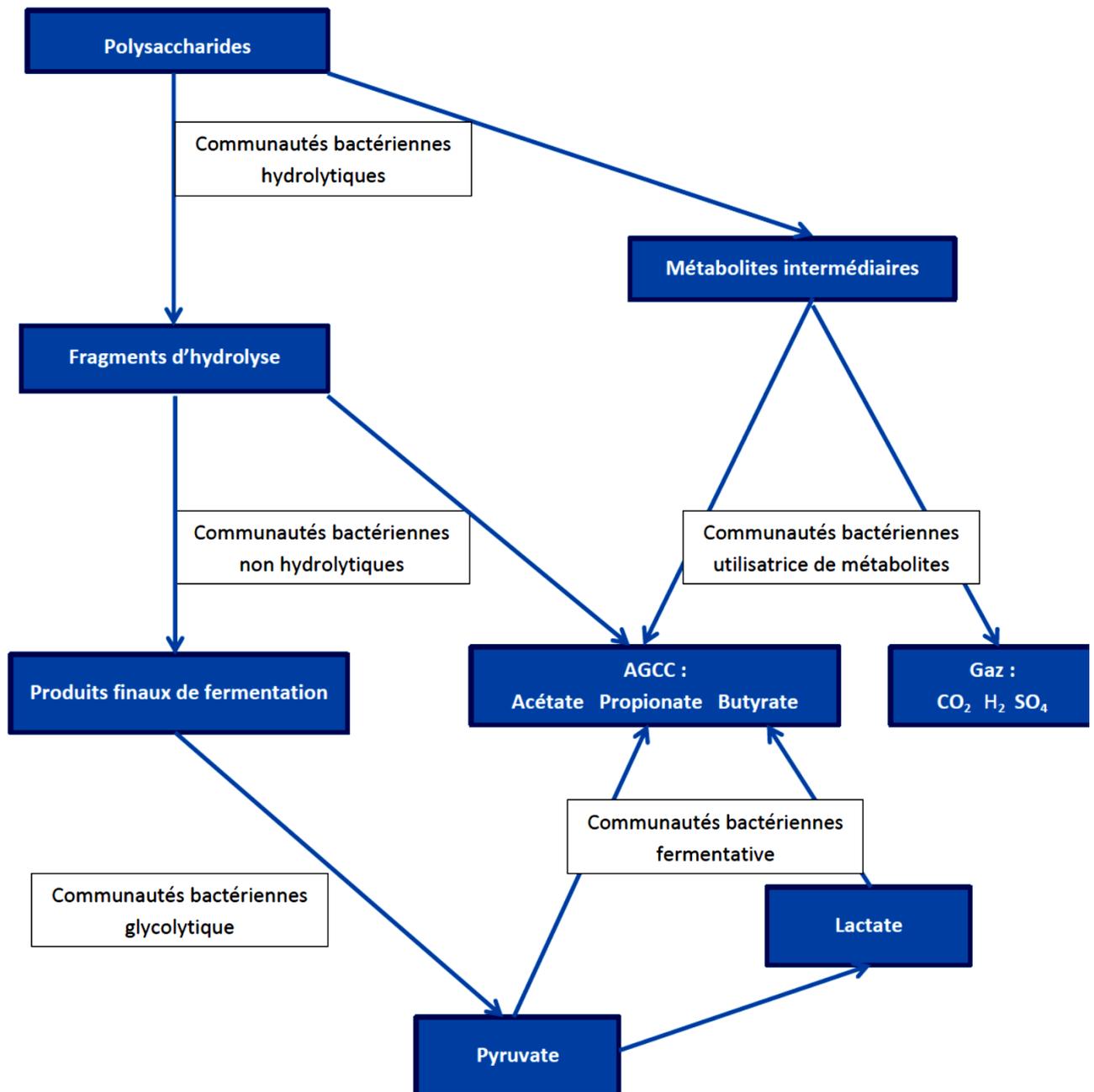
Le métabolisme comprend 2 phénomènes anaérobies, la dégradation par hydrolyse et la fermentation par glycolyse (Figure 10).

La dégradation des polysaccharides met en jeu une série d'enzymes hydrolytiques qui permet la formation de composés intermédiaires (type lactate, formate) et des fragments de polysaccharides. Les principales espèces bactériennes pour lesquelles une activité hydrolytique a été démontrée appartiennent aux genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia* ainsi qu'aux *Clostridium*, *Eubacterium* et *Enterococcus*. De plus, une même fonction hydrolytique peut-être retrouvée dans différentes espèces bactériennes, par l'exemple l'amidon peut-être hydrolysé par des bactéries du genre *Bacteroides* mais aussi par des *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia*. Ces composés intermédiaires et ces fragments de polysaccharides sont alors transformés en acide gras à chaînes courtes (AGCC), les principaux étant l'acétate, le butyrate et le propionate, et en gaz ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$  et  $\text{SO}_4$ ) par d'autres communautés bactériennes spécialisées (saccharolytiques, utilisatrices de lactates...). La dégradation d'une structure aussi complexe exige ainsi la contribution de plusieurs espèces bactériennes dotées d'activités complémentaires (Bernalier-Donadille, 2010).

La majorité des espèces bactériennes utilisent la glycolyse pour convertir les hydrates de carbone en pyruvate. Comme pour la voie de dégradation, les principaux métabolites de la fermentation à partir du pyruvate sont les AGCC (l'acétate, le butyrate et le propionate).

La majorité des bactéries intestinales produisent de l'acétate, alors que le propionate est produit par les *Bacteroides* et le butyrate principalement par les groupes *Roseburia* et

*Faecalibacterium*.



**Figure 10 : Dégradation et fermentation des polysaccharides par le microbiote humain**

Enfin, les principaux AGCC sont rapidement absorbés par les cellules épithéliales, puis métabolisés dans différents organes (épithélium intestinal, foie, muscle, cerveau...).

#### 5.3.1.1.2 Métabolisme des protéines

Dans un premier temps, l'hydrolyse des protéines par les enzymes protéolytiques (protéases) aboutit à la libération dans le colon de peptides utilisables par la flore bactérienne, puis à des acides aminés. L'activité protéolytique est supportée par un nombre important de bactéries coliques (*Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*). Puis, la fermentation des acides aminés met en jeu des réactions d'oxydation et de réduction qui vont aboutir à la formation d'acides gras à chaînes courtes (butyrate, propionate et acétate), d'acides gras à chaînes courtes ramifiés (isobutyrate, 2-méthylbutyrate et isovalérate), de phénols, d'indole et d'ammoniac. Les phénols et l'indole sont ensuite détoxifiés par la muqueuse colique, puis excrétés dans les urines. L'ammoniac suit 2 voies distinctes, une partie est absorbée par l'intestin puis transformée en urée par le foie pour être éliminée dans les urines, l'autre partie est utilisée par les bactéries avec des hydrates de carbones pour former des acides aminés pour la synthèse de protéines bactériennes (Cummings et Macfarlane, 1991).

#### 5.3.1.2 Régulation et stockage

La première mise en évidence du rôle du microbiote intestinal dans la régulation de l'homéostasie de l'énergie et de la graisse est venue d'une expérience sur des souris axéniques (non colonisées par des microbes de l'environnement extérieur) qui présentaient une masse grasseuse 40% moindre que les souris conventionnelles (normalement pourvues de microorganismes). Cette diminution de masse grasseuse était aussi observée même si l'apport calorique était augmenté de 29% chez les souris stériles (Bäckhed *et al*, 2004). Dans une autre étude, Bäckhed *et al* alimentent avec un régime riche en hydrocarbure des souris stériles et des souris conventionnelles. Après 8 semaines, les souris stériles présentent un poids et une masse grasseuse moindre alors que l'étude des selles de chaque souris (stériles et

conventionnelles) montre une similitude du contenu énergétique. Cette dernière observation suggère que la flore intestinale joue un rôle important dans la régulation du stockage énergétique (Bäckhed *et al*, 2007).

Trois voies principales ont été décrites pour contrôler ce mécanisme :

Le Fast-induced adipocyte Factor (Fiaf), produit par l'intestin, le foie et le tissu adipeux, aussi appelé angiopoietin-like 4, est un inhibiteur de la lipoprotéine lipase (Lpl). La Lpl a pour rôle d'augmenter l'assimilation des acides gras par les cellules et l'accumulation des graisses dans les adipocytes. Nous avons déjà vu précédemment, qu'une souris axénique présentait un taux de graisse moins important que la souris conventionnelle à régime alimentaire égale, par contre une souris axénique Fiaf<sup>-/-</sup> présente le même degré de graisse qu'une souris conventionnelle, ce qui suggère que le Fiaf est un médiateur de la régulation microbienne du stockage de l'énergie (Bäckhed *et al*, 2004). Une étude récente (Aronsson *et al*, 2010), a montré que *Lactobacillus paracasei* était capable de d'augmenter la sécrétion de Fiaf au niveau des cellules épithéliales et donc de diminuer l'activité de la Lpl et le stockage des graisses. De plus, le Fiaf apparaît avoir un rôle important dans la régulation centrale du métabolisme énergétique par inhibition de l'activité de l'AMPK hypothalamique (rôle de satiété et anorexigène) (Kim *et al*, 2010).

D'autre part, chez les souris axéniques présentant un phénotype mince, le niveau de phosphorylation de l'AMP-activated protéine kinase (AMPK) dans les muscles et le foie est élevé. Cette protéine est décrite comme une « jauge de carburant » qui contrôle le statut de l'énergie cellulaire (Bäckhed *et al*, 2007).

Enfin, deux protéines G présentes sur les cellules épithéliales (Gpr41 et Gpr43) qui ont comme ligands deux AGCC, l'acétate et le butyrate, influencent aussi le stockage d'énergie. Une étude a montré que Gpr41 pourrait être un régulateur par des effets qui sont dépendants du microbiote du tractus intestinal et de leurs capacités métaboliques (Samuel BS *et al*, 2008).

Gpr43, quant à elle, pourrait fournir une liaison entre le régime, le métabolisme bactérien gastro-intestinal et les réponses immunitaires/inflammatoires et de plus pourrait probablement aussi jouer un certain rôle dans la carcinogenèse du colon (Tilg et Kaser, 2011).

### 5.3.2 Prévention contre la colonisation d'agents infectieux

La résistance à la colonisation d'agents pathogènes est une fonction parfaitement acceptée du microbiote intestinal. En effet, les bactéries commensales préviennent la colonisation de l'organisme par deux mécanismes distincts. D'une part, les bactéries pathogènes sont mal adaptées pour entrer en compétition avec les bactéries commensales pour les nutriments, ce qui diminue leur pouvoir de colonisation de la lumière intestinale. D'autre part, certains organismes symbiotiques stimulent le système immunitaire contre les pathogènes (Hooper et MacPherson, 2010), c'est le cas lors d'infection à *Salmonella enterica enterica* serovar *typhimurium* avec la stimulation des Toll-like receptor (TLRs) des cellules épithéliales (Vaishnava *et al*, 2008). Ces récepteurs gouvernent la sécrétion d'antimicrobiens, les lectines de type C, qui vont empêcher la prolifération des pathogènes au niveau du mucus épithélial (Hooper et MacPherson, 2010). D'autres antimicrobiens peuvent entrer en jeu avec ou sans stimulation de récepteurs ( $\alpha$ -défensives, cathelicidines) ainsi que les immunoglobulines de type A pour sauvegarder l'homéostasie bactérienne intestinale.

Les lymphocytes T intraépithéliaux (localisés au-dessous des « tight-jonctions ») qui expriment majoritairement la glycoprotéine CD8 possèdent aussi un rôle de protection en produisant, lors d'infections ou de lésions intestinales, des cytokines pro inflammatoires et des chémokines ce qui permet le recrutement de polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et de cellules T. Ces lymphocytes T intraépithéliaux produisent aussi des médiateurs qui stimulent la prolifération de cellules épithéliales et la restauration des fonctions de la barrière épithéliales (Smith et Garrett, 2011). Des expériences sur des souris axéniques ont montré que l'induction des chémokines, de cytokines pro inflammatoires (IL-1) ainsi que la sécrétion de

lectines étaient microbiote-dépendant. Par contre, la colonisation de ces souris par une seule bactérie pathogène restaure la capacité des lymphocytes T intraépithéliaux à promouvoir la défense de l'hôte (Ismail et al, 2009).

De même, chez la souris non colonisée par un microbiote, le nombre de lymphocytes Th1 est fortement diminué au niveau local et au niveau systémique. Cette réduction du taux basal de Th1 contribue à augmentation du risque d'infections par des bactéries pathogènes telles que *Shigella flexneri* et *Listeria monocytogenes* (Round et Mazmanian, 2009). Les lymphocytes Th17, identifiés comme des médiateurs majeurs dans le développement de maladies auto-immunes et inflammatoires, jouent un rôle important dans la défense de l'hôte contre les bactéries extracellulaires et les parasites (Korn et al, 2009). La diminution de ces cellules Th17 chez la souris axénique entraîne un risque accru d'infections à *Shigella flexneri* et *Citrobacter rodentium* (Ivanov et al, 2009 ; Sellge et al, 2010). À l'inverse des lymphocytes T intraépithéliales, la colonisation avec un germe pathogène n'induit pas la restauration du niveau des Th17, par contre la colonisation par des bactéries filamenteuses segmentées (SFB : Segmented Filamentous Bacteria) mène à l'augmentation des Th17 qui réduisent la croissance et la capacité d'invasion de *Citrobacter rodentium* (Ivanov et al, 2009). De plus, les souris colonisées par les SFB présentent une augmentation de la protéine amyloïde sérique (SAA : Serum amyloid A), protéine qui induit la sécrétion d'IL-6 et IL-23 par les cellules dendritiques, ces deux interleukines étant importantes pour le développement des cellules Th17 (Korn et al, 2009).

### 5.3.3 Maintien de l'intégrité et développement de la structure intestinale

Ces fonctions ont pour acteurs principales un produit d'hydrolyse du microbiote : le butyrate. En effet, celui-ci possède deux rôles. Le premier est de renforcer la barrière du mucus intestinal en induisant la sécrétion de mucines et de peptides antimicrobiens. Ce rôle de maintien de l'intégrité de la structure intestinale est complété par différentes bactéries qui se logent au niveau des « tights junctions », ce qui forme une barrière entre la lumière intestinale et la *lamina propria* (LP). Deuxièmement, le butyrate régule la croissance et le développement des cellules et de tissus.

### 5.3.4 Rôle dans l'immunité : Immunomodulation

Le tractus gastro-intestinal a besoin de coexister avec une importante densité bactérienne sans induire une réponse immunitaire excessive au niveau local mais aussi au niveau systémique. La prévention de cette réaction immunitaire excessive peut être réalisée par la séparation physique de bactéries et des cellules hôtes, par les modifications des fragments antigéniques du microbiote pour les rendre moins immunogènes, ou par la modulation des réactions immunitaires localisées : la tolérance.

L'importance du microbiote intestinal dans le développement de la muqueuse intestinale et du système immunitaire peut être appréciée en étudiant les souris axéniques. En effet, les souris dépourvues de microbiote présentent un nombre anormal de diverses cellules immunitaires que ce soit au niveau des structures lymphoïdes locales ou systémiques. La rate et les ganglions lymphatiques, chez ces animaux, présentent des malformations. De même, on retrouve une hypoplasie des plaques de Peyer, une réduction du nombre de follicules matures ainsi qu'une diminution des cellules produisant des IgA. Ces anomalies touchent aussi le niveau et profil des cytokines et altèrent le degré de tolérance orale. (Sekirov et al, 2010 ; Prakash S *et al*, 2011).

Sous la couche de cellules épithéliales, se trouve la *lamina propria* qui est composée de 70-80% de cellules immunitaires majoritairement de cellules T exprimant la glycoprotéine CD4. Chez des individus sains, l'ensemble des lymphocytes helper (Th1, Th2 et Th17) sont présents au niveau de la LP et coexistent dans un équilibre dynamique avec des cellules régulatrices T CD4 (Lee et al, 2009).

Certaines bactéries commensales sont connues pour stimuler le système immunitaire intestinal. *Bifidobacterium infantis* et *Faecalibacterium prausnitzii* ont montré une capacité à induire la production de lymphocytes Treg Foxp3+ et d'interleukine 10 (IL10) dans l'intestin (O'Mahony et al, 2008 ; Sokol et al, 2008). Mais, la bactérie la plus étudiée est sans conteste *Bacteroides fragilis*. Via le polysaccharide A (PSA) de cette bactérie, la souris monocolonisée par *Bacteroides fragilis* induit une expansion des lymphocytes Th1, une production de cytokines et un rééquilibrage la balance Th1 et Th2 qui était altérée chez la souris axénique (Mazmanian et al, 2005). Cependant, *Bacteroides fragilis* colonise seulement 30-70% des individus ou des souris, ce qui montre que cette bactérie n'est pas nécessaire et que d'autres germes symbiotiques sont capables d'induire cet état d'équilibre. En revanche, la colonisation de souris axéniques par *B. fragilis* augmente l'expression de Foxp3 des cellules T régulatrices et augmente la sécrétion d'IL10 au niveau du colon, cette élévation de lymphocytes T régulateurs est entièrement dépendant du PSA (Round et Mazmanian, 2010). De même, l'administration de PSA, induisant l'expression de T régulateurs Foxp3+, est capable de soulager cliniquement un modèle expérimental d'inflammation du colon après le début des symptômes, indiquant une utilisation thérapeutique potentielle (Mazmanian et al, 2008).

Récemment, le genre *Clostridium* a aussi montré une capacité à induire la formation de lymphocytes T régulateurs. En effet, Atarashi et al ont montré que chez les souris axéniques possédant un nombre réduit de cellules T régulatrices Foxp3+ au niveau de la *lamina propria*, la colonisation par un ensemble de 46 espèces de *Clostridium* restaurait le nombre de

lymphocytes T régulateurs au même niveau que chez les souris conventionnellement colonisées. De plus, il existait une corrélation spatiale entre la distribution des Treg et la population de *Clostridium* tout au long de l'intestin avec une densité maximale au niveau du colon proximal (Atarashi et al, 2011). Les *Clostridium* possédant la capacité de développer les Tregs et de protéger de l'inflammation colique via ces Tregs font partie de deux clusters : *Clostridium* clusters IV et clusters XIVa. Ces deux clusters sont d'ailleurs retrouvés en moindre abondance au niveau du microbiote chez les individus porteurs de maladies inflammatoires de l'intestin (Frank et al, 2007).

*Bacteroides fragilis* et *Clostridium* spp induisent l'expression de Foxp3 par des mécanismes indépendants. En effet, *Bacteroides fragilis*, via le PSA, peut activer directement les cellules T CD4+ en induisant la production de TGF- $\beta$ 2, qui conduisent à la différenciation des Treg (Round et Mazmanian, 2010). A l'opposé, les espèces de *Clostridium* influencent la différenciation via la production de TGF- $\beta$ 1 par les cellules épithéliales (Atarashi et al, 2011). Il existe aussi des différences au niveau du signal permettant la différenciation des Tregs entre les 2 bactéries. Les Tregs isolés de souris déficientes en TLR2 ne se développent pas sous l'effet du PSA de *Bacteroides fragilis* et sécrètent un faible taux d'IL-10, ce qui montre l'exigence du TLR2 pour promouvoir le signal. Par contre, l'effet des *Clostridium* est indépendant des récepteurs associés à la reconnaissance de bactéries.

### 5.3.5 Interconnexions des fonctions

Les fonctions du microbiote, comme nous avons pu le voir, ne sont pas indépendantes mais imbriquées les unes à l'intérieur des autres (Figure 11).

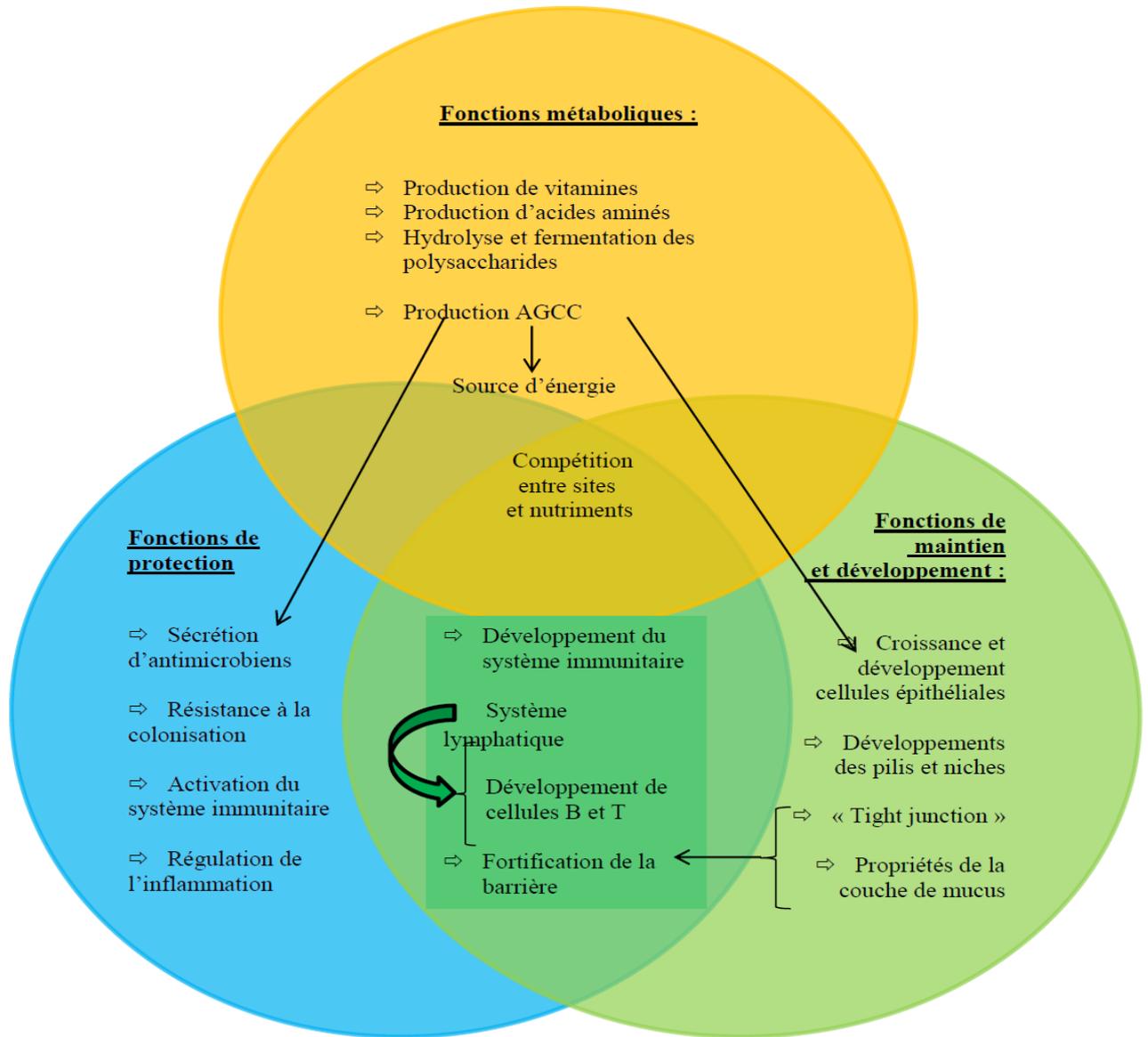


Figure 11 : Interconnexions des fonctions du microbiote intestinal

## 6 Dysbioses et pathologies

### 6.1 Dysbiose et pathologies métaboliques

#### 6.1.1 Obésité

L'obésité est définie comme un excès de poids qui est associé à de possibles conséquences sur la santé humaine comme un risque important de diabète, de maladies coronariennes, de cancers ou de maladies dégénératives. Ces conséquences augmentent le risque de mortalité (Figure 12). Chez l'adulte, l'obésité et le surpoids sont définis par l'index de masse corporelle (BMI : Body Mass Index), qui est le ratio du poids en kilogramme par le carré de la taille en mètre carré. Le surpoids est défini par un BMI entre 25,0 et 29,9 kg/m<sup>2</sup> et l'obésité par un BMI supérieur à 30,0 kg/m<sup>2</sup> (Bessesen, 2008). L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que plus de 1,7 milliards d'individus dans le monde sont en surpoids et 310 millions sont obèses. Le taux d'obésité a triplé depuis 20 ans dans les pays en voie de développement avec notamment 10% des enfants en surpoids ou obèses.

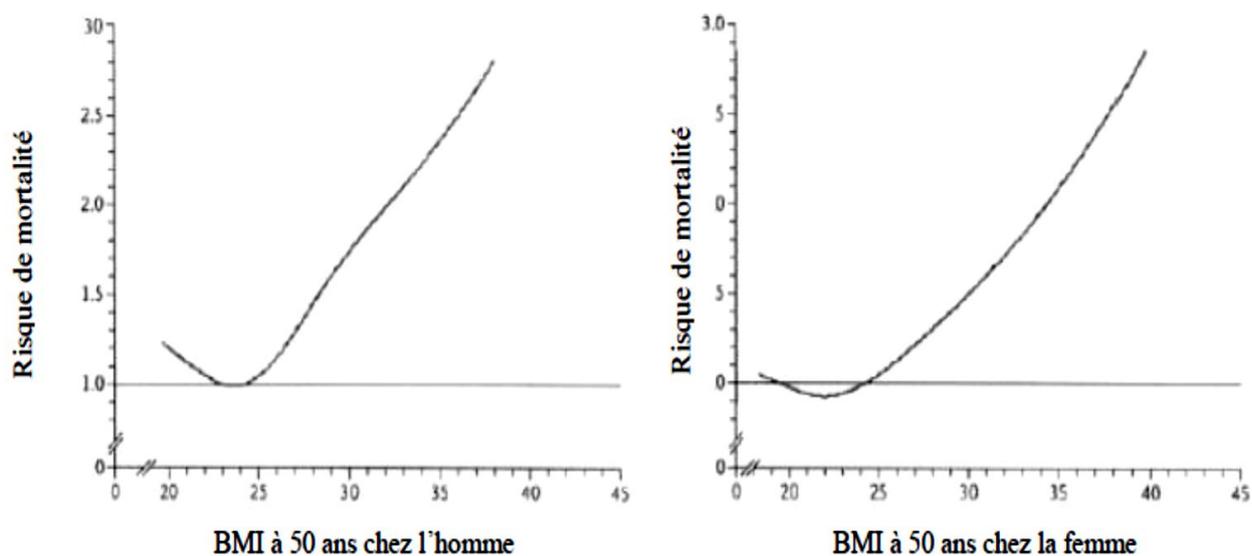


Figure 12 : Relation entre le BMI et la mortalité chez l'homme et la femme de 50 ans sains et non-fumeurs d'après Adams et al, 2006

#### 6.1.1.1 Le microbiote intestinal dans l'obésité

La mise en évidence d'une altération possible de la flore dans l'obésité a initialement été observée chez des souris ob/ob, rendues génétiquement obèses par déficit en leptine (Ley *et al*, 2005). Le phylum des *Bacteroidetes* s'est trouvé réduit de 50% chez les souris ob/ob alors que le phylum des *Firmicutes* a augmenté parallèlement. L'étude de la relation entre le régime alimentaire, le microbiote intestinal et l'homéostasie menant à l'extraction d'énergie a été étudiée sur des modèles de souris rendues obèses en leur soumettant un régime riche en sucre et en graisse (Turnbaugh *et al*, 2008). Cette étude a confirmé une partie des résultats de Ley et al, en effet le phylum des Firmicutes est apparu relativement plus abondant chez les souris alimentées avec le régime riche que les souris ayant une alimentation normale ainsi qu'un enrichissement des gènes servant à l'extraction et au stockage de l'énergie. Par contre, les changements au niveau de la composition du microbiote et de ses propriétés fonctionnelles sont totalement réversibles au retour d'un régime standard. Pour apporter une preuve supplémentaire que la flore intestinale joue un rôle dans l'obésité, la flore intestinale provenant du caecum de souris maigres et obèses a été transplantée chez des souris axéniques (Turnbaugh *et al*, 2008). Après 2 semaines, les souris portant le microbiote « obèse » étaient capables d'extraire plus de calories et présentaient un poids significativement plus important que les souris portant le microbiote « maigre » à régime alimentaire identique.

Chez l'homme, les résultats obtenus sont plus contradictoires. Les premières études ont confirmé les résultats trouvés dans les modèles animaux, comme dans une étude chez 12 sujets obèses (Ley *et al*, 2006) qui a montré une augmentation du ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* au niveau de la partie distale du colon. Les auteurs ont aussi observé qu'après une perte de poids (suite à un régime faible en calorie instauré sur 52 semaines) ce ratio diminuait pour s'approcher de celui des individus minces. Une étude ultérieure (Turnbaugh *et al*, 2009) sur 154 individus a confirmé la réduction des *Bacteroidetes* avec par

contre une augmentation du phylum des *Actinobacteria* et une diversité moindre du microbiote intestinal. A l'inverse plusieurs études n'ont pas confirmé (Schwiertz *et al*, 2010) et même trouvé une diminution du ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* (Duncan *et al*, 2008). Les différentes méthodologies utilisées pour analyser le microbiote pourraient expliquer les contradictions entre les résultats des diverses équipes. Récemment, trois marqueurs définis comme des « entérotypes » ont été identifiés chez les individus de différents pays et continents. Ces entérotypes sont identifiés par la variation du niveau des trois genres : *Bacteroides*, *Prevotella* et *Ruminococcus*. Il s'est avéré que ces entérotypes ne sont pas corrélés au BMI (ni à l'âge, apparenté ou nationalité) et aucune corrélation n'a été observé entre le poids et le ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* (Arumugam *et al*, 2011).

Cependant, l'hypothèse d'une modulation plus précise de la communauté bactérienne, genres voir espèces dépendant et non phylum dépendant dans l'obésité, est proposée par plusieurs études. Une analyse métagénomique sur des selles d'humains transplantées sur des souris axéniques a été entrepris en 2009 (Turnbaugh *et al*, 2009). Ces souris étaient séparées en deux groupes, l'un étant alimenté par un régime maigre et l'autre par un régime riche en graisse et en sucre (type occidental). Cette étude a permis de démontrer qu'un microbiote intestinal humain peut-être transféré à une souris axénique avec une remarquable conservation de structure et de diversité même si les selles étaient au départ congelées. De plus, le microbiote humanisé de ces souris possède des variations caractéristiques et reproductibles dans sa composition tout au long du tractus intestinal. Enfin, la configuration du microbiote, son microbiome et son meta-transcriptome changent d'une façon rapide, spectaculaire et reproductible après le changement d'un régime faible en polysaccharide en un régime de type occidental. Au niveau du microbiote, il a été observé une augmentation relative de la représentation de la classe des *Erysipelotrichi* (classe IV du phylum des *Firmicutes*). L'analyse phylogénétique a indiqué que cette augmentation de ces bactéries été plus

étroitement liée à *Clostridium innocuum*, *Eubacterium dolichum* et *Catenibacterium mitsuokai* (tous ces *Erysipelotrichi* avaient été précédemment isolés du tractus intestinal humain). Ce résultat a été confirmé par une étude récente (Fleissner *et al*, 2010), ce qui a tend à montré que cette classe de *Firmicutes* jouent un rôle important dans l'obésité. Cependant, les interactions entre ces bactéries et les mécanismes d'extraction et de stockage d'énergie restent à prouver. D'autre part, plusieurs publications ont montré que le genre *Bifidobacterium* était sous représenté chez des patientes enceintes en surpoids (Santacruz *et al*, 2010), mais aussi chez des enfants en surpoids (Kalliomaki *et al*, 2008). Dans cette dernière publication, les selles des enfants, étudiées à 3, 6, 12, 18 et 24 mois ainsi qu'à 4 et 7 ans, ont montré que la présence de *Staphylococcus aureus* dans les premiers mois de la vie était accrue chez les enfants développant une obésité plusieurs années après. Les auteurs ont proposé que *Staphylococcus aureus* pourrait être un acteur prépondérant dans la réaction inflammatoire de bas grade en contribuant au développement de l'obésité. Enfin et plus surprenant, une publication a décrit une augmentation des *Lactobacilli* dans la population obèse (Armougom *et al*, 2009). Ce résultat est paradoxal car la perte de poids due à un régime hypocalorique et à l'activité physique chez les adolescents en surpoids augmente les *Lactobacilli* (Santacruz *et al*, 2009). De plus, l'administration de probiotiques composés exclusivement d'espèces de *Lactobacilli* diminue les troubles métaboliques menant à l'obésité.

Ces données suggèrent que des changements spécifiques dans le microbiote intestinal caractérisent l'état d'obésité. Cependant, il est impossible de conclure au vu des publications récentes qu'une bactérie ou une espèce soit responsable d'une maladie aussi complexe que l'obésité (Delzenne *et al*, 2011).

### 6.1.1.2 Mécanismes

Derrière un apport trop important du régime alimentaire, plusieurs mécanismes liant la flore intestinale à l'obésité ont été proposés, incluant mécanismes d'inflammation de bas grade, altération des mécanismes métaboliques, dysrégulation du système nerveux endocrine et augmentation du système endocannabinoïde.

#### 6.1.1.2.1 Mécanismes d'inflammation de bas grade

Il est maintenant bien établi que dans l'obésité, un état inflammatoire de bas grade est localisé au niveau des tissus adipeux. Cependant, le microbiote peut aussi être une source d'inflammation potentielle.

Un premier travail en 2006 (Shi *et al*, 2006) a montré que les bactéries intestinales peuvent initier un état d'obésité et d'insulino-résistance suite à l'activité des lipopolysaccharides (LPS), un composant de la paroi des cellules des bactéries gram négatives, qui peut déclencher un processus inflammatoire en se liant aux CD14 des récepteurs Toll-like de type 4 (TLR-4) à la surface des cellules immunitaires innées. Ce mécanisme a été confirmé dans la même étude sur des souris présentant une délétion en TLR4 et qui ne présentaient pas malgré un régime riche en graisse une insulino résistance et un gain de poids. De même, Cani et al (Cani *et al*, 2007) ont démontré qu'après 4 semaines d'alimentation riche en graisse, les souris obèses présentaient une altération de la flore intestinale, mais aussi un taux de LPS plasmatique augmenté de 2 à 3 fois comparé à la normale. Il appela cet état l'« endotoxémie métabolique » pour le différencier de celui observé lors de choc septique où le taux est beaucoup plus élevé. Puis, il a procédé à des injections de LPS sous-cutané ce qui entraîna les mêmes anomalies métaboliques induit par un régime riche en graisse. Enfin, des souris déficientes en TLR4 (CD14KO) se sont montrées résistantes aux effets du régime alimentaire mais aussi aux injections de LPS. Ces même souris présentaient aussi une hypersensibilité à

l'insuline même lors de régime pauvre en graisse, ce qui suggère que les TLR4 pourraient moduler la sensibilité de l'activité de l'insuline dans des conditions physiologiques. Dans une autre étude (Cani *et al*, 2008), le changement de la composition de la flore intestinale induit par un traitement antibiotique réduit l'endotoxémie métabolique et le contenu caecal en LPS chez la souris obèse ob/ob et chez la souris nourrit par un régime riche en graisse.

L'alimentation par un régime riche en graisse induit une augmentation significative post prandiale du taux de LPS qui est accompagné d'une augmentation de l'expression des TLR-4 sur les cellules mononuclées et du facteur nucléaire kappa B (NF- $\kappa$ B) (Anderson PD *et al*, 2007). Cette activation des TLR4 induit la sécrétion d'IL-6, de et de TNF- $\alpha$ , prouvant ainsi le rôle du LPS dans la l'inflammation.

Dans une étude récente, un autre Toll-like récepteur a été mis en cause dans la régulation de l'inflammation par le microbiote, le TLR5 (Vijay-Kumar *et al*, 2010). Des souris génétiquement déficientes en TLR5 (TLR5<sup>-/-</sup>) présentent une flore intestinale altérée, une obésité ainsi qu'un syndrome métabolique avec hyperlipidémie, hypertension et résistance à l'insuline. En comparaison des souris génétiquement obèses qui présentaient une inversion du ratio *Bacteroides/Firmicutes*, les souris TLR5<sup>-/-</sup> montraient une altération sur une centaine de phylotypes différents. Une relation directe a été démontrée entre le microbiote altéré et l'obésité en transplantant une flore intestinale de souris TLR5<sup>-/-</sup> chez des souris axéniques. Ces dernières présentaient un gain de poids et une hyperphagie en comparaison aux souris contrôles.

Ces résultats soutiennent la thèse émergente que le microbiote intestinal contribue à l'obésité et suggère que le dysfonctionnement du système immunitaire pourrait promouvoir le développement de troubles en relation avec l'obésité (Lakhan et Kirchgessne, 2011).

#### 6.1.1.2.2 Mécanismes métaboliques sur la régulation des graisses

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

En effet, la diminution de la sécrétion du Fast-induced factor adipocyte Factor (Fiaf), inhibiteur de la lipoprotéine lipase, pourrait entraîner une augmentation d'activité de la Lpl et donc amener un stockage des graisses plus important au niveau des tissus, du foie et du cerveau.

De même, une altération du microbiote intestinal, et donc des métabolites produits, pourrait être à l'origine d'une stimulation moins importante de la protéine G, Gpr41. La stimulation du Gpr41 par l'acétate et le propionate pourrait induire la sécrétion locale du peptide YY (Pyy), hormone entéroendocrine, responsable de l'inhibition de la motilité intestinale et de l'accélération du transit (Samuel BS *et al*, 2008). Cette diminution de Pyy serait donc à l'origine d'une augmentation d'absorption des graisses par augmentation de la motilité intestinale et baisse de la vitesse du transit.

Ces expériences n'étant conduites que sur des modèles de souris, il est difficile de l'extrapoler chez l'homme. De plus, le rôle de la flore intestinale a bien été prouvé, mais pas de lien précis avec une espèce ou famille de bactéries n'a été décrit.

#### 6.1.1.2.3 Rôle du système nerveux entérique.

Le système nerveux entérique (SNE), sous des conditions physiologiques et pathologiques, régule les fonctions intestinales et coordonne les activités du tractus intestinal. Le SNE est de plus en plus reconnu comme un gardien de la régulation de l'intégrité de la barrière épithéliale, on lui attribue aussi un rôle potentiel dans l'immunomodulation. La présence d'une inflammation due à une dysbiose pourrait provoquer des changements persistants dans

le SNE est être responsable de troubles de motilité, hypersensibilité et dysfonctions (Lakhan et Kirchgessne, 2011).

#### 6.1.1.2.4 Augmentation du système endocannabinoïde

Le système endocannabinoïde (eCB) est composé de lipides endogènes qui activent spécifiquement des récepteurs couplés à des protéines G appelés Cannabinoïd Receptor 1 et 2. Différents articles ont corrélé l'obésité avec un emballement du système eCB qui a pour effet d'augmenter la concentration plasmatique et dans le tissu adipeux d'endocannabinoïdes ainsi que d'altérer l'expression du récepteur cannabinoïde 1 (CB1 mRNA). De plus, plusieurs études ont suggéré une relation étroite entre taux de LPS et système endocannabinoïde que ce soit *in vivo* ou *in vitro*. Deux études récentes (Muccioli et al, 2010 ; Geurts et al, 2011) ont prouvé que l'altération de la flore intestinale modulait l'expression du récepteur cannabinoïde 1 et que ce dernier jouait un rôle dans la perméabilité intestinale. Cependant le rôle d'une bactérie spécifique n'a pas été encore déterminé.

#### 6.1.1.3 Conclusions :

Il paraît évident à la vue des résultats observés chez les souris axéniques auxquels on transplante un microbiote de souris obèses que la flore bactérienne intestinale joue un rôle dans l'obésité. De plus, un régime riche en graisses et en sucres, en plus d'apporter des calories génère et entretient une dysbiose qui a pour effet de potentialiser l'extraction et le stockage de graisses. Cependant, des études complémentaires devront être réalisées pour définir les bactéries responsables ainsi que la cinétique d'apparition et les facteurs déclenchant de cette dysbiose. De plus, les mécanismes devront être précisés et plus particulièrement les interactions entre les bactéries et le l'hôte.

### 6.1.2 Diabète de type II

La flore bactérienne dans le diabète non insulino-dépendant (DNID) a été moins étudié. De plus, le DNID est souvent associé à l'obésité ce qui rend difficile d'interpréter si la dysbiose a pour origine l'obésité ou le diabète. Le lien entre l'obésité et la résistance à l'insuline a d'ailleurs été observé sur des souris axéniques, en effet la décroissance du poids est associée à l'augmentation de la sensibilité à l'insuline (Bäckhed et al, 2006 ; Bäckhed et al, 2007).

Cependant, Cani et al (Cani *et al*, 2007) a suggéré que le diabète non insulino-dépendant pourrait être associé à une abondance de bactéries gram négatives (tels que les *Bacteroidetes*) et que la présence de *Bifidobacterium* spp était négativement corrélée au processus inflammatoire. A l'opposé, dans une autre étude (Wu *et al*, 2009), le séquençage de selles d'individus sains et de sujets atteints de diabétiques de type 2 a montré que l'espèce *Bacteroides vulgatus* et le genre *Bifidobacterium* étaient moins représentés dans la population diabétique. La publication la plus récente, sur 36 adultes porteurs d'un DNID, a montré comme dans l'obésité que le phylum des *Firmicutes* (notamment la classe des *Clostridia*) était moins représenté que chez le sujet sain. De plus, le ratio *Bacteroidetes/Firmicutes* ainsi que le ratio *Bacteroides-Prevotella/Clostridium coccoides-Eubacterium rectale* étaient corrélés positivement et significativement avec la concentration de glucose dans le sang mais pas avec le BMI. Similairement, la classe des *Proteobacteria* était aussi augmentée chez les sujets diabétiques et positivement corrélée avec la glycémie (Larsen et al, 2010).

Au niveau mécanisme d'action, Dumas et al, ont démontré que le microbiote intestinal pourrait affecter la résistance à l'insuline et la stéatose en régulant le métabolisme de la choline (Dumas et al, 2006). Le métabolisme de la choline en méthylamine est réalisé entièrement par le microbiote, puis le triméthylamine (TMA) est absorbé par l'intestin et transporté au foie où il est éliminé par métabolisme hépatique. Le mécanisme proposé pour l'augmentation de la résistance à l'insuline et la stéatose pourrait être l'élévation du

métabolisme de la choline en TMA, ce qui a pour effet de diminuer la biodisponibilité de la choline, qui est un précurseur de la phosphatidylcholine et pourrait causer l'accumulation des triglycérides au niveau hépatique (Jiang et al, 2005). L'inflammation métabolique causée par le niveau élevé d'endotoxines, ou la régulation d'hormones par le microbiote peuvent être des voies additionnelles par lesquelles la flore microbienne affecte le métabolisme du glucose chez l'homme (Bäckhed, 2010)

### 6.1.3 Diabète de type I

Le diabète de type I, diabète insulino-dépendant (DID) est une maladie auto-immune médiée par les cellules T entraînant la destruction des cellules bêta du pancréas responsables de la sécrétion d'insuline. Le DID parmi les enfants et les adolescents a, pour des raisons inconnues, augmenté dans les pays occidentaux durant la dernière décennie. De manière surprenante, certains articles ont associé altération de la flore intestinale et progression du DID. Comme dans l'obésité, la décroissance du phylum des *Bacteroidetes* pourrait jouer un rôle dans la pathogénicité et ces changements de la flore sont détectables avant le début clinique de la maladie (Brugman *et al*, 2006). Récemment, l'interaction entre le microbiote et le système immunitaire inné a montré que le microbiote pouvait être considéré comme un facteur prédisposant au DID (Wen et al, 2008). Dans leurs premières séries d'expériences, les auteurs ont trouvé que les souris NOD (génétiquement non obèse et diabétique) et déficientes en MyD88 (composant clé pour la reconnaissance des stimuli bactériens par les Toll Like Recepteurs, du système immunitaire) ne présentaient pas de diabète. Curieusement, cet effet est dépendant d'une flore bactérienne normale. En effet, des souris NOD, déficientes en MyD88 et axéniques développent un diabète de même intensité que les souris NOD non déficientes en MyD88. Dans une deuxième série, les auteurs ont démontré que les souris NOD déficientes en MyD88 altéraient leurs microbiotes en comparaison aux souris NOD non déficientes, et qu'en transférant cette flore altérée dans des souris NOD axéniques, le diabète

était atténué. Ces études suggèrent fortement que les variations d'un microbiote individuel pourraient affecter le développement d'un DID. En 2011, une première étude métagénomique pour comparer des selles d'enfants touchés par le DID (malades), d'enfants sains (contrôles) a été réalisée (Brown *et al*, 2011). Les principales différences sont rencontrées avec le genre *Bacteroides*, augmenté chez les diabétiques alors que le genre *Prevotella* était fortement diminué chez ces derniers (figure 13). La diminution des *Bacteroides* chez les sujets sains comparés aux malades est entièrement compensée par les *Prevotella* et les bactéries productrices de butyrate (figure 14) telles qu'*Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Anaerostipes*, *Roseburia*, *Subdoligranulum* et *Faecalibacterium*. Or, il est accepté que le butyrate possède un rôle anti-inflammatoire, induit la synthèse de mucines, diminue la translocation bactérienne au niveau des cellules épithéliales et améliore la barrière intestinale en augmentant l'assemblage des « tight junction ». De plus, les mucines sont des glycoprotéines synthétisées par l'hôte pour maintenir l'intégrité de l'épithélium intestinal. Les auteurs avancent que la diminution du butyrate au niveau intestinal chez les malades entraînerait une augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale et donc du transfert de bactéries et d'antigènes qui pourraient contribuer au développement d'une réaction auto-immune et donc l'établissement d'un diabète insulino-dépendant. Enfin, *Prevotella* et *Akkermansia*, connues pour dégrader les mucines, sont pratiquement absents chez les sujets porteurs de DID (faible producteurs de mucines). Leurs présences dans l'intestin pourraient témoigner du contenu en mucines et peut-être contribuer à un diagnostic sur la perméabilité de l'épithélium.

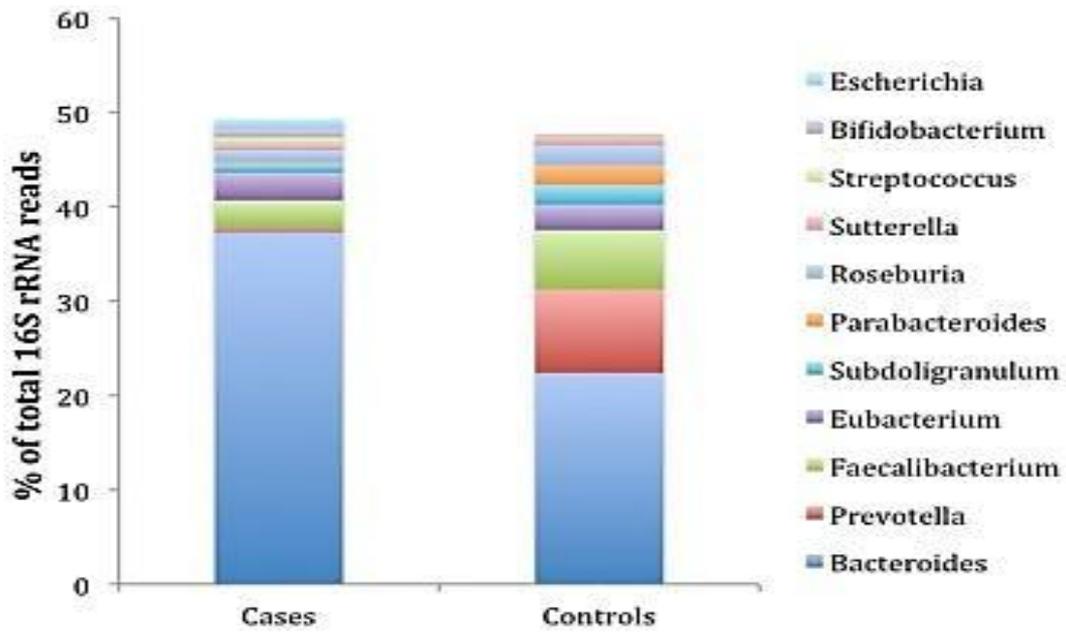


Figure 13 : Proportion moyenne des 11 genres bactériens les plus abondants entre les sujets diabétiques et sains d’après Brown *et al*, 2011.

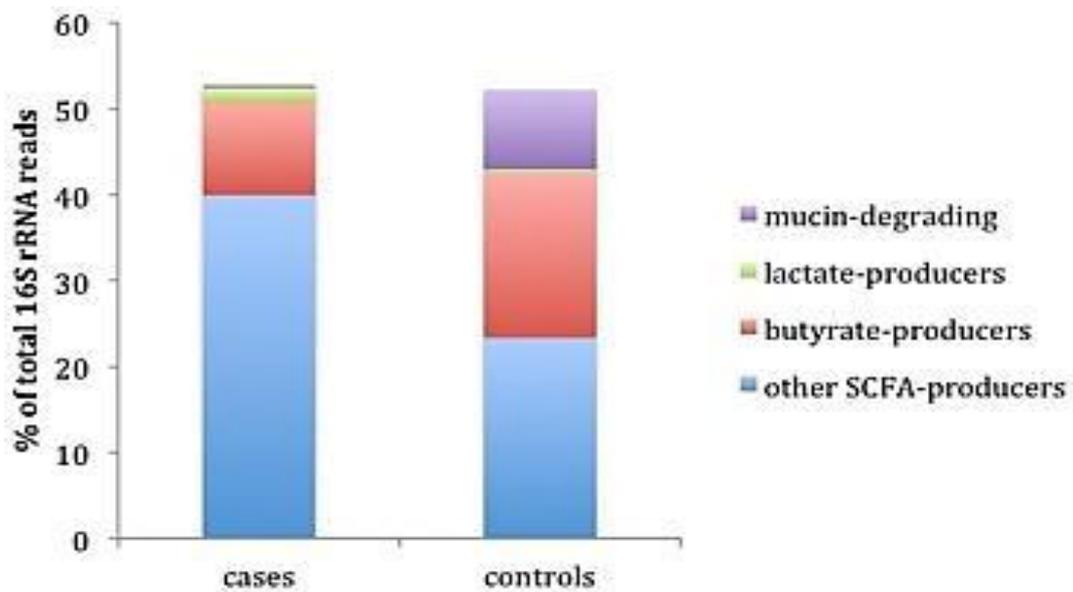


Figure 14 : Proportion moyenne de 4 groupes de fonctions entre diabétiques et sains d’après Brown *et al*, 2011

## 6.2 Dysbiose et maladies intestinales

### 6.2.1 Maladies inflammatoires chroniques intestinales :

La pathogénie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), qui regroupe la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH), n'est toujours pas complètement élucidée. Comme dans la majeure partie des maladies immunitaires, un ensemble de facteurs est avancé tels que la prédisposition génétique (NOD2, IL-23R, ATG16L1 et IRGM), l'activation inappropriée du système immunitaire muqueux intestinal et l'altération du microbiote intestinal, stimuli du système immunitaire. Par ailleurs, la plupart des gènes actuellement reconnus comme impliqués dans la pathogénie des MICI sont liés aux interactions entre les bactéries et le système immunitaire. L'hypothèse impliquant un déficit en défensines dans la survenue de la maladie de Crohn renforce le rôle prépondérant de la barrière intestinale dans l'homéostasie intestinale (Seksik, 2010). Enfin, l'augmentation de l'incidence des MICI dans les pays industrialisés souligne le rôle des facteurs environnementaux et plus particulièrement le régime alimentaire et l'utilisation des antibiotiques.

Les patients atteints de MICI (particulièrement ceux porteurs de MC) possèdent des anticorps (IgG) dirigés contre des antigènes de bactéries commensales de l'intestin. Certains patients porteurs de MC ont des anticorps contre une protéine de membrane externe d'*E. coli* (anti-Omp) mais aussi des anti-I2 (antigène issu de *Pseudomonas fluorescens*) et surtout des anticorps contre *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) qui sont présents dans 50-60 % des MC. Chez les individus atteints de rectocolite hémorragique, les pANCA (perinuclear Antineutrophilic Cytoplasmic Antibody) reconnaissent un épitope bactérien commensal du côlon (*Bacteroides caccae* et *E. coli*) et sont retrouvés dans 60 à 90 % des RCH. La présence

d'anticorps contre *Bacteroides vulgatus* a aussi été décrite (Seksik, 2010 ; Chassaing et Darfeuille-Michaud, 2011).

Deux stratégies complémentaires ont été poursuivies jusqu'à ce jour pour trouver la cause des MICI : 1) une recherche de micro-organismes pathogènes 2) une dysbiose.

#### 6.2.1.1 Bactéries entéropathogènes et MICI

Plusieurs micro-organismes candidats ont été étudiés au cours des MICI et plus précisément deux bactéries, *Escherichia coli* adhérent-invasif (AIEC) et *Mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP) qui font l'objet de recherche intensive concernant essentiellement la maladie de Crohn (Seksik, 2010).

Les *Escherichia coli* associés au mucus intestinal (AIEC) chez les porteurs de Crohn sont fortement adhérents aux cellules épithéliales intestinales et possèdent des propriétés invasives. Ces souches ont été isolées chez 36,4 % de patients atteints de Crohn contre seulement 6 % chez les sujets sains. La plus grande prévalence des AIEC dans la MC pourrait être associée à une incapacité de la muqueuse intestinale à contrôler cette infection, incapacité qui pourrait être due à une diminution de sécrétions de peptides antimicrobiens, à une déficience en autophagie (mutations des gènes NOD2, ATG16L1 ou IRGM) ou une expression anormalement élevée au niveau iléal des molécules d'adhésion de l'antigène carcino-embryonnaire (CEACAM6 : Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6). La plupart des souches d'AIEC trouvées chez les sujets porteurs de MC expriment un pili de type 1 variant qui augmente l'interaction entre la bactérie et les cellules épithéliales iléales. La présence d'AIEC ainsi que leurs pouvoirs d'induire des cytokines pro-inflammatoires peuvent mener à une amplification de la boucle colonisation-inflammation. En effet, dans la phase précoce du développement de la maladie de Crohn, les souches AIEC adhèrent à la muqueuse iléale saine par les pili de type 1 reconnue par les CEACAM6 exprimés anormalement par les

cellules intestinales. Les AIEC ont la capacité de pénétrer dans les cellules épithéliales et d'altérer la barrière intestinale pour atteindre la *lamina propria*. A ce niveau, les AIEC peuvent induire la sécrétion d'IL-8 et CCL-20 par interaction entre les flagellines et les TLR5 des cellules épithéliales intestinales, menant au recrutement de polynucléaires neutrophiles et cellules dendritiques. Après phagocytose par les macrophages, les AIEC intracellulaires se répliquent dans une vacuole, induisant une production de TNF- $\alpha$  et IL-12, qui activent les cellules Th1 produisant de l'IFN- $\gamma$ . Au niveau de cette muqueuse inflammatoire, l'expression du CEACAM6 est augmentée en réponse à la stimulation du TNF- $\alpha$  et de l'IFN- $\gamma$  mais aussi par stimulation des CEACAM6 par les AIEC, créant une boucle de colonisation et d'inflammation ce qui mène à la chronicité de la maladie et à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires IL-6, IL-12, IL-23 et IL-17 (Chassaing et Darfeuille-Michaud, 2011). Les dernières publications datant de 2011 ont corroboré la présence des *Escherichia coli* adhérent-invasif chez les porteurs de Crohn versus contrôles (Raso et al, 2011), par contre aucune mutation n'a été décelée au niveau des CEACAM6 qui aurait pu expliquer la surexpression dans la maladie (Glas et al, 2011).

*Mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP) est également suspecté d'avoir un rôle dans la pathogénèse de la maladie de Crohn. MAP a été isolé dans plusieurs types d'échantillons (biopsies intestinales et au sein de granulomes) et plus fréquemment chez les patients atteints de MC. Suite à cette découverte, une étude randomisée (Selby et al, 2007), en double aveugle et contre placebo, a évalué l'efficacité d'un traitement antibiotique combiné sur deux ans (clarythromycine, rifabutine et clofazimine) dans le maintien de la rémission clinique après sevrage de corticoïdes. Les auteurs ont conclu que leurs résultats n'étaient pas en faveur du rôle de MAP dans la MC. Néanmoins, leur statut vis-à-vis du MAP n'a pas été étudié avant l'inclusion dans l'essai. Selsik propose qu'il existerait un sous-groupe de maladie de Crohn

induit par MAP, et donc qu'un traitement antibiotique antituberculeux ne serait adressé qu'à ce sous-groupe (Seksik, 2010).

D'autres bactéries ont été aussi incriminées dans la survenue de la maladie de Crohn, on peut citer *Yersinia enterocolitica* (prévalence des anticorps augmentée dans la MC), *Campylobacter* et *Salmonella* (Saebo et al, 2005 ; Gradel et al, 2009 ; Jess et al, 2011).

#### 6.2.1.2 Le microbiote intestinal dans la MICI

Depuis 2005, une multitude d'études ont été réalisées sur la différence de composition de la flore microbienne intestinale chez le sujet porteur de maladie inflammatoire chronique de l'intestin et les individus sains (Tableau I). Ces expérimentations ont été réalisées soit sur des selles soit sur des biopsies de la muqueuse iléale. La plupart des résultats ont montré la réduction de diversité de la flore bactérienne et plus particulièrement des trois phylums principaux du microbiote intestinale (*Firmicutes*, *Bacteroidetes* et *Actinobacteria*).

Les premières analyses dans les années 2005 et 2006 ont montré une diminution quantitative des *Firmicutes* et notamment du groupe des *Clostridium leptum* (clusters IV). Ces résultats ont été corrélés avec les dernières publications où l'emploi de nouvelles techniques moléculaires telles que le pyroséquençage ou le séquençage à haut-débit, à préciser l'espèce en cause, *Faecalibacterium prausnitzii*. Au vu du nombre important d'articles relatant le déficit en *Faecalibacterium prausnitzii* au niveau des biopsies iléales ou au niveau des selles, il apparaît évident que l'absence de cette souche joue un rôle dans la rupture de l'homéostasie immunitaire. Par ailleurs, Sokol et al ont montré dans un modèle *in-vitro* que la stimulation de cellules mononuclées du sang par *F. prausnitzii* menait à une diminution de la sécrétion d'IL-12 et d'INF- $\gamma$  et à une augmentation de sécrétion d'IL-10. Dans ce même article, une administration orale de *F. prausnitzii* vivants à des souris ayant une inflammation colique induite par l'acide 2,4,6-trinitrobenzenesulphonique (TNBS), a montré une diminution de

l'inflammation locale et une correction de la dysbiose générée par cette inflammation. Enfin, *F. prausnitzii* possède des effets anti-inflammatoires (*in-vivo* et *in-vitro*) en sécrétant des métabolites qui bloquent l'activation des NF-kappaB et la production d'IL-8 (Sokol et al, 2008).

Autre constante, la décroissance des *Bifidobacterium* retrouvée dans 3 publications et souvent associée à la décroissance de *F. prausnitzii*, mais aussi l'augmentation des bactéries aérobies, notamment les entérobactéries, et les bactéries anaérobies facultatives, représentées par le genre *Enterococcus*. La présence importante du genre *Enterobacteriaceae* peut s'expliquer par le pouvoir pro-inflammatoire des bactéries gram négatives (LPS-dépendant) déjà expliqué dans l'obésité mais aussi par la présence de ces souches *Escherichia coli* adhérent-invasif au niveau de la muqueuse épithéliale intestinale.

L'augmentation des *Ruminococcus* et notamment *R. gnavus* et *R. torques* peut s'expliquer par leurs propriétés mucolytiques. En effet, il a été démontré que la présence de bactéries pénétrant à l'intérieur de la couche de mucus est de 30 % chez le patient atteint de MICI alors qu'elle n'est que de 3 % chez l'individu sain. Les bactéries pourraient donc avoir un contact plus étroit avec les cellules épithéliales et potentialiser l'inflammation locale (Chassaing et Darfeuille-Michaud, 2011).

Dysbiose associée à la MICI :	Technique / échantillon	MICI	Bibliographies
Réduction de la diversité du phylum des <i>Firmicutes</i> en particulier <i>Clostridium leptum</i>	FISH Selles	MC	Manichanh et al, 2005
Réduction dans MC : <i>Clostridium leptum</i> Réduction dans RCH : <i>Clostridium coccoïdes</i>	FISH Selles	MC et RCH	Sokol et al, 2006
Augmentation des bactéries aérobies et anaérobies facultatives associées au mucus chez MC Diminution de <i>Bacteroides vulgatus</i> chez MC	PCR Biopsies (enfant)	MC	Conte et al, 2006
Quantité de bactéries plus importantes dans RCH que dans MC	PCR-DGGE Biopsies	MC et RCH	Bibiloni et al, 2006
Plus grande diversité du phylum des <i>Bacteroidetes</i> dans la MC			
Augmentation des <i>Proteobacteria</i> et <i>Bacteroidetes</i>	Séquençage haut-débit Biopsies	MC	Gophna et al, 2006
Diminution des <i>Clostridium</i>			
Diversité moins importante dans les principaux phylums dans la MC	PCR-DGGE Biopsies	MC	Scanlan et al, 2007
Augmentation des <i>Ruminococcus</i> et <i>Escherichia coli</i>	PCR-DGGE Biopsies	MC	Martinez-Medina et al, 2007
Diminution des <i>Faecalibacterium</i>			
Augmentation de <i>Bacteroides ovatus</i> et <i>B. vulgatus</i>	PCR-RFLP Selles (enfants jumeaux)	MC	Dicksved et al, 2008
Diminution de <i>B. uniformis</i>			
Augmentation des champignons en comparaison à RCH et sains	PCR-DGGE Selles	MC	Ott et al, 2008
Réduction de <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Séquençage Biopsies	MC	Sokol et al, 2008
Augmentation des <i>Bacteroides</i> et <i>Enterobacteriales</i>			
Réduction des <i>Clostridium cluster IV, XI et XIVa</i>	PCR-RFLP	MC	Andoh et al, 2009
Augmentation de bactéries TM7 dans la MC et la RCH	FISH Biopsies	MC et RCH	Ott et al, 2009
Réduction de <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Séquençage Biopsies	MC	Willing et al, 2009
Augmentation des <i>Escherichia coli</i>			
Réduction de <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Séquençage Selles	MC	Sokol et al, 2009
Réduction de <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> et <i>Bifidobacterium</i>	PCR temps réel Selles (enfant)	MC	Schwartz et al, 2010
Augmentation des <i>Escherichia coli</i>			
Le noyau du microbiome muqueux est différent entre les patients porteurs de MICI et les individus sains.	Pyroséquençage Biopsies	MC et RCH	Gillevet et al, 2010
Augmentation des <i>Enterobacteriaceae</i> et <i>Ruminococcus gnavus</i>	Pyroséquençage Selles	MC	Willing et al, 2010
Réduction des <i>Faecalibacterium</i> et <i>Roseburia</i>			
Augmentation des <i>Escherichia coli</i> et <i>Enterococcus faecium</i>			
Réduction des <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , <i>Ruminococcus bromii</i> , <i>Oscillibacter valericigenes</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , et <i>Eubacterium rectale</i>	PCR temps réel Selles	MC	Mondot et al, 2011
Diminution <i>Eubacterium rectale</i> , <i>Bacteroides fragilis group</i> , <i>B. vulgatus</i> , <i>Ruminococcus albus</i> , <i>R. callidus</i> , <i>R. bromii</i> , et <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>			
Augmentation <i>Enterococcus sp.</i> , <i>Clostridium difficile</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Shigella flexneri</i> , et <i>Listeria sp</i>	Microarray Selles	MC	Kang et al, 2011
Diminution de <i>Dialister invisus</i> , <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i> et une espèce non caractérisé de <i>Clostridium</i> du groupe XIVa	PCR-DGGE	MC	Joossens et al, 2011
Diminution de <i>Ruminococcus gnavus</i>			
Diversité microbienne diminuée chez la MC			
Diminution des <i>Firmicutes</i> dans les MICI	Séquençage haut débit	MC et RCH	Walker et al, 2011
Augmentation des <i>Bacteroides</i> dans les MICI, <i>Enterobacteriaceae</i> dans la MC			
Diminution des <i>Clostridium</i> dans la MC et RCH			
Augmentation des <i>Bacteroides</i> dans la MC	PCR-RFLP	MC et RH	Andoh et al, 2011

**Tableau I : Principales publications sur la dysbiose et les maladies inflammatoires de l'intestin**

### 6.2.1.3 Facteurs affectant le microbiote intestinal

Dans la maladie de Crohn, l'augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale pourrait promouvoir la translocation de bactéries à travers la muqueuse intestinale. Ce dysfonctionnement observé chez des patients porteurs de maladie de Crohn active est le résultat d'up-régulation de claudine 2 (qui forment des pores) et une down-régulation des claudine 5 et 8 (qui scellent la barrière) ce qui mène à une discontinuité des « tight-jonctions » (Zeissig et al, 2007).

L'altération des fonctions des défensines, peptides antimicrobiens, peut expliquer aussi l'augmentation de la flore au niveau de la muqueuse intestinale. En effet, la MC localisée au niveau iléale est associée à une décroissance d'expression de  $\alpha$ -défensines alors que la MC localisée au niveau colique est associée à la décroissance d'expression de  $\beta$ -défensines (Aldhous et al, 2009 ; Nuding et al, 2007 ; Wehkamp et al, 2005).

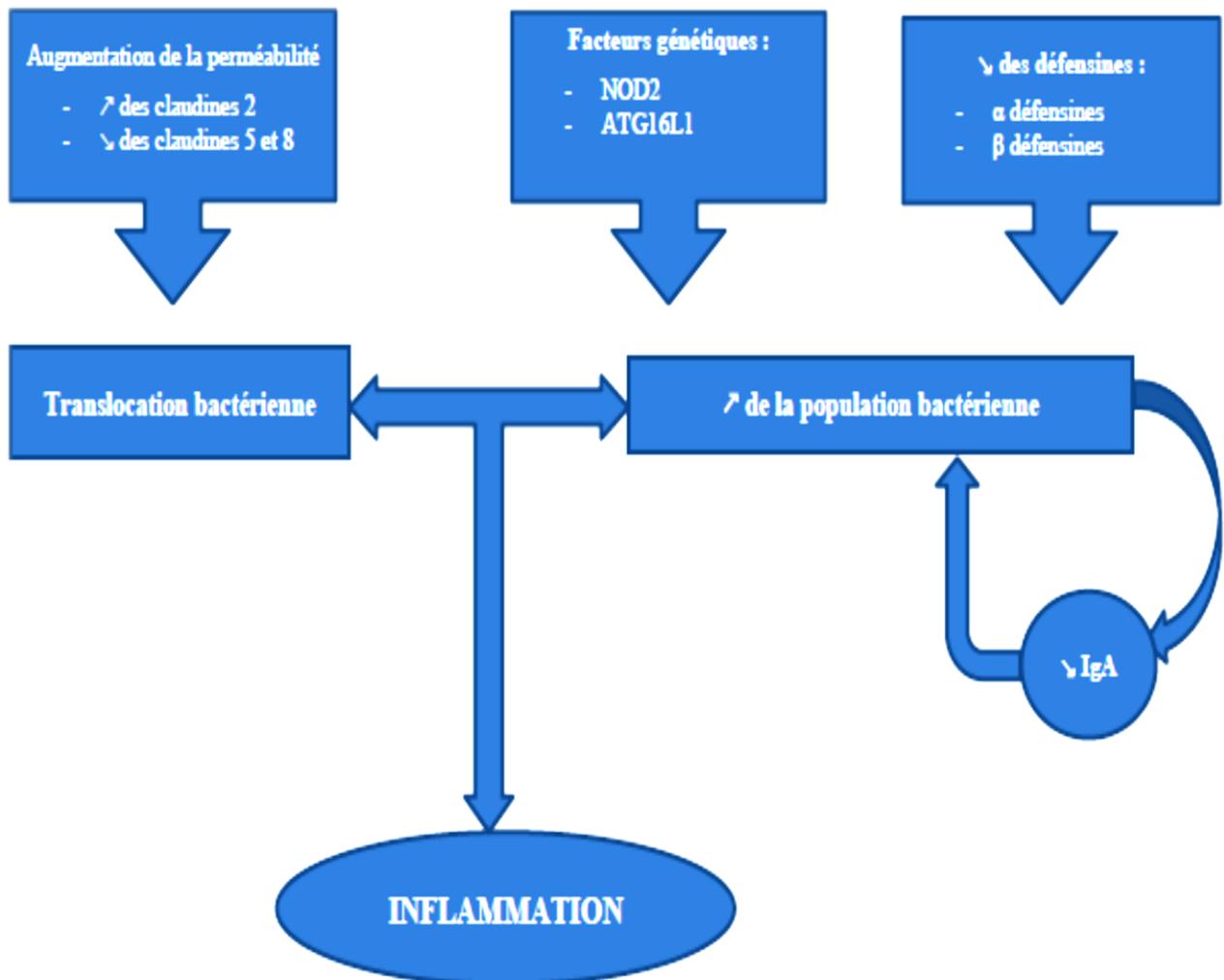
L'augmentation de bactéries gram négatives (tableau I) au niveau de la muqueuse intestinale est un marqueur de la diminution de la sécrétion d'IgA, immunoglobuline responsable de défense de l'hôte contre les agents pathogènes.

Enfin, les études génétiques ont identifié deux mutations importantes au niveau des gènes NOD2 (Nucleotide oligomerization domain 2) et ATG16L1 (autophagy related protein 16-like 1). Ces mutations entraîneraient une modification de sécrétions de peptides antimicrobiens ainsi qu'une diminution de l'autophagie responsable de l'élimination des agents pathogènes (Chassaing et Darfeuille-Michaud, 2011).

Tous ces mécanismes vont dans le sens d'une augmentation de la population bactérienne au niveau de la muqueuse intestinale et d'une augmentation de la pénétration de ces germes ce qui mène à une dérégulation de l'homéostasie immunitaire entraînant une inflammation locale. De plus, la composition de la flore est aussi altérée (Tableau I) avec la présence de

bactéries gram négatives et notamment d'*E. coli*. Ces souches porteuses de LPS sont aussi responsables de sécrétions de métabolites pro-inflammatoires.

En résumé, la survenue des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin est un ensemble de facteurs génétiques et environnementaux (Figure 15) qui entraînent une dysbiose quantitative et qualitative responsable de l'inflammation locale.



**Figure 15 : Facteurs influençant le déclenchement par le microbiote intestinal**

## 6.2.2 Syndrome de l'intestin irritable

Le syndrome de l'intestin irritable (SII) est un trouble gastro-intestinal fonctionnel qui est caractérisé par un inconfort ou une douleur chronique abdominal avec des épisodes de constipation ou de diarrhée, sans anomalie organique. Le SII n'est pas une maladie grave mais connaît une prévalence importante de l'ordre de 10-15% chez l'adulte. Traditionnellement, une altération de l'axe système nerveux central-système nerveux intestinal a été acceptée comme un des principaux mécanismes du SII, associée avec un dysfonctionnement du système nerveux autonome du tractus intestinal. Mais récemment, des mécanismes additionnels potentiels ont émergé comme l'altération du microbiote intestinal et une inflammation de bas grade (Lee et Bak, 2011). Cette altération de la flore est encore controversée et plusieurs hypothèses ont été mises en avant.

Il a été décrit que la majorité des patients souffrant de SII ont été atteints d'infections aiguës intestinales dues aux espèces *Salmonella* et *Shigella* et à *Campylobacter jejuni* (McKendrick et Read, 1994 ; Thornley *et al*, 2001 ; Ji *et al*, 2005 ; Spiller, 2007). Ces études montreraient que le point de départ de la maladie est en faveur d'une rupture d'homéostasie immunitaire et d'une augmentation de l'inflammation locale.

D'autres études ont montré que l'altération de cette flore était de nature quantitative et non liée à la présence de germes pathogènes. Cependant les études sont difficilement corrélables entre elles du fait de la technique utilisée (test respiratoire à l'hydrogène) (Lin, 2004 ; Lee et Pimentel, 2006). Dans la majorité des cas, le microbiote de SII est quantitativement plus important que chez le sujet sain. Par contre, une étude récente basée sur la culture bactérienne d'une aspiration jéjunale n'a pas montré de différences entre individus atteints de SII et sains (Posserud *et al*, 2007). Des études avec les nouvelles techniques moléculaires devront être réalisées pour conclure sur l'hypothèse de la prolifération bactérienne au niveau intestinal.

L'altération qualitative de la flore bactérienne a été aussi observée chez le sujet porteur de syndrome de l'intestin irritable. Les dernières publications, toutes utilisant des techniques moléculaires, ont montré une diminution constante de l'espèce *Bifidobacterium* que ce soit chez le SII avec diarrhée ou avec constipation (Malinen et al, 2005 ; Kerckhoffs et al, 2009). Une étude récente, en plus de la diminution des *Bifidobacterium*, a décrit une augmentation des *Proteobacteria* et des *Firmicutes* ainsi qu'une diminution des *Bacteroides* et *Acinetobacter* (Krogius-Kurikka et al, 2009).

Au niveau immunologique, les Toll-like récepteurs 4 et 5 sont surreprésentés au niveau de la muqueuse du colon chez les patients atteints de SII. De plus, les niveaux d'anticorps anti-flagelline et anti- $\beta$ défensine2 sont plus élevés (Lee et Bak, 2011).

Enfin, beaucoup d'études ont indiqué que les probiotiques pourraient jouer des rôles importants dans le maintien de l'homéostasie intestinale par modulation de l'immunité et augmentation des fonctions de la barrière épithéliale. De même, des études cliniques et des méta-analyses ont montré que certains traitements à base de probiotiques ont des effets bénéfiques sur certains patients sélectionnés (Lee et Bak, 2011).

### 6.2.3 Maladie cœliaque

La maladie cœliaque est un trouble inflammatoire intestinal chronique déclenché par l'ingestion de protéines de gluten. La phase active de la maladie est caractérisée par un état pro-inflammatoire résultant d'une réaction immunitaire anormale au gluten, avec perméabilité épithéliale accrue et qui peut favoriser le passage d'antigènes de la lumière intestinale à la sous-muqueuse. Chez des patients porteurs de maladie coeliaque, les gliadines peuvent activer soit une réaction immunitaire adaptative dominée par des cytokines pro-inflammatoires Th1 (par exemple IFN- $\gamma$ ) au niveau de la muqueuse ou une réaction immunitaire innée obtenue par médiation par IL-15, les deux phénomènes entraînant la mort des cellules épithéliales. Les

gliadines activent aussi la voie de la zonuline menant à une augmentation de la perméabilité intestinale (Drago *et al*, 2006). L'étiologie de la maladie cœliaque est multifactorielle, impliquant génétique et facteurs exogènes. Ce désordre est fortement associé au système HLA (Human Leukocyte Antigen). Approximativement 95 % des patients héritent du codage des allèles pour le HLA-DQ2 et HLA-DQ8, mais seulement un petit pourcentage développe la MC (Mearin *et al*, 2005). Par contre les facteurs environnementaux entraînant l'intolérance au gluten sont encore inconnus. Cependant, la flore intestinale pourrait jouer un rôle. Les immunoglobulines A (IgA) sont la première ligne de défense dans le mucus épithélial contre les antigènes étrangers, or un dysfonctionnement de la sécrétion d'IgA par les plaques de Peyer pourraient créer un risque de développement de la maladie cœliaque (Mulder *et al*, 2006).

#### 6.2.3.1 Le microbiote intestinal dans la maladie cœliaque :

Depuis 2008, beaucoup d'études ont été réalisées (tableau 3), la majorité a confirmé la réduction du genre *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*. De même, l'augmentation de la proportion relative de bactéries à gram négatives, potentiellement inflammatoires à cause de la présence de lipopolysaccharide, est une constante dans la plupart des études. De plus, une étude intéressante (Sánchez *et al*, 2008) a démontré des changements dans la diversité de composition du microbiote du genre *Enterobacteriaceae* et une augmentation des gènes de virulence des clones isolés de patients porteurs de la maladie cœliaque comparé à ceux de contrôles sains de l'espèce *Escherichia coli*. Ainsi, les résultats soutiennent l'hypothèse que la dysbiose peut constituer un facteur de virulence contribuant à la pathogénie et l'expression de la maladie cœliaque. De nouvelles études devront être effectuées pour corréliser les gènes de virulence des clones d'*E. coli* avec leurs rôles pathogènes spécifiques dans cette maladie. Enfin une publication récente (Di Cagno *et al*, 2011), a montré qu'un régime sans gluten depuis au moins 2 ans ne restaurait pas complètement le microbiote intestinal et par

conséquence le métabolome. Cet article a de plus confirmé la diminution des *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* et l'augmentation des *Enterobacteriaceae* mais aussi décrit plusieurs métabolites, tels que l'acétate d'éthyl, l'acétate d'octyle, des acides gras à chaînes courtes et la glutamine, pouvant signer la présence de la maladie. La réduction dans l'apport de polysaccharides associée avec le régime sans gluten pourrait expliquer le changement observé dans le microbiote (Sanz, 2010).

Bactéries associées à la maladie cœliaque :	Etude chez : H : Homme A : Animaux	Modèle :	Bibliographies
Augmentation des bactéries gram négatives			
Réduction des <i>Bifidobacterium</i> , <i>Clostridium histolyticum</i> , <i>C. lituseburense</i> et <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	H	MC non traités/sains	De Palma <i>et al</i> , 2010
Augmentation des <i>Bacteroides</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> et <i>Klebsiella</i>	H	MC non traités/sains	Di Cagno <i>et al</i> , 2011
Réduction des <i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus</i> and <i>Bifidobacteria</i>			
Aucune différence	H	MC non traités/sains	Kalliomäki <i>et al</i> , 2011
Augmentation des <i>Bacteroides vulgatus</i> et <i>Escherichia coli</i>	H	MC non traités/sains	Schipa <i>et al</i> , 2010
Augmentation des <i>Clostridium</i> , <i>Prevotella</i> , and <i>Actinomyces</i>	H	Biopsies + / Biopsies -	Ou <i>et al</i> , 2009
Augmentation des <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Bacteroides-Prevotella</i> , <i>Clostridium histolyticum</i> , <i>Eubacterium rectale</i> , <i>Atopobium</i> , et bactéries sulfate-réducteur	H	Selles MC/sains	Collado <i>et al</i> , 2007
Reduction des <i>Bifidobacterium</i>			
Présence spécifique chez MC de <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> et <i>Leuconostoc carnosum</i>	H	Selles MC/sains	Sanz <i>et al</i> , 2007
Reduction des <i>Bifidobacterium</i>			
Réduction du rapport <i>Lactobacillus-Bifidobacterium</i> sur <i>Bacteroides-E. coli</i>	H	Duodénum MC active/MC inactive/sains	Nadal <i>et al</i> , 2007
Augmentation des bactéries gram négatives			
Prévalence importante d' <i>E. coli</i> avec facteurs de virulence : P fimbriae (papC), capsule K5 (sfaD/E) et hemolysine (hlyA)	H	<i>E. coli</i> isolés de selles de MC/sains	Sánchez <i>et al</i> , 2008
Augmentation dans les selles et les biopsies de <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium leptum</i> , <i>E coli</i> et <i>Staphylococcus</i>	H	Selles et biopsies de MC active/MC inactive/sains	Collado <i>et al</i> , 2008
Reduction des <i>Bifidobacterium</i>			

**Tableau II : Principales publications récentes sur l'exploration du microbiote intestinale dans la maladie cœliaque.**

### 6.2.3.2 Interactions avec le système immunitaire et perspectives

La production de cytokines par les cellules mononuclées du sang périphériques stimulées par des échantillons fécaux d'individus sains avant et après un régime sans gluten a été évaluée pour établir une possible relation entre les stimuli des bactéries intestinales et le système immunitaire (De palma *et al*, 2009). Cette sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  et IL-8) et anti-inflammatoires (IL-10) est diminuée après le régime en gluten ainsi que la décroissance des *Bifidobacterium* et des *Lactobacillus* et l'augmentation des *Enterobacteriaceae*.

Ces premières études devront être confirmées sur des effectifs plus importants mais aussi sur des expériences *in vivo*. Mais, les résultats préliminaires montrent que le régime sans gluten « améliore » la dysbiose mais ne la traite pas complètement, ainsi l'hypothèse de la mise en place de probiotiques et/ou de prébiotiques pour éliminer cette dysbiose devra être confirmée sur des essais dans la population cible.

### 6.3 Dysbiose et allergies

L'étiologie de l'allergie est encore inconnue mais l'augmentation de l'incidence des maladies allergiques dans les 20-30 dernières années ainsi que le taux plus important de ces maladies rencontrées dans les pays industrialisés montrent que des facteurs environnementaux sont en causes. Ces observations ont mené les chercheurs à proposer l'hypothèse de l'hygiène de vie et en particulier la modification de la flore intestinale comme facteur déclenchant de l'allergie et de l'asthme. Les études épidémiologiques et cliniques ont montré 1) une corrélation positive entre l'augmentation du risque d'asthme et d'allergie et l'augmentation de l'utilisation des antibiotiques dans les pays industrialisés, 2) des corrélations entre l'altération de la flore fécale et les maladies atopiques (Tableau III) et 3) le succès des probiotiques et le changement d'habitudes alimentaire dans la prévention et la réduction de l'allergie (Huffnagle, 2010). Les études sur la composition du microbiote intestinal ont débuté en 2003, mais dès 1999, Kirjavainen et Gibson soulignent le rôle essentiel de la microflore intestinale dans le développement du système immunitaire et indique qu'une relation proche existe entre la sensibilisation allergique et le développement de la microflore intestinale dans la petite enfance (Kirjavainen et Gibson, 1999).

Dans la plupart des publications (Tableau III), les patients atteints d'allergie montrent une décroissance du genre *Bifidobacterium* ainsi qu'une flore moins diversifiée que chez les sujets sains. Le genre *Clostridium*, par contre, semble augmenté dans plusieurs études. Enfin, deux études montrent des résultats concordants que ce soit pour la réduction du genre *Bifidobacterium* ou des espèces *Lactobacillus rhamnosus*, *casei* et *paracasei* (Sjögren et al, 2008 ; Johansson et al, 2011). Ces trois Lactobacilles sont connus pour leurs rôles bénéfiques sur l'inflammation.

Dysbiose dans l'allergie	Etude chez : H : Homme E : Enfant A : Animaux	Type d'allergie :	Bibliographies
Diminution: <i>Bifidobacterium</i>	E	Dermatite atopique	Watanabe et al, 2003
Augmentation : <i>Staphylococcus spp</i>			
Diminution: <i>Bifidobacterium</i>	E (5ans)	Sans précision	Sepp et al, 2005
Augmentation : <i>Clostridium</i>			
Diminution: <i>Bifidobacterium</i>	E (3ans)	Eczéma	Mah et al, 2006
Augmentation : <i>Enterococcus</i>			
Aucune différence	E (2-4 ans)	Eczéma	Kendler et al, 2006
Augmentation : <i>Escherichia coli</i> <i>Clostridium difficile</i>	E (1 mois)	Eczéma Dermatite atopique	Penders et al, 2006
Augmentation : <i>Bacteroidaceae</i>	E (1-2 mois)	Sans précision	Songjinda et al, 2007
Diminution : <i>Bifidobacterium adolescentis</i>	E (5ans)	Sans précision	Stsepetova et al, 2007
Flore moins diversifiée			
Flore moins diversifiée	E (18 mois)	Eczéma	Wang et al, 2007
Augmentation : <i>Bacteroides fragilis</i>	E	Asthme	Vael et al, 2008
Diminution: <i>Bifidobacterium</i>	E (2 ans)	Sans précision	Suzuki et al, 2008
Augmentation : <i>Bacteroides</i>			
Flore moins diversifiée			
Diminution: <i>Bifidobacterium</i> <i>Lactobacilli (L. casei, L. paracasei, L. rhamnosus)</i>	E (5ans)	Sans précision	Sjögren et al, 2008
Diminution: <i>Bifidobacterium</i>	E	Sans précision	Van Zwol et al, 2010
Augmentation : <i>Clostridium</i> et <i>Atopobium</i>	E	Allergie aux protéines de lait de vache	Thompson-Chagoyan et al, 2011
Flore moins diversifiée	E (6 ans)	Sensibilisation, rhinite allergique et éosinophilie	Bisgaard et al, 2011
Diminution : <i>Lactobacilli (L. casei, L. paracasei, L. rhamnosus)</i>	E	Selles d'enfants ayant des parents allergiques	Johansson et al, 2011

**Tableau III: Principales publications sur la dysbiose dans l'allergie et l'asthme**

Par ailleurs, il a été aussi démontré que la colonisation de souris par *Candida albicans* suite à un traitement par des antibiotiques à larges spectres peut promouvoir le développement de maladie allergie respiratoire. Cette réponse est maximale chez les souris qui ont reçu un traitement antibiotique et une prise orale de *Candida albicans* (Noverr *et al*, 2005 ; Noverr *et al*, 2004).

D'autre part, comme nous l'avons plus tôt, le mode d'accouchement et l'alimentation sont des facteurs influençant la colonisation du microbiote intestinal chez le nouveau-né. D'après van Nimwegen *et al*, l'accouchement par césarienne et une alimentation non maternelle pourraient amener un risque plus important à l'enfant de déclarer une allergie et ce risque serait corrélé à la présence de *Clostridium difficile* (van Nimwegen *et al*, 2011).

#### **6.4 Dysbiose et pathologies rhumatismales**

La première description du possible rôle de la flore bactérienne dans la pathologie arthritique a été publiée dès la fin des années 1970. Des rats axéniques ont développé une inflammation sévère avec une incidence de 100% après une injection soit de protéines de *Mycobacterium bovis* ou de peptidoglycane de *Staphylococcus epidermidis*. Chez les rats contrôles, normalement colonisés, l'atteinte était peu importante et était présente que chez 20% des rats avec l'injection de *Mycobacterium bovis* et absente chez les rats avec l'injection de peptidoglycane de *Staphylococcus epidermidis* (Kohashi *et al*, 1979). Cette découverte suggère que, bien qu'un microbiote ne soit pas nécessaire pour le développement d'arthrite, sa présence a un effet atténuateur potentiel par la modulation de la réaction immunitaire. Une observation importante impliquant la flore commensale du tractus intestinal dans un modèle différent d'arthrite a été faite par Taurog *et al* en 1994, quand ils ont montré que des rats transgéniques HLA-B27 (un modèle spontané de spondylo-arthropathie) axéniques ne développaient pas de troubles inflammatoires intestinaux ou articulaires, tandis que les lésions

inflammatoires de la peau et des organes génitaux étaient inchangées (Taurog *et al*, 2007). Un autre exemple avec des résultats similaires a été reporté dans un modèle d'arthrite induit par une injection d'antigènes de paroi de cellules streptococcique (van den Broek *et al*, 1994). Dans ce modèle, les animaux conventionnellement colonisés demeurent résistants à l'inflammation, tandis que les rats axéniques deviennent susceptibles à la maladie arthritique, principalement par la perte de tolérance des cellules T. Ces découvertes soutiennent le concept que l'inflammation articulaire et le tractus intestinal sont interconnectés à travers le rôle joué par le microbiote sur l'homéostasie du système immunitaire.

L'utilisation de souris gnotobiotiques a amélioré la compréhension du rôle de la flore microbienne sur les caractéristiques inflammatoire de l'arthrite. En effet, Abdollahi-Roodsaz *et al* ont montré sur des souris déficientes en récepteur antagoniste IL-1 (IL1rn<sup>-/-</sup>), présentant spontanément une arthrite par stimulation excessive par IL-1, qu'elles ne développaient pas de maladie quand elles étaient élevées stérilement. Cependant, la mono-colonisation de souris IL1rn<sup>-/-</sup> avec *Lactobacillus bifidus* a abouti à un début de maladie aussi rapide et de sévérité comparable que celle observée chez des souris conventionnellement colonisées. De plus, les auteurs ont montré que des souris doubles déficientes TLR2<sup>-/-</sup> et Il1rn<sup>-/-</sup> révélaient une arthrite plus sévère, caractérisée par une réduction des fonctions suppressives de lymphocytes T régulateurs (Treg) et par une augmentation de sécrétion d'IFN $\gamma$ . Quant aux souris TLR4<sup>-/-</sup> et IL1rn<sup>-/-</sup>, elles ont été, au contraire, protégées contre l'arthrite sévère et présentaient une diminution de cellules Th17 et une capacité réduite de production d'IL-17 (Abdollahi-Roodsaz *et al*, 2008).

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

entérotypes inducteurs, prévenir la maladie et améliorer le traitement réduit pour l'instant à l'utilisation de la sulfasalazine, de l'hydroxychloroquine et du méthotrexate (Scher et Abramson, 2011). Des premières études ont d'ailleurs montré que l'utilisation de tétracycline améliore les symptômes en début de maladie (Tilley et al, 1995 ; O'Dell et al, 2006).

Enfin et bien qu'il n'y ait pas de rapport avec la dysbiose intestinale, il est intéressant de remarquer les similitudes entre la polyarthrite rhumatoïde et la parodontite qui ont été mises en évidence dans de nombreuses publications depuis 1982. En effet, les deux maladies présentent des troubles chroniques inflammatoires destructifs caractérisés par une dérégulation de la réponse immunitaire. De plus, *Porphyromonas gingivalis*, bactérie fréquemment (environ 70%) retrouvée dans les parodontites, possède une enzyme capable de citrulliner les protéines et donc capable d'induire des antigènes citrullinés. Des preuves expérimentales ont été apportées en 1) montrant la corrélation entre le taux d'anticorps contre *Porphyromonas gingivalis* et le taux d'anti-CCP chez les sujets atteints de PR et 2) en montrant que les anticorps spécifiques de la PR étaient induits par l' $\alpha$ -enolase citrulliné, qui montré des similitudes de séquences et des réactions croisées avec l'enolase de *Porphyromonas gingivalis*. Enfin, des études cliniques ont aussi démontré que le traitement de la parodontite chez des patients avec PR avait des effets bénéfiques sur cette dernière que ce soit au niveau clinique ou biologique (de Smit et al, 2011).

## 6.5 Dysbiose et pathologies neurologiques

### 6.5.1 Sclérose en plaque

La sclérose en plaque est une maladie auto-immune chronique menant à une détérioration progressive des fonctions neurologiques par démyélinisation associée à un état inflammatoire et neurodégénératif du système nerveux central (Ochoa-Repáraz *et al*, 2010). Toutes les études menées ont pour l'instant été réalisées à partir d'une expérimentation sur l'encéphalomyélite allergique de la souris qui est un modèle de sclérose en plaque (SEP) chez cet animal. Dans la première étude, des souris atteintes d'encéphalomyélite allergique ont été traitées oralement avec un mélange d'antibiotiques à larges spectres (ampicilline, vancomycine, néomycine et métronidazole) pour réduire la flore intestinale. La réduction des bactéries commensales a supprimé le développement de l'encéphalomyélite. Par contre, les souris traitées par injection intrapéritonéale du mélange d'antibiotiques n'ont montré aucune diminution significative de la flore intestinale et l'encéphalomyélite s'est développée de manière semblable aux souris non traitées, suggérant que la réduction de l'activité de la maladie est à rapprocher de la modification du microbiote intestinale (Ochoa-Repáraz *et al*, 2009). De même, cette protection contre l'encéphalomyélite a été associée à une diminution des cytokines pro-inflammatoires et une augmentation d'IL-10 et IL-13. Le même auteur a aussi montré que chez les souris traitées, une sous-population lymphoïde B CD5<sup>+</sup> conférait une protection contre la maladie (Ochoa-Repáraz *et al*, 2010). Enfin récemment, Lee et al ont montré que des souris axéniques atteintes d'encéphalomyélite allergique développaient une encéphalomyélite significativement atténuée en comparaison avec des souris conventionnellement colonisées. De plus, les souris axéniques présentaient une production de cytokines pro-inflammatoires (IFN $\gamma$  et IL-17) abaissée et une augmentation des cellules T régulatrices CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3 (Lee *et al*, 2011).

Pour l'instant, seul l'animal a été étudié et avec des modèles d'encéphalomyélite créés par des injections de produits allergiques, c'est pourquoi il est trop tôt pour affirmer un rôle du microbiote dans la genèse de la sclérose en plaque. Des études chez l'homme et notamment l'analyse du microbiome devront être réalisées chez les sujets porteurs de sclérose en plaques.

### 6.5.2 Maladie de Parkinson

Un possible lien entre la dysbiose et la maladie de Parkinson a été soulevé par hasard par un gastro-entérologue australien, Thomas Borody. En effet, il a observé qu'en traitant par antibiothérapie un parkinsonien pour une constipation, les symptômes du Parkinson régressaient spontanément. Pour essayer de trouver un lien entre la maladie de Parkinson et le microbiote, Borody et un neurologue, David Rosen, ont débuté une étude pilote en espérant recruter des patients porteurs du Parkinson et atteints de constipation. L'étude ne portera pas sur l'étude du microbiote mais sur l'efficacité du traitement. En premier lieu, un traitement antibiotique sera entrepris et éventuellement une transplantation fécale à partir de donneurs sains (Bugs from your gut to mine, NewScientist, 22 janvier 2011, 8-9).

### 6.5.3 Autisme

Le lien entre le microbiote intestinal et l'autisme, qui est un trouble du développement neural et social, est suggéré par les observations suivantes : 1) Le début de maladie suit souvent une thérapie antimicrobienne, 2) des anomalies gastro-intestinales sont souvent présentes au début de l'autisme et persistent fréquemment, et 3) les symptômes de l'autisme sont parfois réduits par un traitement oral de vancomycine, tandis que la rechute arrive à l'arrêt du traitement (Sekirov *et al*, 2010). De plus, l'examen de selles d'enfants atteints d'autisme a montré un taux multiplié par dix de *Clostridium spp.* Enfin, les auteurs ont remarqué que le traitement antibiotique le plus utilisé avant la survenue de la maladie est l'association triméthoprime/sulfaméthoxazole, traitement sans efficacité contre les *Clostridium* (Finegold et

al, 2002). Finegold et al ont suggéré un certain nombre de mécanismes par lequel le microbiote pourrait être responsable de l'autisme incluant la production d'une neurotoxine par un sous-ensemble de flore anormale, la production d'autoanticorps qui aboutit à la destruction de certaines protéines associées aux neurones, ou la production microbienne d'un métabolite toxique qui a des effets secondaires neurologiques.

## **6.6 Dysbiose et cancer colorectal**

Le cancer colorectal est le troisième cancer le plus commun et la quatrième cause de décès par cancer dans le monde. Sa prévalence est surtout importante en Europe et aux Etats-Unis (2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> cause de mortalité par un cancer respectivement chez les femmes et chez les hommes) (Boyle et Ferlay, 2005). Les symptômes sont souvent absents dans les premiers temps de la maladie, ce qui retarde d'autant plus le diagnostic et donc la prise en charge thérapeutique. Quand la maladie est détectée tard, au stade des métastases, le taux de survie à 5 ans est de 10%. Par contre, si elle est détectée à un stade précoce, le taux de survie à 5 ans augmente à 90% après la résection de la tumeur (Etzioni *et al*, 2003).

Comme dans de nombreuses pathologies tumorales ou auto-immunes, il est reconnu que le cancer du côlon est le résultat d'un mélange de facteurs tels que la génétique, l'environnement, le régime et l'hygiène de vie. Tous ces paramètres pourraient interagir avec le microbiote intestinal et avoir pour résultat une altération du profil de la flore durant la genèse et la croissance de la tumeur (Zhang *et al*, 2011).

La relation entre cancer et microbiote intestinal a été investiguée dès le début des années 1980 par des techniques de culture traditionnelles. Ces études sur la population des bactéries anaérobies avaient déjà montré une différence entre les selles d'individus sains et les selles d'individus présentant un cancer du côlon (Vargo *et al*, 1980). Depuis, un nombre important

de bactéries a été incriminé dans cette pathologie mais aussi différents mécanismes cancérogènes.

#### 6.6.1 Le microbiote intestinal dans le cancer colorectal (CRC) :

Les principales études depuis le début des années 2000 (Tableau IV) ont montré un lien entre *Streptococcus bovis* (renommé *S. gallolyticus*) et le CRC. Les dernières publications de 2010 ont confirmé cette relation étroite mais ont étendu cette corrélation bactérie/pathologie à d'autres maladies du tractus intestinal, telles que la maladie de Crohn et le syndrome de l'intestin irritable (Al-Jashamy *et al*, 2010).

Deux études datant de 2011 n'ont pas vérifié ces données sur *Streptococcus bovis* (*S. gallolyticus*). La première a été pratiquée sur des selles de 119 individus sains et 60 individus porteurs d'un cancer soit rectal (n=16) soit du colon (n=44) et analysées par pyrosequençage (Sobhani *et al*, 2011). Le niveau de l'ensemble des bactéries ne différait pas entre le groupe sain et le groupe cancer, cependant une différence significative a été observée dans le groupe des *Bacteroides/Prevotella*. Le niveau de ce groupe de bactéries était plus élevé chez le groupe cancer que dans le groupe normal. Par contre, aucun lien n'a pu être relevé entre la localisation, le stade de la tumeur et le niveau élevé du groupe *Bacteroides/Prevotella*. La deuxième étude, réalisée aussi par pyrosequençage, a permis de comparer le microbiome d'une muqueuse cancérigène d'une muqueuse adjacente non cancérigène à travers 6 patients porteurs d'adénocarcinome du colon (Marchesi *et al*, 2011). Dans 5 cas sur 6, une différence importante a été trouvée, mais il n'a pas été observé de bactérie « pathogène ». Sur les tissus cancéreux, 4 groupes de bactéries étaient surreprésentés *Coriobacteridae*, *Roseburia*, *Fusobacterium* et *Faecalibacterium*. Ces 3 dernières espèces bactériennes sont connues pour être productrices de butyrate. Cet AGCC possède un pouvoir anti-inflammatoire, de plus *Faecalibacterium* possède aussi un rôle anti-inflammatoire en sécrétant des facteurs qui bloquent l'activation des NF- $\kappa$ B et la production d'IL8. A l'opposé, sur les tissus sains

(adjacents aux tissus cancéreux), les entérobactéries sont fortement représentées. Ces entérobactéries sont soupçonnées de posséder des pouvoirs cancéreux. Les auteurs suspectent que la présence de ces entérobactéries jouerait un rôle dans l'extension des lésions cancéreuses au niveau des tissus sains. Puis, quand la muqueuse est devenue cancéreuse, les entérobactéries sont remplacées par des bactéries avec des propriétés anti-inflammatoires. Cette intéressante théorie devra être validée sur un échantillonnage plus important.

Bactéries associées à CRC :	Etude chez : H : Homme A : Animaux	Evidence :	Bibliographies
<i>Helicobacter hepaticus</i>	A	Dysrégulation immunitaire (souris)	Fox <i>et al</i> , 2010
<i>Clostridium septicum</i>	H	Problème aortique et CRC	Seder <i>et al</i> , 2010
<i>Streptococcus bovis</i> ( <i>S. gallolyticus</i> )	H	Endocardite et CRC	Al-Jashamy <i>et al</i> , 2010 Barcelos <i>et al</i> , 2010 Chai <i>et al</i> , 2010 Kim <i>et al</i> , 2010 Pedrajas Ortiz <i>et al</i> , 2010 Gupta <i>et al</i> , 2010 Waisberg <i>et al</i> , 2002 Boleij <i>et al</i> , 2009
<i>Bacteroides fragilis</i>	A H	Enterotoxine	Wu <i>et al</i> , 2009 Huang <i>et al</i> , 2003
<i>Bacteroides vulgatus</i>	A	CRC chez la souris	Uronis <i>et al</i> , 2009
<i>Escherichia coli</i>	H	Augmentation au niveau de la couche du mucus intestinal	Martin <i>et al</i> , 2004
<i>Citrobacter rodentium</i> <i>Citrobacter freundii</i>	A	Murine hyperplasie CRC chez souris	Luperchio et Schauer, 2002 Newman <i>et al</i> , 2001
<i>Bacteroides/Prevotella</i>	H	Augmentation dans les selles de CRC	Sobhani <i>et al</i> , 2011
Entérobactéries	H	Rôle dans la genèse	Marchesi <i>et al</i> , 2011

**Tableau IV : Principales publications sur la dybiose et le cancer colorectal**

### 6.6.2 Mécanismes

Des récentes publications ont mis en évidence certains mécanismes sur le rôle du microbiote dans l'évolution de la pathologie. Ce mécanisme est double, d'une part via des signaux de reconnaissance activant les Toll like recepteurs, la dysbiose stimule la sécrétion de facteurs de croissances pro-cancerigènes et de médiateurs pro-inflammatoires. De même, des signaux autocrines et paracrines sont générés et vont amplifier le processus inflammatoire et néoplasique (Arthur et Jobin, 2011). Indépendamment de ce mécanismes, certaines bactéries et notamment les entérobactéries possèdent des enzymes ( $\beta$ -glucuronidase,  $\beta$ -glucosidase, azoreductase et nitroreductase) capables de former des métabolites potentiellement cancérigènes s'ils ne sont pas éliminés rapidement par l'hôte. (Figure 16).

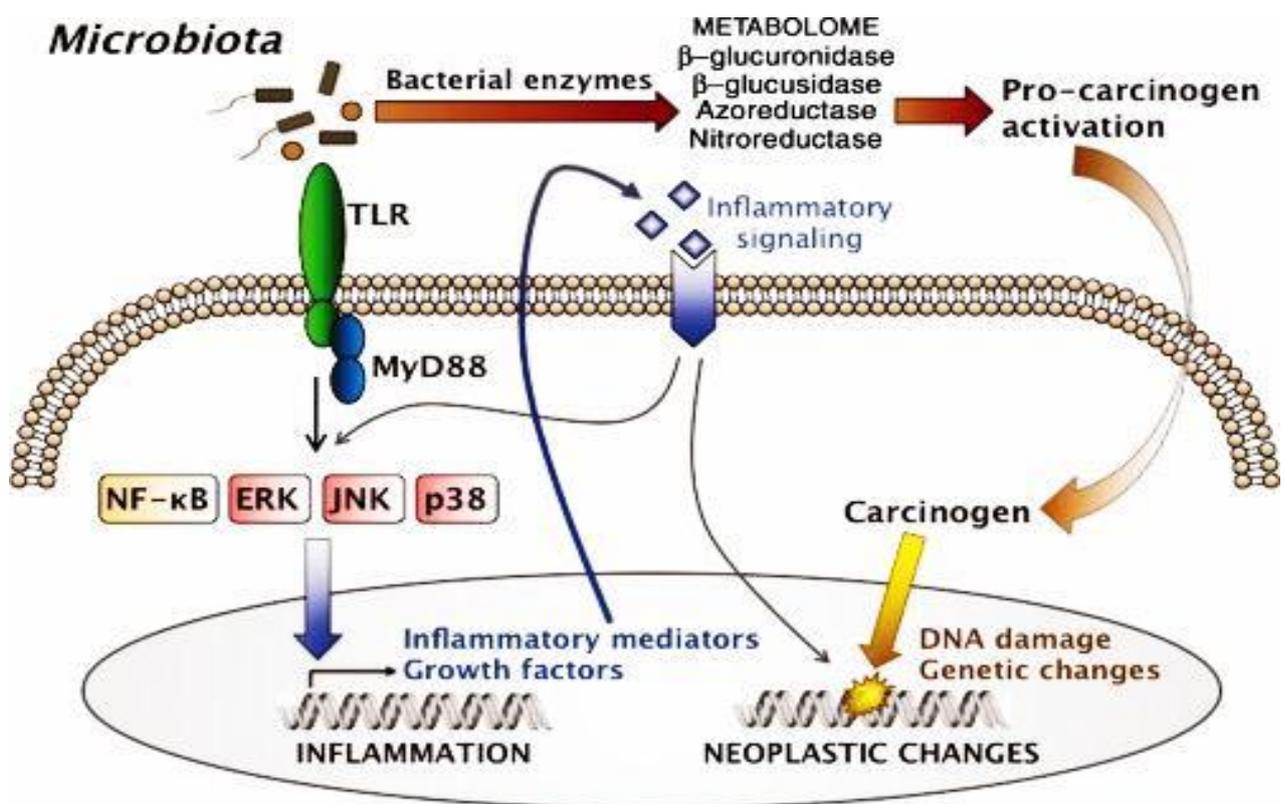


Figure 16 : Le microbiote intestinal favorise l'inflammation et la néoplasie dans le colon d'après Arthur et Jobin, 2011

### 6.6.3 Conclusion

Les évènements menant au développement du cancer colorectal sont complexes. L'évidence que le microbiome intestinal est un participant actif à la pathologie augmente cette complexité. Nombreuses questions restent en suspens, le changement de flore intestinal est-il la conséquence de cette pathologie et l'aggrave-t-elle ? Ou en était-elle la cause principale ? Des études sur des souris axéniques colonisées par des différentes flores pourront aider à la résolution de ces questions. De plus, un germe est-il responsable de cette pathologie ? Les progrès continus dans les technologies à haut débit de séquençage et l'identification d'un noyau du microbiome pourront répondre à cette interrogation.

## 6.7 Autres pathologies

D'autres pathologies intestinales et systémiques ont été aussi reliées à la flore bactérienne intestinale.

Au niveau intestinal, le traitement antibiotique à large spectre peut entraîner des dysbioses provoquant des diarrhées, dans ce cas aucun germe n'est considéré comme pathogène, à l'inverse de la diarrhée à *Clostridium difficile* post-antibiotique où les toxines A et B sont responsables des symptômes.

Au niveau systémique, une des premières maladies génétiques où la dysbiose a été décrite est la fièvre méditerranéenne familiale (FMF). La FMF est causée par des mutations au niveau du gène MEVF, qui code pour la pyrine, un important régulateur de l'immunité innée. Une différence a été observée entre les patients atteints de la forme active, les patients en rémission et les sujets sains. La diversité microbienne était sensiblement réduite dans la forme active. Par contre, et étrangement, la diversité du microbiote était plus importante chez les patients en rémission que chez les sujets sains. L'auteur explique ce phénomène par une recolonisation différente du microbiote chez l'adulte sain comparé à l'adulte atteint

d'inflammation induite par la FMF (Sekirov et al, 2010). De même, dans le syndrome de fatigue chronique (SFC), pathologie caractérisée par une fatigue persistante, invalidante et non expliquée et qui est accentuée par les efforts physiques et mentaux, plusieurs investigations ont montré un état de dysbiose avec diminution du taux de *Bifidobacteria* et augmentation du taux de bactéries aérobies. En approfondissant la recherche sur les bactéries aérobies, il a été montré que chez les sujets atteints de SFC, le pourcentage d'*E. coli* dans la flore aérobie était de 49% alors qu'il est de 92,3% chez les sujets sains. Cette diminution d'*E. coli* est contrecarrée par la présence plus importante d'*Enterococcus* et de *Streptococcus*, espèces bactériennes produisant de l'acide lactique. Enfin, il existe une corrélation positive entre le taux d'*Enterococcus* et les déficits neurologiques et cognitifs (pertes de mémoires, confusions, nervosité...) (Lakhan SE et Kirchgessner, 2010).

Certaines pathologies systémiques sont dues à des infections bénignes gastro-intestinales et qui pour des raisons encore mal connues, ont des retentissements extra-intestinaux. C'est le cas du syndrome de Guillain-Barré, maladie auto-immune post infectieuse et souvent associée à une gastro-entérite à *Campylobacter jejuni*. Un possible rôle d'*Yersinia enterocolitica* dans le développement des pathologies thyroïdiennes auto-immunes a aussi été décrit, via un mimétisme moléculaire entre l'OMP (Outer Membrane Protein) de *Y. enterocolitica* et le récepteur thyroïdien (Guarneri et al, 2011). Une récente étude prospective se basant sur la sérologie anti-OMP d'*Y. enterocolitica* n'a pas pu établir de relation entre l'infection bactérienne et la pathologie thyroïdienne (Efrimidis et al, 2011), cependant la majorité des pathologies auto-immunes thyroïdiennes étant la conséquence d'une réaction immunitaire cellulaire, d'autres études devront être menées pour affirmer une relation entre la dysbiose et les troubles thyroïdiens. L'exploration future du microbiome dans diverses pathologies inflammatoires et/ou auto-immunes devrait amener à découvrir d'autres maladies liées à l'altération de la flore microbienne intestinale.

## 7 Perspectives

### 7.1 Diagnostics

Malgré toutes les avancées sur la connaissance du microbiote intestinal humain, de nombreux points empêchent pour l'instant la mise en place de méthodes de diagnostics biologiques de la dysbiose en routine. En effet, au niveau phylogénétique, qui a été ces dernières années largement exploré, les techniques moléculaires de séquençage à haut débit sont encore du domaine de la recherche et leurs coûts, même s'il a baissé, restent importants. De plus, ces techniques requièrent du matériel onéreux et du personnel hautement qualifié. De nos jours, les techniques bactériologiques de routine sont essentiellement des méthodes de culture de bactéries non adaptées à rechercher une dysbiose (80% de la flore est anaérobie, proportion importante de bactéries non cultivables), mais à dépister une infection aiguë. L'apparition de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, technique nouvellement apparue et ayant de très bon résultat pour l'identification des germes, ne pourra pour l'instant pas être utilisée car réservée à des échantillons monomicrobiens.

Au-delà des problèmes techniques, se pose le problème de l'échantillonnage du microbiote intestinal. Comme nous l'avons vu dans la partie « communautés intestinales chez l'Homme », la flore microbienne est différente qu'on se place au niveau du mucus ou de la lumière du colon. Cette dernière localisation présente par contre de fortes similitudes avec les selles. Dans la majorité des études du microbiote chez l'homme, les prélèvements étaient réalisés au niveau des selles qui présentent l'avantage d'être facilement accessibles alors que la flore mucale a été peu explorée. Il paraît primordial d'analyser le microbiote présent au niveau du mucus car les interactions hôtes-bactéries se réalisent à ce niveau entraînant inflammation et dysrégulation immunitaire.

Comme nous l'avons déjà vu, la grande majorité des bactéries intestinales dominantes n'ayant pas été ou ne pouvant pas être cultivée, le contenu génomique de cette communauté reste en majeure partie inconnu. Cependant, l'avènement des techniques de séquençage à haut débit contribue à la découverte des gènes des bactéries cultivables ou non cultivables. De plus, des tests de criblage ont été développés récemment. De longs fragments (environ 40kb) d'ADN métagénomique ont été clonés dans *Escherichia coli*. Plus de 100000 clones peuvent être obtenus à partir d'un seul échantillon. Grâce à des automates de grande capacité, ces clones peuvent être passés au crible à la recherche des fonctions sélectionnées. Cette approche a été mise en œuvre pour découvrir de nouvelles enzymes et des activités antimicrobiennes (Corthier et Doré, 2010). Ces premiers développements ont laissé entrevoir des promesses majeures pour l'amélioration de la compréhension des interactions microbe-aliment, microbe-hôte et microbe-microbe (Doré et Corthier, 2010). L'exploration de ce microbiome est actuellement en cours, grâce à plusieurs programmes tels que le MetaHIT financé par la Commission Européenne, le programme GMGE Micro-Obes financé par l'agence française de la recherche et les programmes Roadmap du NIH. Au niveau international, ces programmes sont structurés au sein du IHMC, co-présidé par le NIH et la Commission Européenne.

En conclusion, les résultats des programmes fourniront d'importantes informations sur les caractères génomiques et fonctionnels conservés et variables de l'écosystème, la description de ceux qui sont spécifiques de l'environnement intestinal et associés au meilleur potentiel diagnostique. C'est à partir de ces données que la mise au point de méthodes de diagnostics biologiques de routine pourra être mise en place.

## 7.2 Traitements

### 7.2.1 Prébiotiques

Les prébiotiques sont définis comme des ingrédients alimentaires non-digestibles par les enzymes humaines qui, quand ils sont consommés en quantité suffisante, stimulent sélectivement la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité d'un genre ou d'une espèce microbienne au niveau du microbiote intestinal et qui confère des bénéfices sur la santé de l'hôte (Roberfroid et al, 2010). Le mélange de prébiotiques et probiotiques est défini comme des symbiotiques.

L'utilisation des prébiotiques a surtout été étudiée dans leurs présumés rôles bénéfiques sur l'obésité et les syndromes métaboliques. En effet, les substances nutritives possédant des propriétés prébiotiques permettent, en altérant le microbiote intestinal, de stimuler la fonction endocrine de l'intestin par augmentation de la production cellulaire de GLP-1 et GLP-2, et de moduler l'activation du système endocannabinoïde au niveau de l'intestin et des tissus adipeux. Tous ces mécanismes contribuent à diminuer la perméabilité intestinale en améliorant la distribution des protéines de jonctions telles que la ZO-1 (zonula occludens 1) et l'occludine, et de plus, à diminuer l'endotoxémie et donc l'inflammation. Pour rappel, l'augmentation de la GLP-1 induit une diminution de la consommation alimentaire, de la masse grasseuse, de la glycémie et de la résistance à l'insuline (Delzenne et al, 2011).

### 7.2.2 Probiotiques

Les probiotiques ont été décrits pour la première fois par Lilly et Stillwell en 1969, mais ce n'est que récemment (2001) qu'ils ont été définis par l'OMS comme des organismes vivants qui, quand ils sont consommés en quantité adéquate, confèrent un bénéfice sur la santé de l'hôte. Les potentiels mécanismes d'action des probiotiques incluent l'immunomodulation, un

effet direct sur les bactéries commensales et pathogènes en inhibant le risque d'infection et en restaurant l'homéostasie et la modification de toxines pathogènes et des produits de l'hôte (Oelschlaeger, 2010).

De nombreuses études ont été réalisées sur l'efficacité des probiotiques sur de nombreuses pathologies et notamment les diarrhées induites par les antibiotiques, les diarrhées à *Clostridium difficile* et les maladies inflammatoires de l'intestin. Une récente étude a montré que les probiotiques *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei* sont bien tolérés et efficaces dans la réduction du risque de développement des diarrhées post-antibiotiques et à *C. difficile* (Gao et al, 2010). De même, l'utilisation de la levure *Saccharomyces boulardii* selon une récente méta-analyse (McFarland, 2010) a été préconisée pour les diarrhées du voyageur et post-antibiotiques. Les symptômes et la qualité de vie chez les sujets atteints du syndrome de l'intestin irritable seraient aussi grandement améliorés par le traitement utilisant *Bifidobacterium bifidum* (Guglielmetti et al, 2011) et *Saccharomyces boulardii* (Choi et al, 2011). Pour le traitement des maladies inflammatoires de l'intestin, l'utilisation de différents probiotiques a permis d'observer des résultats variés. Des essais de petites tailles ont montré des résultats prometteurs pour trois probiotiques sur l'induction et le maintien de la rémission dans la rectocolite hémorragique. *Escherichia coli* Nissle 1917 (Kruis et al, 2004) et *Lactobacillus rhamnosus* GG (Zocco et al, 2006) ont montré une activité équivalente à la mesalazine dans le maintien de la rémission des RCH. Dans une autre étude, un mélange de bactéries nommé VSL#3, contenant  $5.10^{11}$  cellules/g de trois *Bifidobacteria* (*B. longum*, *B. infantis* et *B. breve*), quatre *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* et *L. plantarum*) et un *Streptococcus* (*Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus*), a montré son innocuité et son efficacité sur le traitement des formes modérées de RCH (Sood et al, 2009). De plus, chez les patients non répondeurs aux traitements conventionnels, VSL#3 a montré un taux d'induction/maintenance de la rémission de 77%

(Bibiloni et al, 2005). Par contre, les résultats des études sur l'utilisation des probiotiques dans l'induction et la maintenance de la maladie de Crohn sont moins pertinents.

Les mécanismes d'actions, publiés à ce jour, des probiotiques ont été listé dans une revue de Gastroenterology Research and Practice (Yoon et Sun, 2011). Les espèces bactériennes utilisées comme probiotiques sont multiples et variées d'où un nombre important d'effecteurs. On peut citer le rôle anti-inflammatoire de certains lactobacilles via la modulation du signal NOD2 (récepteur pour la reconnaissance des bactéries intracellulaires et identifié comme un acteur important dans la maladie de Crohn). Les probiotiques ont aussi un effet immunomodulateur par action sur les Toll-Like receptors (TLR), le NF- $\kappa$ B, les MAPK (mitogen-activated protein kinase) et les JNK (c-Jun NH2-terminal kinase).

Malgré de nombreuses études prouvant le rôle des probiotiques dans le traitement et la prévention de diverses maladies, il semble prématuré de conclure sur leurs activités cliniques du fait des expérimentations hétérogènes et de la méconnaissance encore importante du lien entre l'espèce bactérienne et l'action induite. De plus, les probiotiques sont souvent commercialisés en mélange d'où la difficulté de « maîtriser » l'effet escompté. Comme le citait Didier Raoult dans un article 2009, certains probiotiques, qui sont utilisés comme facteurs de croissance dans l'industrie agricole, sont aussi employés dans la santé humaine. Il préconisait donc de plus amples études pour conclure à l'innocuité de ces produits pour l'homme et en particulier sur l'obésité (Raoult, 2009).

### 7.2.3 Antibiotiques

Nous l'avons vu dans l'obésité, le traitement antibiotique de souris obèses porteuses de dysbiose rééquilibre le microbiote et diminue l'extraction et le stockage de matière grasse. Cet effet bénéfique pourrait être aussi observé dans d'autres pathologies (maladie de Parkinson) mais de plus amples études doivent être réalisées. Cependant, à l'arrêt de l'antibiothérapie, la dysbiose ainsi que le déséquilibre d'apports énergétiques réapparaissent très rapidement. De plus, l'antibiothérapie prolongée peut entraîner un déséquilibre de flore et potentiellement un risque de diarrhées et/ou de colonisation de *Clostridium difficile*, il paraît donc peu plausible d'entrevoir une voie thérapeutique.

### 7.2.4 Transplantation fécale

Une approche alternative aux traitements per os, la transplantation fécale, a été pour la première fois décrite en 1958 dans le traitement d'entéocolites pseudomembraneuses fulminantes (Eiseman et al, 1958). Au cours des décennies suivantes, un faible nombre d'études ont été réalisées sur la transplantation fécale, mais un regain d'intérêt de cette technique est apparu dans les dernières années.

#### 7.2.4.1 Choix des patients

La grande majorité des patients ayant subi une transplantation fécale étaient atteints de diarrhée à *Clostridium difficile* et en échec thérapeutique. Le reste des transplantations ont été réalisées sur des sujets porteurs de constipation, de syndrome de l'intestin irritable, de maladie de Crohn et de rectocolite hémorragique, cependant le nombre de cas est très faible (Landy et al, 2011).

#### 7.2.4.2 Choix des donneurs

Le risque potentiel de transmission de virus, bactéries ou parasites, est un problème important dans ce type de traitement, cependant aucun « guideline » existe actuellement pour le screening des donneurs. Actuellement, il est proposé comme protocole de screening, un interrogatoire sur l'historique de pathologies intestinales (douleurs, cancers, polypes), une non-utilisation des antibiotiques pendant au moins 6 semaines, un bilan sérologique portant sur une numération formule plaquette, un bilan hépatique et des sérologies contre les hépatites A, B et C, les HIV 1 et 2, les HTLV I et II, le CMV, l'EBV et la syphilis, ainsi que des analyses de selles pour la recherche microscopique d'œufs et parasites, une coproculture pour recherche des bactéries pathogènes classiques ainsi que la détection de la toxine A et B de *Clostridium difficile* (Landy et al, 2011).

#### 7.2.4.3 Voie d'administration

Le premier rapport d'Eiseman et al décrit une administration par des lavements fécaux. Cette technique perdura jusqu'en 2008. Par contre, les dernières transplantations ont été réalisées par instillation au niveau du colon via colonoscopie ou par tubage nasogastrique, nasoduodéal ou nasojejunal (Landy et al, 2011).

#### 7.2.4.4 Préparation du patient avant transplantation

La préparation du patient avant transplantation est variable suivant la méthode employée pour l'administration des selles. Pour les techniques d'administration par lavements, un traitement par lavage intestinal par du polyéthylène glycol (PEG) a été instauré, associé ou non à des traitements antibiotiques variables (aucune recommandation sur la classe des antibiotiques et la durée du traitement). Pour les administrations par colonoscopie, seul un traitement par

vancomycine pendant 4 jours précédant la transplantation et par oméprazole la veille et le jour de l'intervention est administré.

#### 7.2.4.5 Préparation des selles

L'intervalle entre l'obtention des selles du donneur et son administration au patient dans les différents cas n'a pas excédé 24 heures, les selles étant diluées dans du sérum physiologique stérile et instillées dans un volume compris entre 50 et 500 ml.

#### 7.2.4.6 Résultats cliniques

Pour les patients atteints de diarrhées à *Clostridium difficile*, la transplantation fécale a stoppé les symptômes de diarrhées chez 145 patients sur 166 (87%) dans un délai court sur l'ensemble des publications. Dans 5 études, la négativation du test de dépistage de la toxine de *C. difficile* a été aussi constatée.

Pour la rectocolite hémorragique, sur 8 patients, tous ont répondu et resté en rémission entre 6 mois et 13 ans (Bennet et al, 1989). Dans la série de Borody et al, la réponse (clinique et endoscopique) au traitement a été observée entre 1 semaine et 6 semaines après transplantation (Borody et al, 2003).

#### 7.2.4.7 Résultats sur la composition des selles après transplantation

Relativement peu d'études ont essayé d'analyser les selles avant et après transplantation fécale. Dans l'une d'elles, les auteurs ont analysé les selles par culture bactérienne avant transplantation, puis pendant l'antibiothérapie précédant la transplantation et enfin après. Il s'est avéré que les *Bacteroides* étaient absents lors des 2 premières analyses, mais présents lors de la troisième (Tvede et Rask-Madsen, 1989). Plus récemment, 2 études ont employé des techniques moléculaires pour caractériser l'évolution de la flore. Khoruts et al ont démontré une réduction des *Firmicutes* et *Bacteroides* chez un patient atteint de diarrhées à *Clostridium*

*difficile*. Suite à la transplantation, il y a eu un rapide changement au niveau du microbiote, celui-ci tendant à être similaire au microbiote du donneur (Khoruts et al, 2010). Grehan et al ont entrepris l'analyse sur les selles de 10 patients qui ont subi une transplantation fécale (Grehan et al, 2010). De même que précédemment, un important changement du microbiote a été observé sur les 10 selles, la flore microbienne nouvellement implantée présentant une grande similitude avec celle du donneur. De plus, cette étude, qui a été prolongée sur 24 semaines, a montré une stabilité des microbiotes sur cette durée, prouvant que la modification de la flore n'était pas transitoire à l'inverse des traitements par des probiotiques ou antibiotiques.

#### 7.2.4.8 Conclusions

A partir de ces données, il paraît évident que la transplantation fécale modifie de façon durable la composition du microbiote humain. Cependant, les études sont trop hétérogènes au niveau des donneurs, des conditions d'administration et de la préparation des selles pour conclure sur l'efficacité de ce traitement. De plus, les réponses cliniques n'ont pas été quantifiées de la même façon et restent subjectives. De même, les études sur la composition des selles trop rares. La standardisation de ces études est nécessaire pour réellement apprécier le potentiel thérapeutique de la transplantation fécale.

## 8 Conclusions

Nous ne sommes qu'aux prémices de l'étude de la flore intestinale. Cependant il apparaît évident qu'au vu de la densité bactérienne vivant en symbiose et des fonctions biologiques (métaboliques, protections contre les infections et immunologiques) apportées à l'hôte que son rôle est primordial dans la santé humaine. Les nouvelles techniques moléculaires ont permis, en abaissant les coûts, de démontrer que la génétique, mais aussi les facteurs environnementaux influençaient la composition du microbiote. Cependant, malgré ces variations, un noyau constant de bactéries porté par les individus sains a pu être observé ce qui traduit l'eubiose. Ces études phylogénétiques du microbiote ne semblent pas suffisantes pour comprendre l'ensemble des interactions, c'est pourquoi la prochaine étape concerne la découverte du microbiome intestinal.

L'étude des selles et des biopsies intestinales chez des sujets porteurs de pathologies aussi diverses que l'obésité, le diabète de type I et II, les maladies inflammatoires de l'intestin, des troubles neurologiques, les maladies allergiques (asthme, maladie cœliaque), maladies rhumatismales et le cancer du côlon ont montré un déséquilibre de la flore intestinale, la dysbiose. A partir de ce déséquilibre, plusieurs mécanismes métaboliques, inflammatoires ou tumoraux ont pu être mis en évidence prouvant que la dysbiose est un composant à ne pas négliger dans ces pathologies. A partir de cette constatation, des traitements par voie orale (prébiotiques, probiotiques) ou par transplantation fécale pour rééquilibrer la flore intestinale ont permis d'obtenir des premiers résultats encourageants sur des pathologies telles que les diarrhées à *Clostridium difficile* et la rectocolite hémorragique.

Cependant, beaucoup de questions restent en suspens, que ce soit au niveau bactériologique avec la mise en évidence d'une famille ou d'un germe pathogène, au niveau immunologique avec la précision des mécanismes induisant l'inflammation, mais aussi au niveau

thérapeutique avec le rôle des pré- et probiotiques et le développement de nouvelles approches telles que la transplantation fécale. La dysbiose apparaissant souvent avant la symptomatologie de la maladie, un diagnostic préventif pourrait être réalisé sur des sujets à risque ainsi qu'un traitement pour rétablir l'eubiose.

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON 1  
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES  
FACULTE DE PHARMACIE DE LYON  
8, avenue Rockefeller – 69373 LYON Cedex 08  
Tel : 04.78.77.71.98 – Fax : 04.78.77.72.81

## CONCLUSIONS

### MEMOIRE SOUTENUE PAR MR VINCENT BONAÏTI

Nous ne sommes qu'aux prémices de l'étude de la flore intestinale. Cependant, il apparaît évident qu'au vu de la densité bactérienne vivant en symbiose et des fonctions biologiques (métaboliques, protections contre les infections et immunoologiques) apportées à l'hôte que son rôle est primordial dans la santé humaine. Les nouvelles techniques moléculaires ont permis, en abaissant les coûts, de démontrer que la génétique, mais aussi les facteurs environnementaux influençaient la composition du microbiote. Cependant, malgré ces variations, un noyau constant de bactéries porté par les individus sains a pu être observé ce qui traduit l'eubiose. Ces études phylogénétiques du microbiote ne semblent pas suffisantes pour comprendre l'ensemble des interactions, c'est pourquoi la prochaine étape concerne la découverte du microbiome intestinal.

L'étude des selles et des biopsies intestinales chez des sujets porteurs de pathologies aussi diverses que l'obésité, le diabète de type I et II, les maladies inflammatoires de l'intestin, des troubles neurologiques, les maladies allergiques (asthme), la maladie cœliaque, les maladies rhumatismales et le cancer du côlon ont montré un déséquilibre de la flore intestinale, la dysbiose. A partir de ce déséquilibre, plusieurs mécanismes métaboliques, inflammatoires ou tumoraux ont pu être mis en évidence prouvant que la dysbiose est un composant à ne pas négliger dans ces pathologies. A partir de cette constatation, des traitements par voie orale (prébiotiques, probiotiques) ou par transplantation fécale pour rééquilibrer la flore intestinale ont permis d'obtenir des premiers résultats encourageants sur ces pathologies telles que les diarrhées à *Clostridium difficile* et la rectocolite hémorragique.

Cependant, beaucoup de questions restent en suspens, que ce soit au niveau bactériologique avec la mise en évidence d'une famille ou d'un germe pathogène, au niveau immunologique avec la précision des mécanismes induisant l'inflammation mais aussi au niveau thérapeutique avec le rôle des pré- et probiotiques et le développement de nouvelles approches telles que la transplantation fécale. La dysbiose apparaissant souvent avant la symptomatologie de la maladie, un diagnostic préventif pourrait être réalisé sur des sujets à risque ainsi qu'un traitement pour rétablir l'eubiose.

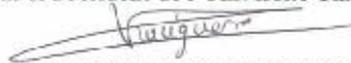
Le Président du Jury,

 Pr J. BIENVENU

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Lyon le 18 janvier 2012

Vu, la Directrice de l'ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon  
Pour le Président de l'Université Claude Bernard

  
Professeur Christine VINCIGUERRA



## 9 Bibliographie

- Abdollahi-Roodsaz, Shahla, Leo A B Joosten, Marije I Koenders, Isabel Devesa, Mieke F Roelofs, Timothy R D J Radstake, Marleen Heuvelmans-Jacobs, et al. « Stimulation of TLR2 and TLR4 differentially skews the balance of T cells in a mouse model of arthritis ». *The Journal of Clinical Investigation* 118, n<sup>o</sup>. 1 (janvier 2008): 205-216.
- Adams, Kenneth F, Arthur Schatzkin, Tamara B Harris, Victor Kipnis, Traci Mouw, Rachel Ballard-Barbash, Albert Hollenbeck, et Michael F Leitzmann. « Overweight, obesity, and mortality in a large prospective cohort of persons 50 to 71 years old ». *The New England Journal of Medicine* 355, n<sup>o</sup>. 8 (août 24, 2006): 763-778.
- Aldhous, Marian C, Colin L Noble, et Jack Satsangi. « Dysregulation of human beta-defensin-2 protein in inflammatory bowel disease ». *PloS One* 4, n<sup>o</sup>. 7 (2009): e6285.
- Al-Jashamy, Karim, A Murad, M Zeehaida, Mohamad Rohaini, et Jaafar Hasnan. « Prevalence of colorectal cancer associated with *Streptococcus bovis* among inflammatory bowel and chronic gastrointestinal tract disease patients ». *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP* 11, n<sup>o</sup>. 6 (2010): 1765-1768.
- Anderson, Paul D, Nehal N Mehta, Megan L Wolfe, Christine C Hinkle, Leticia Pruscino, Lynne L Comiskey, Jennifer Tabita-Martinez, et al. « Innate immunity modulates adipokines in humans ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 92, n<sup>o</sup>. 6 (juin 2007): 2272-2279.
- Andoh, A, T Tsujikawa, M Sasaki, K Mitsuyama, Y Suzuki, T Matsui, T Matsumoto, Y Benno, et Y Fujiyama. « Faecal microbiota profile of Crohn's disease determined by terminal restriction fragment length polymorphism analysis ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 29, n<sup>o</sup>. 1 (janvier 2009): 75-82.
- Andoh, Akira, Hirotsugu Imaeda, Tomoki Aomatsu, Osamu Inatomi, Shigeki Bamba, Masaya Sasaki, Yasuharu Saito, Tomoyuki Tsujikawa, et Yoshihide Fujiyama. « Comparison of the fecal microbiota profiles between ulcerative colitis and Crohn's disease using terminal restriction fragment length polymorphism analysis ». *Journal of Gastroenterology* 46, n<sup>o</sup>. 4 (avril 2011): 479-486.
- Angly, Florent, et Gene Tyson. « [Are divergent viral communities controlling individual gut microbiota?] ». *Médecine Sciences: M/S* 27, n<sup>o</sup>. 3 (mars 2011): 229-231.
- Armougom, Fabrice, Mireille Henry, Bernard Vialettes, Denis Raccach, et Didier Raoult. « Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and *Methanogens* in anorexic patients ». *PloS One* 4, n<sup>o</sup>. 9 (2009): e7125.
- Aronsson, Linda, Ying Huang, Paolo Parini, Marion Korach-André, Janet Håkansson, Jan-Åke Gustafsson, Sven Pettersson, Velmurugesan Arulampalam, et Joseph Rafter. « Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4) ». *PloS One* 5, n<sup>o</sup>. 9 (2010). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20927337>.

- Arthur, Janelle C, et Christian Jobin. « The struggle within: microbial influences on colorectal cancer ». *Inflammatory Bowel Diseases* 17, n<sup>o</sup>. 1 (janvier 2011): 396-409.
- Arumugam, Manimozhiyan, Jeroen Raes, Eric Pelletier, Denis Le Paslier, Takuji Yamada, Daniel R Mende, Gabriel R Fernandes, et al. « Enterotypes of the human gut microbiome ». *Nature* 473, n<sup>o</sup>. 7346 (mai 12, 2011): 174-180.
- Atarashi, Koji, Yoshinori Umesaki, et Kenya Honda. « Microbial influence on T cell subset development ». *Seminars in Immunology* 23, n<sup>o</sup>. 2 (avril 2011): 146-153.
- Bäckhed, F. « 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: the normal gut microbiota in health and disease ». *Clinical and Experimental Immunology* 160, n<sup>o</sup>. 1 (avril 2010): 80-84.
- Bäckhed, Fredrik, Hao Ding, Ting Wang, Lora V Hooper, Gou Young Koh, Andras Nagy, Clay F Semenkovich, et Jeffrey I Gordon. « The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, n<sup>o</sup>. 44 (novembre 2, 2004): 15718-15723.
- Bäckhed, Fredrik, Jill K Manchester, Clay F Semenkovich, et Jeffrey I Gordon. « Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, n<sup>o</sup>. 3 (janvier 16, 2007): 979-984.
- Barcelos, Alexandre Maulaz, Marco Antônio Teixeira, Lidianny Silva Alves, Marcelo Antunes Vieira, Marcus Lima Bedim, et Noely A Ribeiro. « Infectious endocarditis due to *Streptococcus bovis* in a patient with colon carcinoma ». *Arquivos Brasileiros De Cardiologia* 95, n<sup>o</sup>. 3 (septembre 2010): e88-90.
- Bennet, J D, et M Brinkman. « Treatment of ulcerative colitis by implantation of normal colonic flora ». *Lancet* 1, n<sup>o</sup>. 8630 (janvier 21, 1989): 164.
- Benson, Andrew K, Scott A Kelly, Ryan Legge, Fangrui Ma, Soo Jen Low, Jaehyoung Kim, Min Zhang, et al. « Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, n<sup>o</sup>. 44 (novembre 2, 2010): 18933-18938.
- Bernalier-Donadille, A. « [Fermentative metabolism by the human gut microbiota] ». *Gastroentérologie Clinique Et Biologique* 34 Suppl 1 (septembre 2010): S16-22.
- Bessesen, Daniel H. « Update on obesity ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 93, n<sup>o</sup>. 6 (juin 2008): 2027-2034.
- Bezirtzoglou, E. « The intestinal microflora during the first weeks of life ». *Anaerobe* 3, n<sup>o</sup>. 2-3 (juin 1997): 173-177.
- Biasucci, Giacomo, Monica Rubini, Sara Riboni, Lorenzo Morelli, Elena Bessi, et Cristiana Retetangos. « Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut ». *Early Human Development* 86 Suppl 1 (juillet 2010): 13-15.

- Bibiloni, Rodrigo, Richard N Fedorak, Gerald W Tannock, Karen L Madsen, Paolo Gionchetti, Massimo Campieri, Claudio De Simone, et R Balfour Sartor. « VSL#3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis ». *The American Journal of Gastroenterology* 100, n<sup>o</sup>. 7 (juillet 2005): 1539-1546.
- Bibiloni, Rodrigo, Marco Mangold, Karen L Madsen, Richard N Fedorak, et Gerald W Tannock. « The bacteriology of biopsies differs between newly diagnosed, untreated, Crohn's disease and ulcerative colitis patients ». *Journal of Medical Microbiology* 55, n<sup>o</sup>. 8 (août 2006): 1141-1149.
- Bisgaard, Hans, Nan Li, Klaus Bonnelykke, Bo Lund Krogsgaard Chawes, Thomas Skov, Georg Paludan-Müller, Jakob Stokholm, Birgitte Smith, et Karen Angeliki Krogfelt. « Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy is associated with increased risk of allergic disease at school age ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 128, n<sup>o</sup>. 3 (septembre 2011): 646-652.e1-5.
- Boleij, Annemarie, Renée M J Schaeps, et Harold Tjalsma. « Association between *Streptococcus bovis* and colon cancer ». *Journal of Clinical Microbiology* 47, n<sup>o</sup>. 2 (février 2009): 516.
- Borody, Thomas J, Eloise F Warren, Sharyn Leis, Rosa Surace, et Ori Ashman. « Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy ». *Journal of Clinical Gastroenterology* 37, n<sup>o</sup>. 1 (juillet 2003): 42-47.
- Boyle, P, et J Ferlay. « Cancer incidence and mortality in Europe, 2004 ». *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 16, n<sup>o</sup>. 3 (mars 2005): 481-488.
- Breitbart, Mya, Ian Hewson, Ben Felts, Joseph M Mahaffy, James Nulton, Peter Salamon, et Forest Rohwer. « Metagenomic analyses of an uncultured viral community from human feces ». *Journal of Bacteriology* 185, n<sup>o</sup>. 20 (octobre 2003): 6220-6223.
- van den Broek, M F, M C van Bruggen, J P Koopman, M P Hazenberg, et W B van den Berg. « Gut flora induces and maintains resistance against streptococcal cell wall-induced arthritis in F344 rats ». *Clinical and Experimental Immunology* 88, n<sup>o</sup>. 2 (mai 1992): 313-317.
- Brown, Christopher T, Austin G Davis-Richardson, Adriana Giongo, Kelsey A Gano, David B Crabb, Nabanita Mukherjee, George Casella, et al. « Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes ». *PloS One* 6, n<sup>o</sup>. 10 (2011): e25792.
- Brugman, S, F A Klatter, J T J Visser, A C M Wildeboer-Veloo, H J M Harmsen, J Rozing, et N A Bos. « Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the Bio-Breeding diabetes-prone rat. Is the gut flora involved in the development of type 1 diabetes? » *Diabetologia* 49, n<sup>o</sup>. 9 (septembre 2006): 2105-2108.
- Di Cagno, Raffaella, Maria De Angelis, Ilaria De Pasquale, Maurice Ndagijimana, Pamela Vernocchi, Patrizia Ricciuti, Francesca Gagliardi, et al. « Duodenal and faecal

- microbiota of celiac children: molecular, phenotype and metabolome characterization ». *BMC Microbiology* 11 (2011): 219.
- Campeotto, Florence, Anne-Judith Waligora-Dupriet, Florence Doucet-Populaire, Nicolas Kalach, Christophe Dupont, et Marie-José Butel. « [Establishment of the intestinal microflora in neonates] ». *Gastroentérologie Clinique Et Biologique* 31, n<sup>o</sup>. 5 (mai 2007): 533-542.
- Cani, P D, A M Neyrinck, F Fava, C Knauf, R G Burcelin, K M Tuohy, G R Gibson, et N M Delzenne. « Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia ». *Diabetologia* 50, n<sup>o</sup>. 11 (novembre 2007): 2374-2383.
- Cani, Patrice D, Jacques Amar, Miguel Angel Iglesias, Marjorie Poggi, Claude Knauf, Delphine Bastelica, Audrey M Neyrinck, et al. « Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance ». *Diabetes* 56, n<sup>o</sup>. 7 (juillet 2007): 1761-1772.
- Cani, Patrice D, Rodrigo Bibiloni, Claude Knauf, Aurélie Waget, Audrey M Neyrinck, Nathalie M Delzenne, et Rémy Burcelin. « Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice ». *Diabetes* 57, n<sup>o</sup>. 6 (juin 2008): 1470-1481.
- Carlisle, Erica M, Valeriy Poroyko, Michael S Caplan, John A Alverdy, et Donald Liu. « Gram negative bacteria are associated with the early stages of necrotizing enterocolitis ». *PloS One* 6, n<sup>o</sup>. 3 (2011): e18084.
- Chai, Han-Tan, Boon-Lee Tan, Hsu-Ting Yen, et Mien-Cheng Chen. « Infective endocarditis caused by *Streptococcus bovis* complicated by a superior mesenteric artery mycotic aneurysm and systemic septic emboli in a patient with colon diverticulitis ». *International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases* 14 Suppl 3 (septembre 2010): e317-318.
- Chassaing, Benoit, et Arlette Darfeuille-Michaud. « The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases ». *Gastroenterology* 140, n<sup>o</sup>. 6 (mai 2011): 1720-1728.
- Choi, Chang Hwan, Sun Young Jo, Hyo Jin Park, Sae Kyung Chang, Jeong-Sik Byeon, et Seung-Jae Myung. « A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial of *Saccharomyces boulardii* in irritable bowel syndrome: effect on quality of life ». *Journal of Clinical Gastroenterology* 45, n<sup>o</sup>. 8 (septembre 2011): 679-683.
- Claesson, Marcus J, Siobhán Cusack, Orla O'Sullivan, Rachel Greene-Diniz, Heleen de Weerd, Edel Flannery, Julian R Marchesi, et al. « Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 Suppl 1 (mars 15, 2011): 4586-4591.
- Collado, M C, E Donat, C Ribes-Koninckx, M Calabuig, et Y Sanz. « Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease ». *Journal of Clinical Pathology* 62, n<sup>o</sup>. 3 (mars 2009): 264-269.

- Collado, María Carmen, Miguel Calabuig, et Yolanda Sanz. « Differences between the fecal microbiota of coeliac infants and healthy controls ». *Current Issues in Intestinal Microbiology* 8, n° 1 (mars 2007): 9-14.
- Conte, M P, S Schippa, I Zamboni, M Penta, F Chiarini, L Seganti, J Osborn, P Falconieri, O Borrelli, et S Cucchiara. « Gut-associated bacterial microbiota in paediatric patients with inflammatory bowel disease ». *Gut* 55, n° 12 (décembre 2006): 1760-1767.
- Coppa, Giovanni V, Stefano Bruni, Lorenzo Morelli, Sara Soldi, et Orazio Gabrielli. « The first prebiotics in humans: human milk oligosaccharides ». *Journal of Clinical Gastroenterology* 38, n° 6 (juillet 2004): S80-83.
- Corthier, G, et J Doré. « [A new era in gut research concerning interactions between microbiota and human health] ». *Gastroentérologie Clinique Et Biologique* 34 Suppl 1 (septembre 2010): S1-6.
- Cummings, J H, et G T Macfarlane. « The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon ». *The Journal of Applied Bacteriology* 70, n° 6 (juin 1991): 443-459.
- Davies, J. « In a map for human life, count the microbes, too ». *Science (New York, N.Y.)* 291, n° 5512 (mars 23, 2001): 2316.
- Delzenne, Nathalie M, Audrey M Neyrinck, et Patrice D Cani. « Modulation of the gut microbiota by nutrients with prebiotic properties: consequences for host health in the context of obesity and metabolic syndrome ». *Microbial Cell Factories* 10 Suppl 1 (août 30, 2011): S10.
- Derrien, Muriel, Elaine E Vaughan, Caroline M Plugge, et Willem M de Vos. « Akkermansia muciniphila gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54, n° 5 (septembre 2004): 1469-1476.
- Dicksved, Johan, Jonas Halfvarson, Magnus Rosenquist, Gunnar Järnerot, Curt Tysk, Juha Apajalahti, Lars Engstrand, et Janet K Jansson. « Molecular analysis of the gut microbiota of identical twins with Crohn's disease ». *The ISME Journal* 2, n° 7 (juillet 2008): 716-727.
- Dominguez-Bello, Maria G, Elizabeth K Costello, Monica Contreras, Magda Magris, Glida Hidalgo, Noah Fierer, et Rob Knight. « Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, n° 26 (juin 29, 2010): 11971-11975.
- Doré, J, et G Corthier. « [The human intestinal microbiota] ». *Gastroentérologie Clinique Et Biologique* 34 Suppl 1 (septembre 2010): S7-15.
- Drago, Sandro, Ramzi El Asmar, Mariarosaria Di Pierro, Maria Grazia Clemente, Amit Tripathi, Anna Sapone, Manjusha Thakar, et al. « Gliadin, zonulin and gut

- permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 41, n° 4 (avril 2006): 408-419.
- Dridi, Bédís, Didier Raoult, et Michel Drancourt. « Archaea as emerging organisms in complex human microbiomes ». *Anaerobe* 17, n° 2 (avril 2011): 56-63.
- Dumas, Marc-Emmanuel, Richard H Barton, Ayo Toyé, Olivier Cloarec, Christine Blancher, Alice Rothwell, Jane Fearnside, et al. « Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, n° 33 (août 15, 2006): 12511-12516.
- Duncan, S H, G E Lopley, G Holtrop, J Ince, A M Johnstone, P Louis, et H J Flint. « Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss ». *International Journal of Obesity (2005)* 32, n° 11 (novembre 2008): 1720-1724.
- Duncan, S H, P Louis, et H J Flint. « Cultivable bacterial diversity from the human colon ». *Letters in Applied Microbiology* 44, n° 4 (avril 2007): 343-350.
- Eckburg, Paul B, Elisabeth M Bik, Charles N Bernstein, Elizabeth Purdom, Les Dethlefsen, Michael Sargent, Steven R Gill, Karen E Nelson, et David A Relman. « Diversity of the human intestinal microbial flora ». *Science (New York, N.Y.)* 308, n° 5728 (juin 10, 2005): 1635-1638.
- Effraïmidis, G, J G P Tijssen, T G A Strieder, et W M Wiersinga. « No causal relationship between *Yersinia enterocolitica* infection and autoimmune thyroid disease: evidence from a prospective study ». *Clinical and Experimental Immunology* 165, n° 1 (juillet 2011): 38-43.
- EISEMAN, B, W SILEN, G S BASCOM, et A J KAUVAR. « Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis ». *Surgery* 44, n° 5 (novembre 1958): 854-859.
- Etzioni, Ruth, Nicole Urban, Scott Ramsey, Martin McIntosh, Stephen Schwartz, Brian Reid, Jerald Radich, Garnet Anderson, et Leland Hartwell. « The case for early detection ». *Nature Reviews. Cancer* 3, n° 4 (avril 2003): 243-252.
- Finegold, S M, et V L Sutter. « Fecal flora in different populations, with special reference to diet ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 31, n° 10 (octobre 1978): S116-S122.
- Finegold, Sydney M, Denise Molitoris, Yuli Song, Chengxu Liu, Marja-Liisa Vaisanen, Ellen Bolte, Maureen McTeague, et al. « Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism ». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 35, n° 1 (septembre 1, 2002): S6-S16.
- Fleissner, Christine K, Nora Huebel, Mohamed Mostafa Abd El-Bary, Gunnar Loh, Susanne Klaus, et Michael Blaut. « Absence of intestinal microbiota does not protect mice from diet-induced obesity ». *The British Journal of Nutrition* 104, n° 6 (septembre 2010): 919-929.

- Fox, J G, Z Ge, M T Whary, S E Erdman, et B H Horwitz. « Helicobacter hepaticus infection in mice: models for understanding lower bowel inflammation and cancer ». *Mucosal Immunology* 4, n°. 1 (janvier 2011): 22-30.
- Frank, Daniel N, Allison L St Amand, Robert A Feldman, Edgar C Boedeker, Noam Harpaz, et Norman R Pace. « Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, n°. 34 (août 21, 2007): 13780-13785.
- Franks, A H, H J Harmsen, G C Raangs, G J Jansen, F Schut, et G W Welling. « Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes ». *Applied and Environmental Microbiology* 64, n°. 9 (septembre 1998): 3336-3345.
- Gao, Xing Wang, Mohamed Mubasher, Chong Yu Fang, Cheryl Reifer, et Larry E Miller. « 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, n°. 7 (juillet 2010): 1636-1641.
- Geurts, Lucie, Vladimir Lazarevic, Muriel Derrien, Amandine Everard, Marie Van Roye, Claude Knauf, Philippe Valet, et al. « Altered gut microbiota and endocannabinoid system tone in obese and diabetic leptin-resistant mice: impact on apelin regulation in adipose tissue ». *Frontiers in Microbiology* 2 (2011): 149.
- Gophna, Uri, Katrin Sommerfeld, Sharon Gophna, W Ford Doolittle, et Sander J O Veldhuyzen van Zanten. « Differences between tissue-associated intestinal microfloras of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis ». *Journal of Clinical Microbiology* 44, n°. 11 (novembre 2006): 4136-4141.
- Grehan, Martin J, Thomas Julius Borody, Sharyn M Leis, Jordana Campbell, Hazel Mitchell, et Antony Wettstein. « Durable alteration of the colonic microbiota by the administration of donor fecal flora ». *Journal of Clinical Gastroenterology* 44, n°. 8 (septembre 2010): 551-561.
- Guarneri, Fabrizio, Dario Carlotta, Giovanna Saraceno, Francesco Trimarchi, et Salvatore Benvenga. « Bioinformatics support the possible triggering of autoimmune thyroid diseases by Yersinia enterocolitica outer membrane proteins homologous to the human thyrotropin receptor ». *Thyroid: Official Journal of the American Thyroid Association* 21, n°. 11 (novembre 2011): 1283-1284.
- Guglielmetti, S, D Mora, M Gschwender, et K Popp. « Randomised clinical trial: Bifidobacterium bifidum MIMBb75 significantly alleviates irritable bowel syndrome and improves quality of life--a double-blind, placebo-controlled study ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 33, n°. 10 (mai 2011): 1123-1132.
- Gupta, A, R Madani, et H Mukhtar. « Streptococcus bovis endocarditis, a silent sign for colonic tumour ». *Colorectal Disease: The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland* 12, n°. 3 (mars 2010): 164-171.

- Gustafsson, Rita J, Siv Ahrné, Bengt Jeppsson, Cecilia Benoni, Crister Olsson, Martin Stjernquist, et Bodil Ohlsson. « The Lactobacillus flora in vagina and rectum of fertile and postmenopausal healthy Swedish women ». *BMC Women's Health* 11, n° 1 (2011): 17.
- Heinemann, Christine, et Gregor Reid. « Vaginal microbial diversity among postmenopausal women with and without hormone replacement therapy ». *Canadian Journal of Microbiology* 51, n° 9 (septembre 2005): 777-781.
- Holdeman, L V, et W E Moore. « Roll-tube techniques for anaerobic bacteria ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 25, n° 12 (décembre 1972): 1314-1317.
- Hooper, Lora V, et Andrew J Macpherson. « Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota ». *Nature Reviews. Immunology* 10, n° 3 (mars 2010): 159-169.
- Huang, Jia Qing, Ge Fan Zheng, Katica Sumanac, E Jan Irvine, et Richard H Hunt. « Meta-analysis of the relationship between cagA seropositivity and gastric cancer ». *Gastroenterology* 125, n° 6 (décembre 2003): 1636-1644.
- Hufeldt, Majbritt Ravn, Dennis S Nielsen, Finn Kvist Vogensen, Tore Midtvedt, et Axel Kornerup Hansen. « Variation in the gut microbiota of laboratory mice is related to both genetic and environmental factors ». *Comparative Medicine* 60, n° 5 (octobre 2010): 336-347.
- Huffnagle, Gary B. « The microbiota and allergies/asthma ». *PLoS Pathogens* 6, n° 5 (mai 2010): e1000549.
- Ismail, Anisa S, Cassie L Behrendt, et Lora V Hooper. « Reciprocal interactions between commensal bacteria and gamma delta intraepithelial lymphocytes during mucosal injury ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 182, n° 5 (mars 1, 2009): 3047-3054.
- Ivanov, Ivaylo I, Koji Atarashi, Nicolas Manel, Eoin L Brodie, Tatsuichiro Shima, Ulas Karaoz, Dongguang Wei, et al. « Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria ». *Cell* 139, n° 3 (octobre 30, 2009): 485-498.
- Ji, Sangwon, Hyojin Park, Dokyong Lee, Young Koo Song, Jae Phil Choi, et Sang-In Lee. « Post-infectious irritable bowel syndrome in patients with Shigella infection ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 20, n° 3 (mars 2005): 381-386.
- Jiang, Xian-Cheng, Zhiqiang Li, Ruijie Liu, Xiao Ping Yang, Meihui Pan, Laurent Lagrost, Edward A Fisher, et Kevin Jon Williams. « Phospholipid transfer protein deficiency impairs apolipoprotein-B secretion from hepatocytes by stimulating a proteolytic pathway through a relative deficiency of vitamin E and an increase in intracellular oxidants ». *The Journal of Biological Chemistry* 280, n° 18 (mai 6, 2005): 18336-18340.

- Joossens, Marie, Geert Huys, Margo Cnockaert, Vicky De Preter, Kristin Verbeke, Paul Rutgeerts, Peter Vandamme, et Severine Vermeire. « Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives ». *Gut* 60, n° 5 (mai 2011): 631-637.
- Kalliomäki, Marko, Maria Carmen Collado, Seppo Salminen, et Erika Isolauri. « Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 87, n° 3 (mars 2008): 534-538.
- Kalliomäki, Marko, Reetta Satokari, Hannu Lähteenoja, Sanna Vähämäki, Juhani Grönlund, Taina Routi, et Seppo Salminen. « Expression of Microbiota, Toll-Like Receptors And Their Regulators In The Small Intestinal Mucosa In Celiac Disease ». *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* (novembre 30, 2011).
- Kang, Seungha, Stuart E Denman, Mark Morrison, Zhongtang Yu, Joel Dore, Marion Leclerc, et Chris S McSweeney. « Dysbiosis of fecal microbiota in Crohn's disease patients as revealed by a custom phylogenetic microarray ». *Inflammatory Bowel Diseases* 16, n° 12 (décembre 2010): 2034-2042.
- Kendler, Michael, Wolfgang Uter, Andreas Rueffer, Raffael Shimshoni, et Eckehardt Jecht. « Comparison of fecal microflora in children with atopic eczema/dermatitis syndrome according to IgE sensitization to food ». *Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* 17, n° 2 (mars 2006): 141-147.
- Kerckhoffs, Angèle P M, Melvin Samsom, Michel E van der Rest, Joris de Vogel, Jan Knol, Kaouther Ben-Amor, et Louis M A Akkermans. « Lower Bifidobacteria counts in both duodenal mucosa-associated and fecal microbiota in irritable bowel syndrome patients ». *World Journal of Gastroenterology: WJG* 15, n° 23 (juin 21, 2009): 2887-2892.
- Khoruts, Alexander, Johan Dicksved, Janet K Jansson, et Michael J Sadowsky. « Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea ». *Journal of Clinical Gastroenterology* 44, n° 5 (juin 2010): 354-360.
- Kim, Hyun-Kyong, Byung-Soo Youn, Mi-Seon Shin, Churl Namkoong, Kyeong Han Park, Ja Hyun Baik, Jae Bum Kim, et al. « Hypothalamic Angptl4/Fiaf is a novel regulator of food intake and body weight ». *Diabetes* 59, n° 11 (novembre 2010): 2772-2780.
- Kim, Seon Young, Sei Ick Joo, Jongyoun Yi, et Eui Chong Kim. « A case of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* infective endocarditis with colon cancer: identification by 16S ribosomal DNA sequencing ». *The Korean Journal of Laboratory Medicine* 30, n° 2 (avril 2010): 160-165.
- Kirjavainen, P V, et G R Gibson. « Healthy gut microflora and allergy: factors influencing development of the microbiota ». *Annals of Medicine* 31, n° 4 (août 1999): 288-292.

- Kohashi, O, J Kuwata, K Umehara, F Uemura, T Takahashi, et A Ozawa. « Susceptibility to adjuvant-induced arthritis among germfree, specific-pathogen-free, and conventional rats ». *Infection and Immunity* 26, n<sup>o</sup>. 3 (décembre 1979): 791-794.
- Korn, Thomas, Estelle Bettelli, Mohamed Oukka, et Vijay K Kuchroo. « IL-17 and Th17 Cells ». *Annual Review of Immunology* 27 (2009): 485-517.
- Krogus-Kurikka, Lotta, Anna Lyra, Erja Malinen, Johannes Aarnikunnas, Jarno Tuimala, Lars Paulin, Harri Mäkivuokko, Kajsa Kajander, et Airi Palva. « Microbial community analysis reveals high level phylogenetic alterations in the overall gastrointestinal microbiota of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome sufferers ». *BMC Gastroenterology* 9 (2009): 95.
- Kruis, W, P Fric, J Pokrotnieks, M Lukás, B Fixa, M Kascák, M A Kamm, et al. « Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine ». *Gut* 53, n<sup>o</sup>. 11 (novembre 2004): 1617-1623.
- Kuehbacher, Tanja, Ateequr Rehman, Patricia Lepage, Stephan Hellmig, Ulrich R Fölsch, Stefan Schreiber, et Stephan J Ott. « Intestinal TM7 bacterial phylogenies in active inflammatory bowel disease ». *Journal of Medical Microbiology* 57, n<sup>o</sup>. 12 (décembre 2008): 1569-1576.
- Lakhan, Shaheen E, et Annette Kirchgessner. « Gut inflammation in chronic fatigue syndrome ». *Nutrition & Metabolism* 7 (2010): 79.
- Lakhan, Shaheen E, et Annette Kirchgessner. « Gut microbiota and sirtuins in obesity-related inflammation and bowel dysfunction » (novembre 24, 2011).
- Landy, J, H O Al-Hassi, S D McLaughlin, A W Walker, P J Ciclitira, R J Nicholls, S K Clark, et A L Hart. « Review article: faecal transplantation therapy for gastrointestinal disease ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 34, n<sup>o</sup>. 4 (août 2011): 409-415.
- Larsen, Nadja, Finn K Vogensen, Frans W J van den Berg, Dennis Sandris Nielsen, Anne Sofie Andreasen, Bente K Pedersen, Waleed Abu Al-Soud, Søren J Sørensen, Lars H Hansen, et Mogens Jakobsen. « Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults ». *PloS One* 5, n<sup>o</sup>. 2 (2010): e9085.
- Lee, Beom Jae, et Young-Tae Bak. « Irritable bowel syndrome, gut microbiota and probiotics ». *Journal of Neurogastroenterology and Motility* 17, n<sup>o</sup>. 3 (juillet 2011): 252-266.
- Lee, Hyo-Rang, et Mark Pimentel. « Bacteria and irritable bowel syndrome: the evidence for small intestinal bacterial overgrowth ». *Current Gastroenterology Reports* 8, n<sup>o</sup>. 4 (août 2006): 305-311.
- Lee, Yun Kyung, et Sarkis K Mazmanian. « Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? » *Science (New York, N.Y.)* 330, n<sup>o</sup>. 6012 (décembre 24, 2010): 1768-1773.

- Lee, Yun Kyung, Juscilene S Menezes, Yoshinori Umesaki, et Sarkis K Mazmanian. « Proinflammatory T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 Suppl 1 (mars 15, 2011): 4615-4622.
- Lee, Yun Kyung, Ryuta Mukasa, Robin D Hatton, et Casey T Weaver. « Developmental plasticity of Th17 and Treg cells ». *Current Opinion in Immunology* 21, n<sup>o</sup>. 3 (juin 2009): 274-280.
- Ley, Ruth E, Fredrik Bäckhed, Peter Turnbaugh, Catherine A Lozupone, Robin D Knight, et Jeffrey I Gordon. « Obesity alters gut microbial ecology ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, n<sup>o</sup>. 31 (août 2, 2005): 11070-11075.
- Ley, Ruth E, Peter J Turnbaugh, Samuel Klein, et Jeffrey I Gordon. « Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity ». *Nature* 444, n<sup>o</sup>. 7122 (décembre 21, 2006): 1022-1023.
- Lin, Henry C. « Small intestinal bacterial overgrowth: a framework for understanding irritable bowel syndrome ». *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 292, n<sup>o</sup>. 7 (août 18, 2004): 852-858.
- Luperchio, S A, et D B Schauer. « Molecular pathogenesis of *Citrobacter rodentium* and transmissible murine colonic hyperplasia ». *Microbes and Infection / Institut Pasteur* 3, n<sup>o</sup>. 4 (avril 2001): 333-340.
- Magne, Fabien, Antonia Suau, Philippe Pochart, et Jehan-François Desjeux. « Fecal microbial community in preterm infants ». *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 41, n<sup>o</sup>. 4 (octobre 2005): 386-392.
- Mah, K W, B Björkstén, B W Lee, H P van Bever, L P Shek, T N Tan, Y K Lee, et K Y Chua. « Distinct pattern of commensal gut microbiota in toddlers with eczema ». *International Archives of Allergy and Immunology* 140, n<sup>o</sup>. 2 (2006): 157-163.
- Malinen, Erja, Teemu Rinttilä, Kajsa Kajander, Jaana Mättö, Anna Kassinen, Lotta Krogius, Maria Saarela, Riitta Korpela, et Airi Palva. « Analysis of the fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients and healthy controls with real-time PCR ». *The American Journal of Gastroenterology* 100, n<sup>o</sup>. 2 (février 2005): 373-382.
- Manichanh, C, L Rigottier-Gois, E Bonnaud, K Gloux, E Pelletier, L Frangeul, R Nalin, et al. « Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach ». *Gut* 55, n<sup>o</sup>. 2 (février 2006): 205-211.
- Marchesi, Julian R, Bas E Dutilh, Neil Hall, Wilbert H M Peters, Rian Roelofs, Annemarie Boleij, et Harold Tjalsma. « Towards the human colorectal cancer microbiome ». *PLoS One* 6, n<sup>o</sup>. 5 (2011): e20447.

- Martin, Helen M, Barry J Campbell, C Anthony Hart, Chiedo Mpofu, Manu Nayar, Ravinder Singh, Hans Englyst, Helen F Williams, et Jonathan M Rhodes. « Enhanced Escherichia coli adherence and invasion in Crohn's disease and colon cancer ». *Gastroenterology* 127, n° 1 (juillet 2004): 80-93.
- Martinez-Medina, Margarita, Xavier Aldeguer, Ferran Gonzalez-Huix, Doroteo Acero, et L Jesús Garcia-Gil. « Abnormal microbiota composition in the ileocolonic mucosa of Crohn's disease patients as revealed by polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis ». *Inflammatory Bowel Diseases* 12, n° 12 (décembre 2006): 1136-1145.
- Maslowski, Kendle M, Angelica T Vieira, Aylwin Ng, Jan Kranich, Frederic Sierro, Di Yu, Heidi C Schilter, et al. « Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43 ». *Nature* 461, n° 7268 (octobre 29, 2009): 1282-1286.
- Mazmanian, Sarkis K, June L Round, et Dennis L Kasper. « A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease ». *Nature* 453, n° 7195 (mai 29, 2008): 620-625.
- McFarland, Lynne V. « Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients ». *World Journal of Gastroenterology: WJG* 16, n° 18 (mai 14, 2010): 2202-2222.
- McKendrick, M W, et N W Read. « Irritable bowel syndrome--post salmonella infection ». *The Journal of Infection* 29, n° 1 (juillet 1994): 1-3.
- Mearin, M Luisa, Annali Ivarsson, et William Dickey. « Coeliac disease: is it time for mass screening? » *Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology* 19, n° 3 (juin 2005): 441-452.
- Mondot, S, S Kang, J P Furet, D Aguirre de Carcer, C McSweeney, M Morrison, P Marteau, J Doré, et M Leclerc. « Highlighting new phylogenetic specificities of Crohn's disease microbiota ». *Inflammatory Bowel Diseases* 17, n° 1 (janvier 2011): 185-192.
- Moore, W E, et L V Holdeman. « Identification of anaerobic bacteria ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 25, n° 12 (décembre 1972): 1306-1313.
- Muccioli, Giulio G, Damien Naslain, Fredrik Bäckhed, Christopher S Reigstad, Didier M Lambert, Nathalie M Delzenne, et Patrice D Cani. « The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis ». *Molecular Systems Biology* 6 (juillet 2010): 392.
- Mulder, S J, et G C Mulder-Bos. « Most probable origin of coeliac disease is low immune globulin A in the intestine caused by malfunction of Peyer's patches ». *Medical Hypotheses* 66, n° 4 (2006): 757-762.

- Nadal, Inmaculada, Ester Donat, Esther Donant, Carmen Ribes-Koninckx, Miguel Calabuig, et Yolanda Sanz. « Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease ». *Journal of Medical Microbiology* 56, n<sup>o</sup>. 12 (décembre 2007): 1669-1674.
- Nam, Young-Do, Ho-Won Chang, Kyoung-Ho Kim, Seong Woon Roh, Min-Soo Kim, Mi-Ja Jung, Si-Woo Lee, Jong-Yeol Kim, Jung-Hoon Yoon, et Jin-Woo Bae. « Bacterial, archaeal, and eukaryal diversity in the intestines of Korean people ». *Journal of Microbiology (Seoul, Korea)* 46, n<sup>o</sup>. 5 (octobre 2008): 491-501.
- Nava, Gerardo M, et Thaddeus S Stappenbeck. « Diversity of the autochthonous colonic microbiota ». *Gut Microbes* 2, n<sup>o</sup>. 2 (avril 2011): 99-104.
- Newman, J V, T Kosaka, B J Sheppard, J G Fox, et D B Schauer. « Bacterial infection promotes colon tumorigenesis in Apc(Min/+) mice ». *The Journal of Infectious Diseases* 184, n<sup>o</sup>. 2 (juillet 15, 2001): 227-230.
- van Nimwegen, Frederika A, John Penders, Ellen E Stobberingh, Dirkje S Postma, Gerard H Koppelman, Marjan Kerkhof, Naomi E Reijmerink, et al. « Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 128, n<sup>o</sup>. 5 (novembre 2011): 948-955.e1-3.
- Noverr, Mairi C, Nicole R Falkowski, Rod A McDonald, Andrew N McKenzie, et Gary B Huffnagle. « Development of allergic airway disease in mice following antibiotic therapy and fungal microbiota increase: role of host genetics, antigen, and interleukin-13 ». *Infection and Immunity* 73, n<sup>o</sup>. 1 (janvier 2005): 30-38.
- Noverr, Mairi C, Rachael M Noggle, Galen B Toews, et Gary B Huffnagle. « Role of antibiotics and fungal microbiota in driving pulmonary allergic responses ». *Infection and Immunity* 72, n<sup>o</sup>. 9 (septembre 2004): 4996-5003.
- Nuding, Sabine, Klaus Fellermann, Jan Wehkamp, et Eduard F Stange. « Reduced mucosal antimicrobial activity in Crohn's disease of the colon ». *Gut* 56, n<sup>o</sup>. 9 (septembre 2007): 1240-1247.
- O'Dell, James R, Jennifer R Elliott, Jack A Mallek, Ted R Mikuls, Cynthia A Weaver, Scott Glickstein, Kent M Blakely, Raymond Hausch, et Rob D Leff. « Treatment of early seropositive rheumatoid arthritis: doxycycline plus methotrexate versus methotrexate alone ». *Arthritis and Rheumatism* 54, n<sup>o</sup>. 2 (février 2006): 621-627.
- O'Mahony, Caitlin, Paul Scully, David O'Mahony, Sharon Murphy, Frances O'Brien, Anne Lyons, Graham Sherlock, et al. « Commensal-induced regulatory T cells mediate protection against pathogen-stimulated NF-kappaB activation ». *PLoS Pathogens* 4, n<sup>o</sup>. 8 (2008): e1000112.
- O'Sullivan, D J. « Methods for analysis of the intestinal microflora ». *Current Issues in Intestinal Microbiology* 1, n<sup>o</sup>. 2 (septembre 2000): 39-50.

- Ochoa-Repáraz, Javier, Daniel W Mielcarz, Lauren E Ditrio, Ashley R Burroughs, David M Foureau, Sakhina Haque-Begum, et Lloyd H Kasper. « Role of gut commensal microflora in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 183, n<sup>o</sup>. 10 (novembre 15, 2009): 6041-6050.
- Ochoa-Repáraz, Javier, Daniel W Mielcarz, Sakhina Haque-Begum, et Lloyd H Kasper. « Induction of a regulatory B cell population in experimental allergic encephalomyelitis by alteration of the gut commensal microflora ». *Gut Microbes* 1, n<sup>o</sup>. 2 (2010): 103-108.
- Oelschlaeger, Tobias A. « Mechanisms of probiotic actions - A review ». *International Journal of Medical Microbiology: IJMM* 300, n<sup>o</sup>. 1 (janvier 2010): 57-62.
- Ott, Stephan J, Tanja Kühbacher, Meike Musfeldt, Philip Rosenstiel, Stephan Hellmig, Ateequr Rehman, Oliver Drews, Wilko Weichert, Kenneth N Timmis, et Stefan Schreiber. « Fungi and inflammatory bowel diseases: Alterations of composition and diversity ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 43, n<sup>o</sup>. 7 (2008): 831-841.
- Ou, Gangwei, Maria Hedberg, Per Hörstedt, Vladimir Baranov, Göte Forsberg, Mirva Drobni, Olof Sandström, et al. « Proximal small intestinal microbiota and identification of rod-shaped bacteria associated with childhood celiac disease ». *The American Journal of Gastroenterology* 104, n<sup>o</sup>. 12 (décembre 2009): 3058-3067.
- De Palma, Giada, Inmaculada Nadal, Maria Carmen Collado, et Yolanda Sanz. « Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects ». *The British Journal of Nutrition* 102, n<sup>o</sup>. 8 (octobre 2009): 1154-1160.
- De Palma, Giada, Inmaculada Nadal, Marcela Medina, Ester Donat, Carmen Ribes-Koninckx, Miguel Calabuig, et Yolanda Sanz. « Intestinal dysbiosis and reduced immunoglobulin-coated bacteria associated with coeliac disease in children ». *BMC Microbiology* 10 (2010): 63.
- Pardi, Darrell S, Edward V Loftus Jr, Thomas C Smyrk, Patricia P Kammer, William J Tremaine, Cathy D Schleck, W Scott Harmsen, Alan R Zinsmeister, L Joseph Melton 3rd, et William J Sandborn. « The epidemiology of microscopic colitis: a population based study in Olmsted County, Minnesota ». *Gut* 56, n<sup>o</sup>. 4 (avril 2007): 504-508.
- Parfrey, Laura Wegener, William A Walters, et Rob Knight. « Microbial eukaryotes in the human microbiome: ecology, evolution, and future directions ». *Frontiers in Microbiology* 2 (2011): 153.
- Pedrajas Ortiz, Antonio, Pilar Macías Mir, Antonio Ruiz Serrato, et Miguel Angel García Ordóñez. « [Aortic endocarditis and spondylodiscitis due to *Streptococcus bovis* in a patient in his eighties with colon cancer] ». *Revista Española De Geriátria Y Gerontología* 45, n<sup>o</sup>. 4 (août 2010): 243-245.

- Penders, J, E E Stobberingh, C Thijs, H Adams, C Vink, R van Ree, et P A van den Brandt. « Molecular fingerprinting of the intestinal microbiota of infants in whom atopic eczema was or was not developing ». *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 36, n°. 12 (décembre 2006): 1602-1608.
- Penders, John, Carel Thijs, Piet A van den Brandt, Ischa Kummeling, Bianca Snijders, Foekje Stelma, Hanne Adams, Ronald van Ree, et Ellen E Stobberingh. « Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study ». *Gut* 56, n°. 5 (mai 2007): 661-667.
- Penders, John, Carel Thijs, Cornelis Vink, Foekje F Stelma, Bianca Snijders, Ischa Kummeling, Piet A van den Brandt, et Ellen E Stobberingh. « Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy ». *Pediatrics* 118, n°. 2 (août 2006): 511-521.
- Peterson, Jane, Susan Garges, Maria Giovanni, Pamela McInnes, Lu Wang, Jeffery A Schloss, Vivien Bonazzi, et al. « The NIH Human Microbiome Project ». *Genome Research* 19, n°. 12 (décembre 2009): 2317-2323.
- Posserud, Iris, Per-Ove Stotzer, Einar S Björnsson, Hasse Abrahamsson, et Magnus Simrén. « Small intestinal bacterial overgrowth in patients with irritable bowel syndrome ». *Gut* 56, n°. 6 (juin 2007): 802-808.
- Prakash, Satya, Laetitia Rodes, Michael Coussa-Charley, et Catherine Tomaro-Duchesneau. « Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics ». *Biologics: Targets & Therapy* 5 (2011): 71-86.
- Qin, Junjie, Ruiqiang Li, Jeroen Raes, Manimozhiyan Arumugam, Kristoffer Solvsten Burgdorf, Chaysavanh Manichanh, Trine Nielsen, et al. « A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing ». *Nature* 464, n°. 7285 (mars 4, 2010): 59-65.
- Raoult, Didier. « Probiotics and obesity: a link? ». *Nature Reviews. Microbiology* 7, n°. 9 (septembre 2009): 616.
- Relman, David A. « New technologies, human-microbe interactions, and the search for previously unrecognized pathogens ». *The Journal of Infectious Diseases* 186 Suppl 2 (décembre 1, 2002): S254-258.
- Roberfroid, Marcel, Glenn R Gibson, Lesley Hoyles, Anne L McCartney, Robert Rastall, Ian Rowland, Danielle Wolvers, et al. « Prebiotic effects: metabolic and health benefits ». *The British Journal of Nutrition* 104 Suppl 2 (août 2010): S1-63.
- Round, June L, et Sarkis K Mazmanian. « Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, n°. 27 (juillet 6, 2010): 12204-12209.

- Round, June L, et Sarkis K Mazmanian. « The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease ». *Nature Reviews. Immunology* 9, n°. 5 (mai 2009): 313-323.
- Samuel, Buck S, Abdullah Shaito, Toshiyuki Motoike, Federico E Rey, Fredrik Backhed, Jill K Manchester, Robert E Hammer, et al. « Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, n°. 43 (octobre 28, 2008): 16767-16772.
- Sánchez, Ester, Inmaculada Nadal, Ester Donat, Carmen Ribes-Koninckx, Miguel Calabuig, et Yolanda Sanz. « Reduced diversity and increased virulence-gene carriage in intestinal enterobacteria of coeliac children ». *BMC Gastroenterology* 8 (2008): 50.
- Santacruz, A, M C Collado, L García-Valdés, M T Segura, J A Martín-Lagos, T Anjos, M Martí-Romero, et al. « Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women ». *The British Journal of Nutrition* 104, n°. 1 (juillet 2010): 83-92.
- Santacruz, Arlette, Ascensión Marcos, Julia Wärnberg, Amelia Martí, Miguel Martín-Matillas, Cristina Campoy, Luis A Moreno, et al. « Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents ». *Obesity (Silver Spring, Md.)* 17, n°. 10 (octobre 2009): 1906-1915.
- Sanz, Yolanda. « Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult humans ». *Gut Microbes* 1, n°. 3 (juin 2010): 135-137.
- Sanz, Yolanda, Ester Sánchez, Marta Marzotto, Miguel Calabuig, Sandra Torriani, et Franco Dellaglio. « Differences in faecal bacterial communities in coeliac and healthy children as detected by PCR and denaturing gradient gel electrophoresis ». *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 51, n°. 3 (décembre 2007): 562-568.
- Savage, D C. « Microbial biota of the human intestine: a tribute to some pioneering scientists ». *Current Issues in Intestinal Microbiology* 2, n°. 1 (mars 2001): 1-15.
- Savage, D C. « Microbial ecology of the gastrointestinal tract ». *Annual Review of Microbiology* 31 (1977): 107-133.
- Scanlan, Pauline D, et Julian R Marchesi. « Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota: qualitative assessment using culture-dependent and -independent analysis of faeces ». *The ISME Journal* 2, n°. 12 (décembre 2008): 1183-1193.
- Scanlan, Pauline D, Fergus Shanahan, Caitlin O'Mahony, et Julian R Marchesi. « Culture-independent analyses of temporal variation of the dominant fecal microbiota and targeted bacterial subgroups in Crohn's disease ». *Journal of Clinical Microbiology* 44, n°. 11 (novembre 2006): 3980-3988.
- Scher, Jose U, et Steven B Abramson. « The microbiome and rheumatoid arthritis ». *Nature Reviews. Rheumatology* 7, n°. 10 (octobre 2011): 569-578.

- Schippa, Serena, Valerio Iebba, Maria Barbato, Giovanni Di Nardo, Valentina Totino, Monica Proietti Checchi, Catia Longhi, Giulia Maiella, Salvatore Cucchiara, et Maria Pia Conte. « A distinctive “microbial signature” in celiac pediatric patients ». *BMC Microbiology* 10 (2010): 175.
- Schwartz, Andreas, Manuela Jacobi, Julia-Stefanie Frick, Markus Richter, Kerstin Rusch, et Henrik Köhler. « Microbiota in pediatric inflammatory bowel disease ». *The Journal of Pediatrics* 157, n° 2 (août 2010): 240-244.e1.
- Schwartz, Andreas, David Taras, Klaus Schäfer, Silvia Beijer, Nicolaas A Bos, Christiane Donus, et Philip D Hardt. « Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects ». *Obesity (Silver Spring, Md.)* 18, n° 1 (janvier 2010): 190-195.
- Seder, Christopher W, Michael Kramer, Graham Long, Maciej R Uzieblo, Charles J Shanley, et Paul Bove. « Clostridium septicum aortitis: Report of two cases and review of the literature ». *Journal of Vascular Surgery: Official Publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 49, n° 5 (mai 2009): 1304-1309.
- Sekirov, Inna, Shannon L Russell, L Caetano M Antunes, et B Brett Finlay. « Gut microbiota in health and disease ». *Physiological Reviews* 90, n° 3 (juillet 2010): 859-904.
- Seksik, P. « [Gut microbiota and IBD] ». *Gastroentérologie Clinique Et Biologique* 34 Suppl 1 (septembre 2010): S44-51.
- Sellge, Gernot, Joao G Magalhaes, Christoph Konradt, Jörg H Fritz, Wilmar Salgado-Pabon, Gérard Eberl, Antonio Bandeira, James P Di Santo, Phillippe J Sansonetti, et Armelle Phalipon. « Th17 cells are the dominant T cell subtype primed by Shigella flexneri mediating protective immunity ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 184, n° 4 (février 15, 2010): 2076-2085.
- Sepp, E, K Julge, M Mikelsaar, et B Björkstén. « Intestinal microbiota and immunoglobulin E responses in 5-year-old Estonian children ». *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 35, n° 9 (septembre 2005): 1141-1146.
- Shi, Hang, Maia V Kokoeva, Karen Inouye, Iphigenia Tzamelis, Huali Yin, et Jeffrey S Flier. « TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance ». *The Journal of Clinical Investigation* 116, n° 11 (novembre 2006): 3015-3025.
- Sjögren, Y M, M C Jenmalm, M F Böttcher, B Björkstén, et E Sverremark-Ekström. « Altered early infant gut microbiota in children developing allergy up to 5 years of age ». *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 39, n° 4 (avril 2009): 518-526.
- de Smit, M J, E Brouwer, A Vissink, et A J van Winkelhoff. « Rheumatoid arthritis and periodontitis; a possible link via citrullination ». *Anaerobe* 17, n° 4 (août 2011): 196-200.

- Smith, Patrick M, et Wendy S Garrett. « The gut microbiota and mucosal T cells ». *Frontiers in Microbiology* 2 (2011): 111.
- Sobhani, Iradj, Julien Tap, Françoise Roudot-Thoraval, Jean P Roperch, Sophie Letulle, Philippe Langella, Gérard Corthier, Jeanne Tran Van Nhieu, et Jean P Furet. « Microbial dysbiosis in colorectal cancer (CRC) patients ». *PloS One* 6, n°. 1 (2011): e16393.
- Sokol, H, P Seksik, J P Furet, O Firmesse, I Nion-Larmurier, L Beaugerie, J Cosnes, G Corthier, P Marteau, et J Doré. « Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota ». *Inflammatory Bowel Diseases* 15, n°. 8 (août 2009): 1183-1189.
- Sokol, Harry, Bénédicte Pigneur, Laurie Watterlot, Omar Lakhdari, Luis G Bermúdez-Humarán, Jean-Jacques Gratadoux, Sébastien Blugeon, et al. « *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, n°. 43 (octobre 28, 2008): 16731-16736.
- Sokol, Harry, Philippe Seksik, Lionel Rigottier-Gois, Christophe Lay, Patricia Lepage, Isabelle Podglajen, Philippe Marteau, et Joël Doré. « Specificities of the fecal microbiota in inflammatory bowel disease ». *Inflammatory Bowel Diseases* 12, n°. 2 (février 2006): 106-111.
- Songjinda, Prapa, Jiro Nakayama, Atsushi Tateyama, Shigemitsu Tanaka, Mina Tsubouchi, Chikako Kiyohara, Taro Shirakawa, et Kenji Sonomoto. « Differences in developing intestinal microbiota between allergic and non-allergic infants: a pilot study in Japan ». *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 71, n°. 9 (septembre 2007): 2338-2342.
- Sood, Ajit, Vandana Midha, Govind K Makharia, Vineet Ahuja, Dinesh Singal, Pooja Goswami, et Rakesh K Tandon. « The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis ». *Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association* 7, n°. 11 (novembre 2009): 1202-1209, 1209.e1.
- Spiller, Robin C. « Is IBS caused by infectious diarrhea? » *Nature Clinical Practice. Gastroenterology & Hepatology* 4, n°. 12 (décembre 2007): 642-643.
- Stoll, Barbara J, Nellie Hansen, Avroy A Fanaroff, Linda L Wright, Waldemar A Carlo, Richard A Ehrenkranz, James A Lemons, et al. « Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants ». *The New England Journal of Medicine* 347, n°. 4 (juillet 25, 2002): 240-247.
- Stsepetova, Jelena, Epp Sepp, Kaja Julge, Elaine Vaughan, Marika Mikelsaar, et Willem M de Vos. « Molecularly assessed shifts of *Bifidobacterium* spp. and less diverse microbial communities are characteristic of 5-year-old allergic children ». *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 51, n°. 2 (novembre 2007): 260-269.

- Suzuki, Shuichi, Naoki Shimojo, Yoshito Tajiri, Megumi Kumemura, et Yoichi Kohno. « A quantitative and relative increase in intestinal bacteroides in allergic infants in rural Japan ». *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology / Launched by the Allergy and Immunology Society of Thailand* 26, n° 2-3 (septembre 2008): 113-119.
- Tannock, G W, K Munro, H J Harmsen, G W Welling, J Smart, et P K Gopal. « Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20 ». *Applied and Environmental Microbiology* 66, n° 6 (juin 2000): 2578-2588.
- Taurog, J D, J A Richardson, J T Croft, W A Simmons, M Zhou, J L Fernández-Sueiro, E Balish, et R E Hammer. « The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats ». *The Journal of Experimental Medicine* 180, n° 6 (décembre 1, 1994): 2359-2364.
- Thompson-Chagoyan, Oscar C, Matteo Fallani, José Maldonado, José M Vieites, Sheila Khanna, Christine Edwards, Joël Doré, et Angel Gil. « Faecal microbiota and short-chain fatty acid levels in faeces from infants with cow's milk protein allergy ». *International Archives of Allergy and Immunology* 156, n° 3 (2011): 325-332.
- Thornley, J P, D Jenkins, K Neal, T Wright, J Brough, et R C Spiller. « Relationship of *Campylobacter* toxigenicity in vitro to the development of postinfectious irritable bowel syndrome ». *The Journal of Infectious Diseases* 184, n° 5 (septembre 1, 2001): 606-609.
- Tilg, Herbert, et Arthur Kaser. « Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction ». *The Journal of Clinical Investigation* 121, n° 6 (juin 1, 2011): 2126-2132.
- Tilley, B C, G S Alarcón, S P Heyse, D E Trentham, R Neuner, D A Kaplan, D O Clegg, et al. « Minocycline in rheumatoid arthritis. A 48-week, double-blind, placebo-controlled trial. MIRA Trial Group ». *Annals of Internal Medicine* 122, n° 2 (janvier 15, 1995): 81-89.
- Toivanen, P, J Vahtovuori, et E Eerola. « Influence of major histocompatibility complex on bacterial composition of fecal flora ». *Infection and Immunity* 69, n° 4 (avril 2001): 2372-2377.
- Turnbaugh, Peter J, Fredrik Bäckhed, Lucinda Fulton, et Jeffrey I Gordon. « Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome ». *Cell Host & Microbe* 3, n° 4 (avril 17, 2008): 213-223.
- Turnbaugh, Peter J, et Jeffrey I Gordon. « The core gut microbiome, energy balance and obesity ». *The Journal of Physiology* 587, n° 17 (septembre 1, 2009): 4153-4158.
- Turnbaugh, Peter J, Micah Hamady, Tanya Yatsunenko, Brandi L Cantarel, Alexis Duncan, Ruth E Ley, Mitchell L Sogin, et al. « A core gut microbiome in obese and lean twins ». *Nature* 457, n° 7228 (janvier 22, 2009): 480-484.

- Turnbaugh, Peter J, Ruth E Ley, Micah Hamady, Claire M Fraser-Liggett, Rob Knight, et Jeffrey I Gordon. « The human microbiome project ». *Nature* 449, n<sup>o</sup>. 7164 (octobre 18, 2007): 804-810.
- Turnbaugh, Peter J, Vanessa K Ridaura, Jeremiah J Faith, Federico E Rey, Rob Knight, et Jeffrey I Gordon. « The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice ». *Science Translational Medicine* 1, n<sup>o</sup>. 6 (novembre 11, 2009): 6ra14.
- Tvede, M, et J Rask-Madsen. « Bacteriotherapy for chronic relapsing *Clostridium difficile* diarrhoea in six patients ». *Lancet* 1, n<sup>o</sup>. 8648 (mai 27, 1989): 1156-1160.
- Uronis, Joshua M, Marcus Mühlbauer, Hans H Herfarth, Tara C Rubinas, Gieira S Jones, et Christian Jobin. « Modulation of the intestinal microbiota alters colitis-associated colorectal cancer susceptibility ». *PLoS One* 4, n<sup>o</sup>. 6 (2009): e6026.
- Vael, Carl, Vera Nelen, Stijn L Verhulst, Herman Goossens, et Kristine N Desager. « Early intestinal *Bacteroides fragilis* colonisation and development of asthma ». *BMC Pulmonary Medicine* 8 (2008): 19.
- Vaishnava, Shipra, Cassie L Behrendt, Anisa S Ismail, Lars Eckmann, et Lora V Hooper. « Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, n<sup>o</sup>. 52 (décembre 30, 2008): 20858-20863.
- Vargo, D, M Moskowitz, et M H Floch. « Faecal bacterial flora in cancer of the colon ». *Gut* 21, n<sup>o</sup>. 8 (août 1980): 701-705.
- Ventura, Marco, Carlos Canchaya, Andreas Tauch, Govind Chandra, Gerald F. Fitzgerald, Keith F. Chater, et Douwe van Sinderen. « Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 71, n<sup>o</sup>. 3 (septembre 2007): 495 -548.
- Vijay-Kumar, Matam, Jesse D Aitken, Frederic A Carvalho, Tyler C Cullender, Simon Mwangi, Shanthi Srinivasan, Shanthi V Sitaraman, Rob Knight, Ruth E Ley, et Andrew T Gewirtz. « Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5 ». *Science (New York, N.Y.)* 328, n<sup>o</sup>. 5975 (avril 9, 2010): 228-231.
- Waisberg, Jaques, Cláudio de Oliveira Matheus, et João Pimenta. « Infectious endocarditis from *Streptococcus bovis* associated with colonic carcinoma: case report and literature review ». *Arquivos De Gastroenterologia* 39, n<sup>o</sup>. 3 (septembre 2002): 177-180.
- Walker, Alan W, Jeremy D Sanderson, Carol Churcher, Gareth C Parkes, Barry N Hudspith, Neil Rayment, Jonathan Brostoff, Julian Parkhill, Gordon Dougan, et Liljana Petrovska. « High-throughput clone library analysis of the mucosa-associated microbiota reveals dysbiosis and differences between inflamed and non-inflamed regions of the intestine in inflammatory bowel disease ». *BMC Microbiology* 11 (2011): 7.

- Walter, Jens, et Ruth Ley. « The human gut microbiome: ecology and recent evolutionary changes ». *Annual Review of Microbiology* 65 (2011): 411-429.
- Wang, Mei, Caroline Karlsson, Crister Olsson, Ingegerd Adlerberth, Agnes E Wold, David P Strachan, Paolo M Martriacardi, et al. « Reduced diversity in the early fecal microbiota of infants with atopic eczema ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 121, n° 1 (janvier 2008): 129-134.
- Watanabe, Shinichi, Yutaka Narisawa, Seiji Arase, Hiroshi Okamatsu, Takeshi Ikenaga, Yoshito Tajiri, et Megumi Kumemura. « Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and healthy control subjects ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 111, n° 3 (mars 2003): 587-591.
- Wehkamp, Jan, Nita H Salzman, Edith Porter, Sabine Nuding, Michael Weichenthal, Robert E Petras, Bo Shen, et al. « Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, n° 50 (décembre 13, 2005): 18129-18134.
- Wen, Li, Ruth E Ley, Pavel Yu Volchkov, Peter B Stranges, Lia Avanesyan, Austin C Stonebraker, Changyun Hu, et al. « Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes ». *Nature* 455, n° 7216 (octobre 23, 2008): 1109-1113.
- Westerbeek, Elisabeth A M, Anemone van den Berg, Harrie N Lafeber, Jan Knol, Willem P F Fetter, et Ruurd M van Elburg. « The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: a review of the literature ». *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)* 25, n° 3 (juin 2006): 361-368.
- Wikoff, William R, Andrew T Anfora, Jun Liu, Peter G Schultz, Scott A Lesley, Eric C Peters, et Gary Siuzdak. « Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, n° 10 (mars 10, 2009): 3698-3703.
- Willing, Ben P, Johan Dicksved, Jonas Halfvarson, Anders F Andersson, Marianna Lucio, Zongli Zheng, Gunnar Järnerot, Curt Tysk, Janet K Jansson, et Lars Engstrand. « A pyrosequencing study in twins shows that gastrointestinal microbial profiles vary with inflammatory bowel disease phenotypes ». *Gastroenterology* 139, n° 6 (décembre 2010): 1844-1854.e1.
- Willing, Ben, Jonas Halfvarson, Johan Dicksved, Magnus Rosenquist, Gunnar Järnerot, Lars Engstrand, Curt Tysk, et Janet K Jansson. « Twin studies reveal specific imbalances in the mucosa-associated microbiota of patients with ileal Crohn's disease ». *Inflammatory Bowel Diseases* 15, n° 5 (mai 2009): 653-660.
- Woese, C R. « Bacterial evolution ». *Microbiological Reviews* 51, n° 2 (juin 1987): 221-271.
- Wu, Shaoguang, Ki-Jong Rhee, Emilia Albesiano, Shervin Rabizadeh, Xinqun Wu, Hung-Rong Yen, David L Huso, et al. « A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses ». *Nature Medicine* 15, n° 9 (septembre 2009): 1016-1022.

- Wu, Xiaokang, Chaofeng Ma, Lei Han, Muhammad Nawaz, Fei Gao, Xuyan Zhang, Pengbo Yu, et al. « Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes ». *Current Microbiology* 61, n° 1 (juillet 2010): 69-78.
- Yoon, Sonia S, et Jun Sun. « Probiotics, nuclear receptor signaling, and anti-inflammatory pathways ». *Gastroenterology Research and Practice* 2011 (2011): 971938.
- Zawodsky, L. « [Eubiosis - dysbiosis] ». *Wiener Medizinische Wochenschrift (1946)* 116, n° 49 (décembre 3, 1966): 1089-1092.
- Zeissig, S, N Bürgel, D Günzel, J Richter, J Mankertz, U Wahnschaffe, A J Kroesen, M Zeitz, M Fromm, et J-D Schulzke. « Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease ». *Gut* 56, n° 1 (janvier 2007): 61-72.
- Zhang, Ming-Ming, Jing-Qiu Cheng, Lin Xia, Yan-Rong Lu, et Xiao-Ting Wu. « Monitoring intestinal microbiota profile: a promising method for the ultraearly detection of colorectal cancer ». *Medical Hypotheses* 76, n° 5 (mai 2011): 670-672.
- Zocco, M A, L Zileri dal Verme, F Cremonini, A C Piscaglia, E C Nista, M Candelli, M Novi, et al. « Efficacy of Lactobacillus GG in maintaining remission of ulcerative colitis ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 23, n° 11 (juin 1, 2006): 1567-1574.
- Zoetendal, E G, A D Akkermans, et W M De Vos. « Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria ». *Applied and Environmental Microbiology* 64, n° 10 (octobre 1998): 3854-3859.
- Zoetendal, Erwin G, Caroline M Plugge, Antoon D L Akkermans, et Willem M de Vos. « *Victivallis vadensis* gen. nov., sp. nov., a sugar-fermenting anaerobe from human faeces ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53, n° 1 (janvier 2003): 211-215.
- Van Zwol, A, A Van Den Berg, J Knol, J W R Twisk, W P F Fetter, et R M Van Elburg. « Intestinal microbiota in allergic and nonallergic 1-year-old very low birth weight infants after neonatal glutamine supplementation ». *Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)* 99, n° 12 (décembre 2010): 1868-1874.

L'ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1  
n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ;  
ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

**BONAITI Vincent**

**Importance de la flore microbienne intestinale dans les pathologies humaines**

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2012, 126 p.

**RESUME**

Dès la naissance, le corps humain est colonisé de l'extérieur (peau et muqueuses) mais aussi de l'intérieur (sphère ORL, tube digestif) par un ensemble de bactéries. Au niveau du tractus intestinal, la communauté bactérienne est estimée à  $10^{14}$  bactéries et est composée de plus de 1000 espèces différentes. Cette communauté appelée anciennement flore (ou microflore) intestinale est dorénavant nommée microbiote. L'ensemble des gènes portés par ce microbiote est appelé microbiome. Cependant, pour des raisons encore mal connues, cette flore peut se déséquilibrer, le terme de dysbiose est employée, ce qui peut entraîner différentes pathologies intestinales et systémiques.

Cette thèse bibliographique portera dans une première partie sur les données récentes sur l'évolution de la composition du microbiote intestinal de la naissance jusqu'à l'âge adulte ainsi que sur les fonctions métaboliques, immunitaires et protectrices contre les organismes pathogènes qu'il confère à l'hôte.

Puis, dans une seconde partie, les pathologies intestinales et systémiques associées à la dysbiose et plus particulièrement l'obésité et les maladies inflammatoires de l'intestin seront abordées.

Enfin, dans une dernière partie, il sera fait un point à la fois sur les perspectives d'exploration de l'eubiose ainsi que de la dysbiose mais aussi sur les perspectives thérapeutiques, comme l'emploi des prébiotiques et/ou probiotiques ainsi que la transplantation fécale.

**MOTS CLES**

Microbiote  
Microbiome  
Dysbiose  
Obésité  
Maladies inflammatoires intestinales

**JURY**

M. BIENVENU Jacques, Professeur  
Mme LAVILLE Martine, Professeur  
M. LINA Gérard, Professeur  
M. NANCEY Stéphane, Professeur  
M. COZON Grégoire, Docteur en Médecine

**DATE DE SOUTENANCE**

Mardi 14 février 2012

**ADRESSE DE L'AUTEUR**

212, route d'Heyrieux – 38540 VALENCIN