



**HAL**  
open science

## Dysbioses intestinales chez l'Homme : causes, conséquences, prophylaxies et traitements

Ludovic Coppé

► **To cite this version:**

Ludovic Coppé. Dysbioses intestinales chez l'Homme : causes, conséquences, prophylaxies et traitements. Sciences pharmaceutiques. 2018. hal-03297554

**HAL Id: hal-03297554**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03297554>**

Submitted on 23 Jul 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**UNIVERSITE DE LORRAINE**  
**2018**

---

**FACULTE DE PHARMACIE**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement

Le 27 juin 2018 sur un sujet dédié à :

**Dysbioses intestinales chez l'Homme :  
Causes, conséquences, prophylaxies et traitements**

Pour obtenir

**Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

par Ludovic Coppé

Né le 15 décembre 1992

**Membres du Jury**

Président :	Professeur Raphaël Duval	Microbiologie
Jury :	Docteur Xavier Bellanger	Maître de Conférences, directeur de thèse
	Docteur Isabelle Bertrand	Maître de Conférences
	Docteur Anne-Sylvie Hinzelin	Pharmacien

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE**  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**  
**Année universitaire 2017-2018**

**DOYEN**

Francine PAULUS

**Vice-Doyen/Directrice des études**

Virginie PICHON

**Conseil de la Pédagogie**

Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER

Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT

**Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier**

Présidente, Béatrice DEMORE

**Commission Prospective Facultaire**

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

**Commission de la Recherche**

Président, Raphaël DUVAL

**Responsables de la filière Officine**

Caroline PERRIN-SARRADO

**Responsables de la filière Industrie**

Julien GRAFOULET

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

**Responsables de la filière Hôpital**

Béatrice DEMORE

**Responsable Pharma Plus ENSIC**

Marie SOCHA

**Responsable Pharma Plus ENSAIA**

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

**Responsable Pharma Plus ENSGSI**

Raphaël DUVAL

**Responsable de la Communication**

Igor CLAROT

**Responsable de la Cellule de Formation Continue  
et individuelle**

Marie-Paule SAUDER

**Responsable de la Commission d'agrément  
des maîtres de stage**

Béatrice FAIVRE

**Responsable ERASMUS**

François DUPUIS

Mihayl VARBANOV

**DOYENS HONORAIRES**

Chantal FINANCE

Claude VIGNERON

**PROFESSEURS EMERITES**

Jeffrey ATKINSON

Jean-Claude BLOCK

Max HENRY

Alain MARSURA

Claude VIGNERON

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Pierre DIXNEUF

Chantal FINANCE

Marie-Madeleine GALTEAU

Thérèse GIRARD

Michel JACQUE

Pierre LABRUDE

Vincent LOPPINET

**MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES**

Monique ALBERT

Mariette BEAUD

Gérald CATAU

Jean-Claude CHEVIN

Jocelyne COLLOMB

Bernard DANGIEN

Marie-Claude FUZELLIER

Alain NICOLAS  
Janine SCHWARTZBROD  
Louis SCHWARTZBROD

**ASSISTANTS HONORAIRES**

Marie-Catherine BERTHE  
Annie PAVIS

Françoise HINZELIN  
Marie-Hélène LIVERTOUX  
Bernard MIGNOT  
Blandine MOREAU  
Dominique NOTTER  
Christine PERDICAKIS  
Marie-France POCHON  
Anne ROVEL  
Gabriel TROCKLE  
Maria WELLMAN-ROUSSEAU  
Colette ZINUTTI

**ENSEIGNANTS**

Section CNU\*

Discipline d'enseignement

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	Thérapie cellulaire
Jean-Louis MERLIN	82	Biologie cellulaire
Jean-Michel SIMON	81	Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Nathalie THILLY	81	Santé publique et Epidémiologie

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	Pharmacologie
Igor CLAROT	85	Chimie analytique
Joël DUCOURNEAU	85	Biophysique, Acoustique, Audioprothèse
Raphaël DUVAL	87	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE	87	Hématologie, Biologie cellulaire
Luc FERRARI	86	Toxicologie
Pascale FRIANT-MICHEL	85	Mathématiques, Physique
Christophe GANTZER	87	Microbiologie
Frédéric JORAND	87	Eau, Santé, Environnement
Isabelle LARTAUD	86	Pharmacologie
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER	87	Biochimie
Pierre LEROY	85	Chimie physique
Philippe MAINCENT	85	Pharmacie galénique
Patrick MENU	86	Physiologie
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN	87	Biochimie, Biologie moléculaire

**MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Béatrice DEMORE	81	Pharmacie clinique
Alexandre HARLE	82	Biologie cellulaire oncologique
Julien PERRIN	82	Hématologie biologique
Loïc REPPÉL	82	Biothérapie
Marie SOCHA	81	Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique

**MAITRES DE CONFÉRENCES**

Sandrine BANAS	87	Parasitologie
Xavier BELLANGER	87	Parasitologie, Mycologie médicale
Emmanuelle BENOIT	86	Communication et Santé
Isabelle BERTRAND	87	Microbiologie
Michel BOISBRUN	86	Chimie thérapeutique
François BONNEAUX	86	Chimie thérapeutique

Ariane BOUDIER	85	<i>Chimie Physique</i>
Cédric BOURA	86	<i>Physiologie</i>
Joël COULON	87	<i>Biochimie</i>
Sébastien DADE	85	<i>Bio-informatique</i>
Dominique DECOLIN	85	<i>Chimie analytique</i>
Roudayna DIAB	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Natacha DREUMONT	87	<i>Biochimie générale, Biochimie clinique</i>
Florence DUMARCAÏ	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François DUPUIS	86	<i>Pharmacologie</i>
Reine EL OMAR	86	<i>Physiologie</i>
Adil FAIZ	85	<i>Biophysique, Acoustique</i>
Anthony GANDIN	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Caroline GAUCHER	86	<i>Chimie physique, Pharmacologie</i>
Stéphane GIBAUD	86	<i>Pharmacie clinique</i>
Thierry HUMBERT	86	<i>Chimie organique</i>
Olivier JOUBERT	86	<i>Toxicologie, Sécurité sanitaire</i>

**ENSEIGNANTS (suite)**

Section CNU\*

Discipline d'enseignement

Alexandrine LAMBERT	85	<i>Informatique, Biostatistiques</i>
Julie LEONHARD	86/01	<i>Droit en Santé</i>
Christophe MERLIN	87	<i>Microbiologie environnementale</i>
Maxime MOURER	86	<i>Chimie organique</i>
Coumba NDIAYE	86	<i>Epidémiologie et Santé publique</i>
Marianne PARENT	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Francine PAULUS	85	<i>Informatique</i>
Caroline PERRIN-SARRADO	86	<i>Pharmacologie</i>
Virginie PICHON	85	<i>Biophysique</i>
Sophie PINEL	85	<i>Informatique en Santé (e-santé)</i>
Anne SAPIN-MINET	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Marie-Paule SAUDER	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Guillaume SAUTREY	85	<i>Chimie analytique</i>
Rosella SPINA	86	<i>Pharmacognosie</i>
Sabrina TOUCHET	86	<i>Pharmacochimie</i>
Mihayl VARBANOV	87	<i>Immuno-Virologie</i>
Marie-Noëlle VAULTIER	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Emilie VELOT	86	<i>Physiologie-Physiopathologie humaines</i>
Mohamed ZAIYOU	87	<i>Biochimie et Biologie moléculaire</i>

**PROFESSEUR ASSOCIE**

Julien GRAVOULET	86	<i>Pharmacie clinique</i>
Anne MAHEUT-BOSSER	86	<i>Sémiologie</i>

**PROFESSEUR AGREGÉ**

Christophe COCHAUD	11	<i>Anglais</i>
--------------------	----	----------------

**\*Disciplines du Conseil National des Universités :**

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

# SERMENT DES APOTHICAIRES



**Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :**

**Ɖ' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**

**Ɖ'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**

**Ɖe ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.**

**Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.**

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE  
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS  
EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS  
DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES  
A LEUR AUTEUR ».

## *Remerciements :*

Merci à Monsieur Xavier Bellanger, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de diriger mon travail. Votre aide m'a été précieuse et je vous en remercie grandement ;

Merci à Monsieur Raphaël Duval, de me faire l'honneur de présider et d'évaluer mon travail ;

Merci à Madame Isabelle Bertrand, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger cette thèse ;

Merci à Madame Anne-Sylvie Hinzelin, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie de mon jury ;

Merci à mes parents, à ma famille et à mes amis, pour leur soutien et leur encouragement.

# Table des matières

Table des figures .....	3
Liste des tableaux .....	5
Liste des abréviations : .....	6
I. Le microbiote intestinal chez l'Homme : .....	9
a. <i>Définition et généralités</i> : .....	9
i. <i>Composition de la flore</i> .....	9
ii. <i>Variations au cours de la vie</i> .....	12
iii. <i>Champignons, parasites et virus</i> .....	13
b. <i>Analyse de la flore et méthodes d'études</i> : .....	14
i. <i>Analyse culturale</i> : .....	14
ii. <i>Analyse moléculaire</i> : .....	16
c. <i>Mise en place de la flore intestinale</i> .....	18
i. <i>Développement chez le nouveau-né</i> .....	18
ii. <i>Colonisation et répartition</i> .....	20
II. Rôles physiologiques de la flore intestinale : interactions hôtes-bactéries .....	23
a. <i>Relations entre microflore et épithélium digestif</i> : .....	23
i. <i>Histologie</i> : .....	23
ii. <i>Effets de la flore et des métabolites bactériens sur l'épithélium</i> : .....	29
iii. <i>Effets de la motricité colique sur la microflore et vice versa</i> .....	35
b. <i>Multiplés fonctions de la flore</i> : .....	39
i. <i>Les substrats disponibles</i> : .....	39
ii. <i>Métabolisme des substrats disponibles</i> : .....	41
iii. <i>Barrière physiologique</i> : .....	51
iv. <i>Régulation de l'angiogenèse intestinale</i> : .....	52
v. <i>Stimulation du système immunitaire</i> .....	53
c. <i>Stimulation du système immunitaire : Immunité et importance du microbiote</i> : .....	53

i.	<i>Rappels d'immunologie :</i>	53
ii.	<i>Rôle de la flore sur le développement du système immunitaire intestinal :</i>	58
III.	<i>Dysbiose intestinale et pathologies associées :</i>	61
a.	<i>Définition et généralités :</i>	61
b.	<i>Le « Leaky Gut Syndrom » ou syndrome de l'intestin perméable :</i>	61
c.	<i>Proliférations bactériennes :</i>	62
d.	<i>Relations entre la dysbiose et les troubles neurologiques :</i>	65
e.	<i>Microflore et diabète :</i>	71
f.	<i>Microflore et pathologies cardiaques :</i>	72
g.	<i>Dysbiose intestinale et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin :</i>	75
h.	<i>Dysbiose intestinale et cancer colorectal :</i>	78
i.	<i>Les diarrhées :</i>	80
IV.	<i>Moyens diagnostiques et thérapeutiques :</i>	85
a)	<i>La coprologie fonctionnelle :</i>	85
b)	<i>Les différents tests :</i>	87
c)	<i>Recherche des métabolites bactériens :</i>	91
d)	<i>Les traitements disponibles :</i>	96
e)	<i>Les probiotiques et prébiotiques :</i>	104
f)	<i>Importance de l'alimentation :</i>	109
V.	<i>Conclusion :</i>	112

## Table des figures

Figure 1 : Population bactérienne dans le système gastro-intestinal .....	9
Figure 2 Bifidobacterium longum (5).....	10
Figure 3 Lactobacillus casei (7) .....	10
Figure 4 Variation des populations bactériennes fécales en fonction de l'âge des individus (14).....	12
Figure 5 Visualisation des membres du virome et leurs relations avec l'organisme (13).....	14
Figure 6 Chambre à atmosphère contrôlée.....	15
Figure 7 Méthodes d'études de la microflore intestinale (24) .....	16
Figure 8 Principe de la PCR (21) .....	17
Figure 9 Fimbriae d'E. coli (25).....	19
Figure 10 Population bactérienne le long du système digestif (40) .....	21
Figure 11 : Villosités au niveau de la muqueuse intestinale (41).....	23
Figure 12 Crypte et villosité de la muqueuse intestinale (36) .....	23
Figure 13 Visualisation des villosités intestinales.....	24
Figure 14 Crypte de Lieberkühn (37).....	25
Figure 15 Jonctions serrées entre entérocytes .....	26
Figure 16 Coupe d'intestin grêle.....	27
Figure 17 Cellule de Paneth dans la crypte intestinale.....	28
Figure 18 Principe de la division asymétrique .....	29
Figure 19 Acide butyrique.....	30
Figure 20 Communication entre les bactéries et les cellules épithéliales.....	31
Figure 21 Devenir du butyrate dans la mitochondrie .....	33
Figure 22 Le cycle cellulaire .....	34
Figure 23 Coupe de la paroi intestinale.....	36
Figure 24 Enregistrement manométrique de deux séquences de CPGA (91) .....	36
Figure 25 Mise en évidence de pellets radio-opaques le long du tube digestif.....	37
Figure 26 Fermentation bactérienne du lactulose.....	38
Figure 27 Substrats endogènes et exogènes disponibles pour la flore intestinale .....	40

Figure 28 Devenir des glucides suite à leur utilisation par la flore bactérienne.....	41
Figure 29 Structure de l'amidon .....	42
Figure 30 Ruminococcus flavefaciens (110).....	42
Figure 31 Processus de fermentation des glucides .....	44
Figure 32 Methanobrevibacter smithii (114).....	45
Figure 33 Devenir des protéines suite à leur utilisation par la flore bactérienne intestinale .....	46
Figure 34 Représentation schématique du cholestérol .....	48
Figure 36 Système de défenses liées à la flore .....	52
Figure 37 Processus de l'angiogenèse .....	53
Figure 38 Les différents récepteurs TLR et leurs substrats.....	54
Figure 39 Coupe histologique de plaque de Peyer (24) .....	56
Figure 39 Devenir des cellules immunitaires Th.....	57
Figure 40 Eczéma atopique chez un nourrisson.....	59
Figure 41 Visualisation de la diverticulose .....	63
Figure 42 Relations entre la phosphatidylcholine alimentaire et la microflore intestinale (244).....	73
Figure 43 Visualisation des variations de composition bactérienne lors des MICI (271).....	76
Figure 44 Visualisation de la présence des tumeurs dans l'intestin de souris traités ou non par antibiotiques .....	78
Figure 45 Abondance relative des différentes bactéries suivant les injections de DSS .....	79
Figure 46 Visualisation de la présence des tumeurs intestinales chez des souris axéniques.....	80
Figure 47 Visualisation de Klebsiella oxytoca au microscope suite à une coloration de Gram.....	83
Figure 48 : Aspect typique de la colite pseudomembraneuse, visualisation endoscopique des fausses membranes .....	84
Figure 49 Domaines d'actions des sondes utilisées dans le GADT .....	89
Figure 50 Méthode technique du GADT.....	90
Figure 51 Visualisation de différentes populations et de leur indice de dysbiose.....	90
Figure 52 Lignées bactériennes retrouvées chez les individus dysbiotiques ou non.....	91
Figure 53 Concentrations urinaires d'HPA avant et après traitement.....	94
Figure 55 Huiles essentielles de plantes et visualisation de leur CMI en % v/v (335).....	100

Figure 56 Composition bactérienne dans les différentes populations de souris.....	104
Figure 57 Populations bactériennes présentes dans les différentes souris.....	104
Figure 58 Mécanismes d'actions et effets biologiques des probiotiques, prébiotiques et synbiotiques (353).....	105

## Liste des tableaux

Tableau1 Caractérisation des différentes espèces bactériennes en fonction de leurs substrats (8) .....	11
Tableau 2 Principaux genres bactériens et leurs voies de métabolisation préférentielle.....	11
Tableau 3 Exemple de médicaments métabolisés par la microflore (135).....	50
Tableau 4 Interprétation des concentrations de benzoate et d'hippurate .....	92

## Liste des abréviations :

ACE-1 : *Angiotensin-Conversion Enzyme* type 1  
ACTH : Hormone corticotrope  
AGCC : Acides Gras à Chaines Courtes  
AGPI : Acides Gras Poly-Insaturés  
AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdien  
AP : Acide Phénylacétique  
APP : Acide Phénylpropionique  
CCR : Cancer Colo-Rectal  
CGR : *Cardiac Glycoside Reductase*  
CPA : Cellules Présentatrices de l'Antigène  
CPGA : Contraction Phasique de Grande Amplitude  
FOS : Fructo-Oligo-Saccharides  
GALT : *Gut Associated Lymphoid Tissue*  
GBA : *Gut-brain axis*  
GOS : Galacto-Oligo-Saccharides  
HHS : Hypothalamo-Hyphophyso-Surrénalien  
Ig : Immunoglobulines  
IL : InterLeukines  
IPP : Inhibiteur de la pompe à protons  
LGS : *Leaky Gut Syndrom*  
LH : Hormone lutéinisante  
LAM : Lipoarabinomannane  
LPS : Lipopolysaccharide  
LTA : Acide lipotéichoïque  
MAIT : *Mucosal Associated Invariant Cells*  
MC : Maladie de Crohn  
MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin  
NK : *Natural Killer*  
OVA : Ovalbumine  
PCR : Polymerase Chain Reaction  
PEG : Polyéthylèneglycol  
PGN : Peptidoglycane  
RCH : Rectocolite hémorragique  
SIBO : *Small Intestinal Bowel Overgrowth*  
SII : Syndrome de l'intestin irritable  
SNA : Sytème nerveux autonome  
SNC : Système nerveux central  
SNE : Système nerveux entérique  
TLR : *Toll-Like Receptor*  
TMA : Triméthylamine  
TMAO : Triméthylamine n-oxyde  
TMF : Transplantation de Microbiote Fécal  
TXN : *Tong-Xie-Niang*  
UFC : Unité Formant Colonie  
VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

Dysbioses intestinales chez l'Homme :  
causes, conséquences, prophylaxies et  
traitements

Le système digestif de l'Homme, de la bouche à l'anus, est un lieu où réside une formidable diversité de microorganismes : des bactéries, des champignons, des parasites et des virus. Certains, en particulier les bactéries, colonisent de manière permanente la sphère digestive car ils y retrouvent toutes les conditions nécessaires à leur survie contrairement à d'autres, comme certains parasites, qui ne font que transiter dans le tractus digestif suite aux pressions exercées par les autres microorganismes et par l'hôte. On parle respectivement de flore autochtone et de flore allochtone. Dans les intestins, partie du système digestif nous intéressent le plus car lieux où la majorité des espèces sont rencontrées, ces flores forment ensemble le microbiote intestinal, le plus grand réservoir de microorganismes du corps humain.

La flore intestinale commence à se développer dès la naissance pour atteindre vers l'âge de deux ans une flore similaire en composition à celle de l'âge adulte. De nombreux facteurs influencent l'établissement et la diversité des populations bactériennes, générant dès lors une flore microbienne propre à chaque personne. En effet, de nombreuses différences de population microbienne inter-individus sont observées, dépendant de paramètres tels que le mode d'accouchement ou l'alimentation. Longtemps mal connus et considérés, de récentes études ont permis de mettre en lumière les rôles et fonctions essentiels du microbiote, tels que son action sur l'angiogenèse intestinale, le métabolisme des xénobiotiques ou son rôle dans la constitution et la maturation du système immunitaire. Malgré de nombreuses actions bénéfiques pour l'hôte, le microbiote peut aussi se retrouver impliqué en pathologie. Lorsqu'il existe un déséquilibre entre les différentes populations microbiennes, on parle de dysbiose intestinale. Ce trouble peut être associé directement à certaines complications immunologiques comme les phénomènes allergiques ou encore dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Les liens entre la microflore, la muqueuse intestinale, fine barrière cellulaire nous séparant seule des agressions du monde extérieur, et l'organisme en général, sont actuellement étudiés dans le but de comprendre et maîtriser les dysbioses.

## I. Le microbiote intestinal chez l'Homme :

Les bactéries formant une proportion largement majoritaire, mon propos ne s'attardera pas sur les autres colonisateurs de notre système digestif. Dans ce chapitre, nous allons discuter des différentes espèces présentes dans le système intestinal, des moyens utilisés pour étudier la microflore ou encore sa répartition le long du tube digestif.

### a. Définition et généralités :

#### i. Composition de la flore

Atteignant une longueur d'environ 9 mètres, de la bouche à l'anus, le tube digestif est colonisé par les bactéries en tous lieux. Ainsi, il y a  $10^8$  à  $10^9$  unités formant colonie (UFC)/mL dans la salive, moins de  $10^3$  UFC/mL dans l'estomac puis de manière croissante du duodénum au colon de  $10^3$  à  $10^{11}$  UFC/mL (Figure 1) (1). Il y a autant de bactéries que de cellules composant notre corps :  $4 \times 10^{13}$  pour  $3 \times 10^{13}$  (1). Cette quantité de bactéries correspond à un poids de deux cents grammes. Elles constituent également la moitié de la masse fécale.

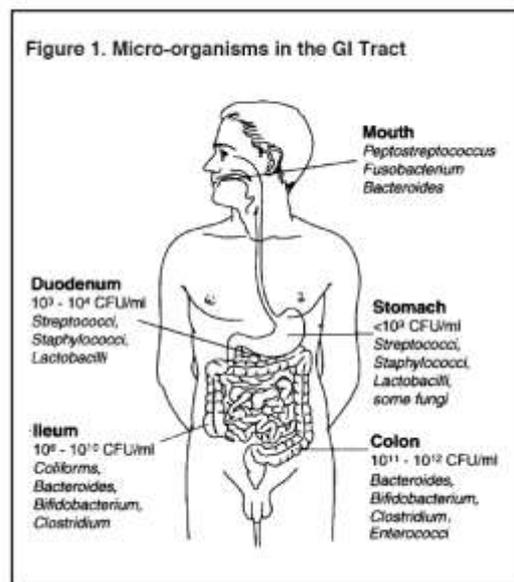


Figure 1 : Population bactérienne dans le système gastro-intestinal

A la quantité s'ajoute la diversité, en effet, plus de 500 espèces bactériennes faisant partie d'au moins 90 genres différents résident dans cet environnement très favorable, ce qui fait de l'intestin humain l'une des niches écologiques microbiennes les plus diversifiées (2). On y dénombre un patrimoine génétique, là aussi, environ dix fois supérieur au nôtre : 35.000 gènes contre 400.000. Ce chiffre est encore grandissant, grâce à l'avancée de la biologie moléculaire (3).

La flore bactérienne est majoritairement représentée par 5 phyla bactériens dont les deux premiers représentent 90% des espèces présentes :

- Les Firmicutes (genre *Clostridium*, *Lactobacillus*...)
- Les Actinobactéries (genre *Bifidobacterium*, *Collinsella*...)

- Les Bactéroidetes (genre *Bacteroides*...)
- Les Protéobactéries (genre *Escherichia*...)
- Les Verrucomicrobia

On remarque deux types de flores. Celle résidente, ou autochtone, comprend l'ensemble des espèces qui sont implantées de façon permanente dans le tube digestif, espèces qui ont colonisé un site spécifique et sont capables de s'y multiplier. Ces espèces se retrouvent isolées de manière répétée sur de longues périodes de temps, et sont caractéristiques des individus. La flore résidente englobe la flore dominante et la flore sous-dominante. Correspondant à des taux de  $10^9$  à  $10^{11}$  UFC/g, la flore dominante est surtout composée de bactéries anaérobies strictes, dont celles du genre *Bacteroides* qui se trouvent en nombre important (4), ou encore des bactéries à Gram positifs comme *Clostridium*, *Bifidobacterium* (Figure 2) ou les cocci *Ruminococcus*. On estime le nombre d'espèces représentant la flore dominante entre vingt-cinq et quarante.



Figure 2 *Bifidobacterium longum* (5)

La flore sous-dominante, elle, est estimée entre  $10^6$  et  $10^8$  UFC/g. Elle est composée de bactéries anaérobies facultatives, en particulier différentes espèces d'*Enteriobacteriaceae* (*E. coli* surtout), ainsi que des espèces de *Lactobacillus* (Figure 3), *Streptococcus* et *Enterococcus*. Une croissance et une abondance anormalement élevées de ces bactéries sont souvent responsables d'effets pathogènes (5).

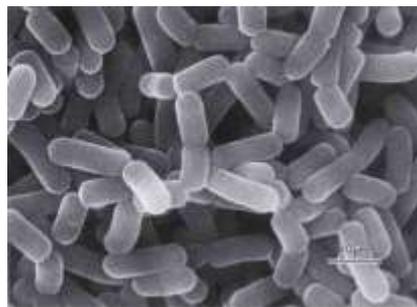


Figure 3 *Lactobacillus casei* (7)

Dans une moindre mesure se trouve la flore de passage ou allochtone. Cette flore est très polymorphe et n'est pas implantée dans le tractus digestif, hormis certaines causes pathologiques. Elle provient essentiellement de l'alimentation. Le taux d'UFC/g ne dépasse pas  $10^6$ . On y trouve des entérobactéries du genre *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, mais aussi des staphylocoques, des bactéries du genre *Pseudomonas* et des levures.

Il est aussi possible de classer les différentes espèces bactériennes en fonction de leurs propriétés métaboliques et des substrats qu'elles consomment dans le tube digestif. Dans le côlon ascendant, ou côlon droit, la voie de métabolisation préférentielle est la fermentation saccharolytique correspondant à la métabolisation des glucides, puis elle laisse place dans le côlon gauche à la fermentation protéolytique, également appelée putréfaction correspondant à la métabolisation des protéines et acides aminés. Deux autres voies métaboliques sont aussi utilisées, mais dans une moindre mesure. Il s'agit de celles des espèces sulfato-réductrices et des espèces méthanogènes. Le tableau suivant met en lumière les substrats des différentes espèces.

Tableau1 Caractérisation des différentes espèces bactériennes en fonction de leurs substrats (8)

<i>ESPECES</i>	<i>SUBSTRATS</i>
<i>Protéolytiques</i>	Protéines, Peptides, Acides aminés
<i>Saccharolytiques</i>	Glucides (mono- ; oligo- et polysaccharides)
<i>Méthanogènes</i>	Sulfates, Nitrates, Sulfites, Thiosulfates
<i>Sulfato-réductrices</i>	Ethanol, Hydrogène, Succinate, Lactate

Un deuxième tableau peut également faire office de cartographie des espèces bactériennes, suivant leur nombre et leurs substrats et donner une vue globale de la microflore.

Tableau 2 Principaux genres bactériens et leurs voies de métabolisation préférentielle

Genre	Nombre (log 10/g de fécès)	Gram	O <sub>2</sub>	Protéolytiques	Saccharolytiques	Autres
<i>Bacteroides</i>	11.3	-	-	+	++	-
<i>Bifidobacterium</i>	10.2	+	-	-	+++	-
<i>Peptostreptococcus</i>	10.1	+	-	++	+	-
<i>Clostridium</i>	9.8	+	-	++	+	-
<i>Methanobrevibacter</i>	8.8	+	-	-	-	+++
<i>Escherichia</i>	8.6	-	~	++	+	-
<i>Desulfovibrio</i>	8.4	-	~	+	+	+++

O<sub>2</sub> - : Anaérobic ; O<sub>2</sub> ~ : Anaérobic facultative  
 + : Activité faible ; ++ : Activité moyenne ; +++ : Activité forte

Ce qu'il faut retenir de cette cohabitation entre bactéries est la notion d'équilibre. Celui-ci est essentiel et les perturbations de la population bactérienne peuvent être responsables de plaintes fonctionnelles ressenties par l'hôte. Ce déséquilibre des membres du microbiote est appelé dysbiose.

## ii. Variations au cours de la vie

L'implantation des multiples espèces et souches bactériennes n'est pas une chose acquise et fixe tout au long de la vie humaine. La composition de la flore varie en fonction de l'individu mais aussi de son environnement. De plus, chez une même personne, la composition de sa flore varie au cours de son existence (Figure 4). Une étude portant sur seize individus adultes sains a montré des profils de microflore fécale très hétérogènes les uns des autres, mais pour une même personne, le profil obtenu faisait preuve d'une remarquable stabilité (6). L'hypothèse faite est que chaque adulte sain possède une microflore qui lui est propre et dont la composition reste stable durant cette période de vie. Malgré les différences inter-individus, certaines séquences d'ADN bactérien présentaient une similarité entre les personnes. Ces séquences correspondaient à *Eubacterium hallii*, *Fusobacterium prausnitzii* et *Ruminococcus obeum* (7). Ces espèces étant souvent retrouvées chez l'Homme, les auteurs ont alors conclu qu'elles devaient avoir un rôle fonctionnel non négligeable.

Lorsqu'une personne vieillit, la composition et la diversité de sa flore se modifient ce qui se traduit par une augmentation des clostridies, des entérocoques et des entérobactéries, espèces potentiellement pathogènes (8). Ainsi, des travaux ont montré une diminution des espèces anaérobies, hors clostridies, couplée à une augmentation des entérobactéries (9). Ces différences de composition bactérienne intestinale entre un nourrisson et une personne âgée s'expliquent par une modification de l'environnement colique. Chez une personne âgée, les paramètres de cet environnement, comme le pH, diffèrent de ceux du nourrisson et sont responsables des modulations de population bactérienne. On constate également que la diversité de la flore augmente avec l'âge (10).

Enfin, il est important de rappeler que l'ensemble de ces travaux ont été réalisés avec des techniques ne permettant d'identifier qu'une faible proportion d'espèces. Comme nous le verrons au chapitre suivant, les différentes techniques mise en œuvre dans l'identification des bactéries ne peuvent à elles seules suffirent pour mettre en lumière toute la flore intestinale.

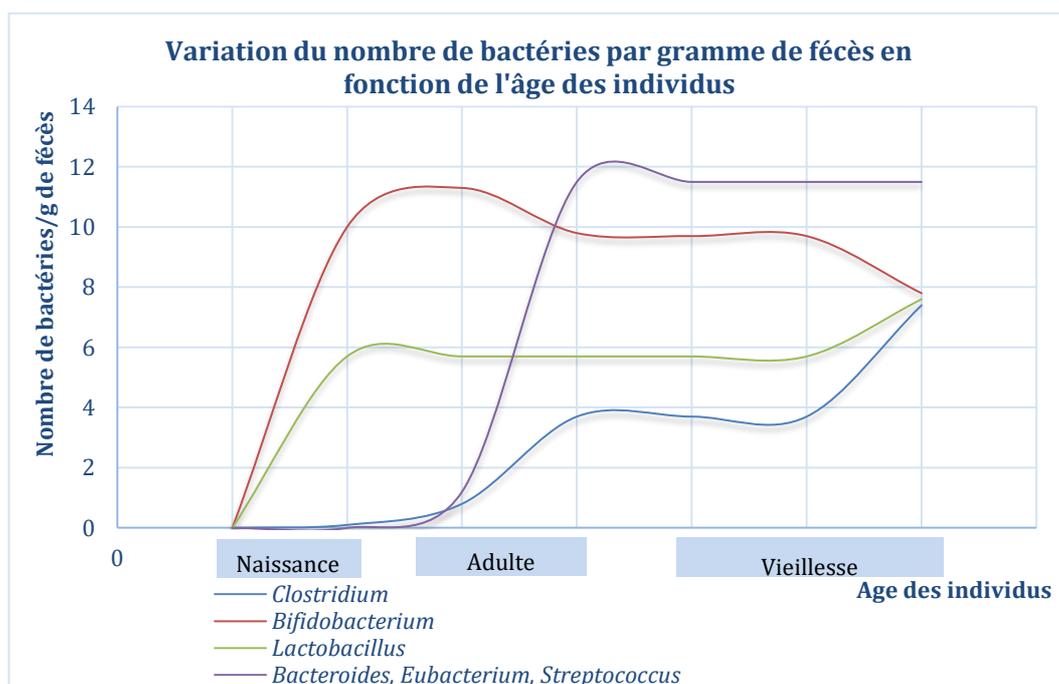


Figure 4 Variation des populations bactériennes fécales en fonction de l'âge des individus (14)

### iii. Champignons, parasites et virus

La majorité des espèces constituant cette flore sont majoritairement allochtones et ne réside donc pas de manière permanente dans le système intestinal. Cette flore est responsable de l'apparition de certaines pathologies pouvant être fatales, en particulier chez les personnes immunodéprimées. Les techniques utilisées pour caractériser ces microorganismes sont différentes de celles utiles à l'identification bactérienne, notamment à cause de la différence de matériel génétique. Mon travail ne s'attardera pas sur ces colonisateurs de l'appareil intestinal mais leur implication en pathologie nécessite de les présenter en quelques points.

#### **Les espèces fongiques :**

Le « mycobiote » représente l'ensemble des espèces fongiques présentes dans le système digestif. Le genre *Candida* est le genre retrouvé majoritairement dans le système intestinal. C'est un genre commensal pouvant devenir pathogène opportuniste et, bien qu'il soit retrouvé dans la flore de personnes saines, sa prolifération peut amener à l'apparition de nombreuses pathologies pouvant engager le pronostic vital des personnes immunodéprimées. L'espèce la plus fréquemment retrouvée dans le système intestinal est *Candida albicans* mais d'autres espèces de *Candida*, comme *Candida glabrata* et *Candida tropicalis* ont été caractérisées. Le genre *Candida* n'est pas le seul considéré comme commensal. En effet, le genre *Malassezia* et *Saccharomyces cerevisiae* font également partie des colonisateurs permanents du système digestif (11). Dans une moindre mesure, parce qu'ils sont de passage et ne s'établissent pas de façon constante dans l'organisme, on retrouve les genres *Aspergillus*, *Blastomyces* ou *Trichosporon*.

Les espèces fongiques présentes dans le tractus digestif sont impliquées en pathologies notamment car certaines sont productrices de mycotoxines, pouvant déclencher des réactions inflammatoires, et auraient un rôle dans la carcinogenèse. Les problèmes majeurs liés aux infections par des espèces fongiques sont, d'une part, l'augmentation des admissions hospitalières d'un nombre croissant de personnes hébergeant des espèces potentiellement pathogènes (12) et, d'autre part, l'émergence de multiples résistances vis-à-vis de plusieurs antifongiques.

#### **Les virus :**

La majorité des virus présents dans le système intestinal de l'Homme sont des virus capables d'infecter les cellules humaines, d'autres sont des virus endogènes, qui sont des parasites génétiques du génome témoignant d'une infection ancestrale par des rétrovirus ayant réussi à intégrer leur matériel génétique dans celui de l'hôte et d'autres virus sont capables d'infecter différents types d'organismes qui nous habitent. Les virus parviennent dans les intestins suite aux contacts environnementaux, aux contacts avec des animaux ou d'autres personnes. Le virome (les génomes de l'ensemble des virus d'un individu) change rapidement avec le temps suite aux échanges inter-organismes et à travers l'évolution des virus déjà présents. Trois chefs de file se dégagent chez l'Homme, le virome eucaryotique, les éléments viraux endogènes et le virome procaryotique (comprenant à la fois les virus des bactéries et ceux des archées). L'ensemble des membres de la flore virale intestinale influence le phénotype de l'hôte de différentes façons, soit en interagissant avec d'autres colonisateurs intestinaux ou soit en interagissant avec la génétique de l'hôte. L'ensemble de ces interactions exerce des actions importantes sur la santé et les recherches mettent en cause les virus dans plusieurs fonctions physiologiques bénéfiques ou délétères pour l'hôte.

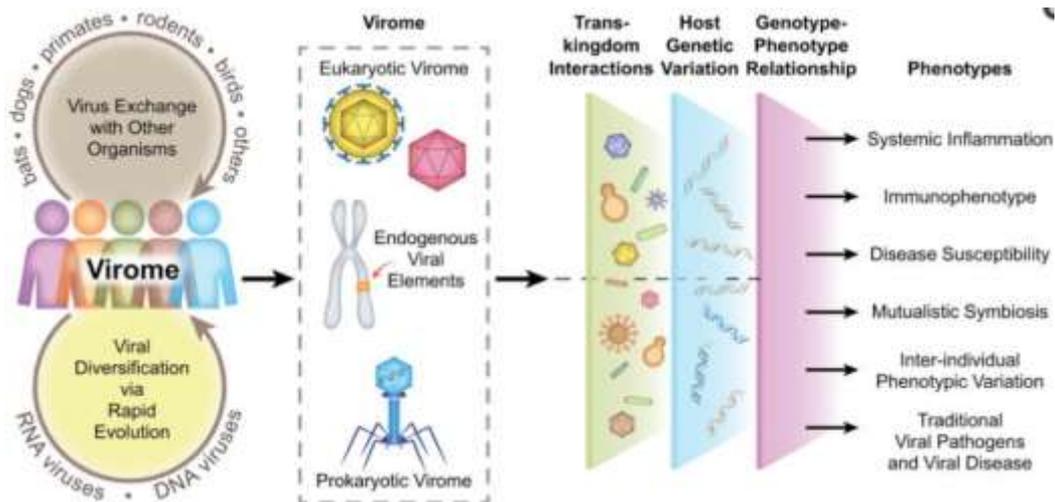


Figure 5 Visualisation des membres du virome et leurs relations avec l'organisme (13)

## Les parasites :

Plusieurs parasites non pathogènes peuvent résider dans le système intestinal et être détectés dans les échantillons de selles. Ces microorganismes peuvent être divisés en deux groupes : les amibes et les flagellés. Parmi les amibes, celles du genre *Entamoeba*, et notamment l'espèce *Entamoeba coli*, sont fréquemment retrouvées dans le gros intestin chez l'Homme (14). *Entamoeba coli* est considérée non-pathogène, néanmoins, lorsqu'elle colonise une personne celle-ci devient plus susceptible au développement d'infection par d'autres espèces pathogènes. Cette espèce est également souvent confondue avec *Entamoeba histolytica*, une espèce pathogène responsable de la dysenterie amibienne, à cause de leur taille similaire (15). Une autre espèce d'*Entamoeba* retrouvée dans le colon, largement confondue avec la forme *minuta* d'*Entamoeba histolytica*, est *Entamoeba dispar*. Bien qu'*E. dispar* soit considérée comme non-pathogène, des lésions intestinales et une destruction des cellules épithéliales ont été reportés dans certains cas (16). La colonisation de patients par d'autres espèces d'*Entamoeba*, comme *Entamoeba hartmanni* ou *Entamoeba polecki*, ont également été décrites (17). Différentes amibes viennent compléter ce réservoir de parasites, comme *Endolimax nana* et *Iodamoeba bütschlii*.

Parmi les flagellés, *Trichomonas hominis* est considéré comme un saprophyte de la lumière colique que l'on peut retrouver de manière ubiquitaire dans les selles. Cependant, il semble parfois impliqué dans des colites et des entérocolites et peut être identifié dans des selles diarrhéiques (18).

### b. Analyse de la flore et méthodes d'études :

#### i. Analyse culturale :

En partant des travaux de Pasteur qui ont ouvert la voie au principe de vie microbienne sans oxygène, les améliorations techniques permettant l'étude de la microflore intestinale ont continués de se développer. Les premiers travaux furent réalisés sur des échantillons de prélèvement fécal, qui étaient ensuite mis en culture sur des boîtes de Pétri. Mais seules les espèces cultivables tolérantes vis-à-vis de l'oxygène étaient susceptibles d'être identifiées. Et, comme on l'a vu précédemment, la flore dominante est constituée de bactéries essentiellement anaérobies. Ce type d'approche était donc biaisé. Ce n'est que dans les années

1970 que la microbiologie digestive s'est développée. En effet, grâce à Hungate et Freter, la culture en anaérobiose est devenue un concept que l'on est parvenu à maîtriser. Pour se faire, Hungate a envoyé, stérilement et par un flux constant, du CO<sub>2</sub> sur des milieux simulant au mieux l'environnement digestif (19) (pH, potentiel redox, température, ammoniacque, vitamines, ...). Cette technique sera appliquée pour mieux caractériser la microflore. Freter quant à lui, a mis au point une enceinte à atmosphère contrôlée, ou chambre de Freter (Figure 6), permettant la manipulation d'échantillons en absence d'oxygène (20). Ces progrès techniques ont permis l'isolation et l'inventaire d'un grand nombre d'espèces bactériennes.



Figure 6 Chambre à atmosphère contrôlée

Un tableau d'espèces anaérobies cultivables retrouvées fréquemment dans le microbiote intestinal a ainsi pu être établi.

Tableau 3 Composition bactérienne majoritaire de la flore (21)

<b>Genre</b>	<b>Pourcentage total de la flore (moyenne)</b>
<i>Bacteroides</i>	43
<i>Eubacterium</i>	20
<i>Bifidobacterium</i>	8
<i>Peptostreptococcus</i>	6
<i>Ruminococcus</i>	6
<i>Fusobacterium</i>	4
<i>Lactobacillus</i>	4
<i>Streptococcus</i>	4
<i>Clostridium</i>	2

Les limites de ces méthodes sont nombreuses et seules les bactéries pour lesquelles l'environnement favorable à leur culture a pu être reproduit en laboratoire ont pu être isolées et caractérisées. Il en va de même pour les espèces qui dépendent de relations étroites avec d'autres microorganismes ou celles nécessitant des apports nutritionnels compliqués à satisfaire *in vitro* qui auront toujours échappés à leur culture et, de surcroît, à leur identification. Citons par exemple les *Desulfovibrio* ou les méthanogènes : leur présence était détectée suite à l'analyse du méthane présent dans l'air expiré, mais leur culture n'a pu se faire qu'après avoir mis en place des méthodes de culture en atmosphère pressurisée à 2 bars, sous H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, conditions nécessaires au développement de ces espèces anaérobies et chimiolithotrophes (22).

Le fait de devoir pratiquer la culture *in vitro* conduit toujours à sous-estimer le nombre de colonies bactériennes, malgré les progrès effectués sur la simulation du système digestif. En 1974, l'estimation de la fraction cultivable était de 93% (23). Ce chiffre est passé à 25% en 1999 (6). Ainsi, malgré l'apport considérable de ces méthodes de culture et des innovations technologiques les accompagnant, il faut reconnaître leurs limites et la part du non cultivable. Même si la culture anaérobie reste le standard pour la description formelle d'espèces, elle ne s'en retrouve pas moins dépassée par l'émergence des nouvelles méthodes basées sur l'analyse moléculaire.

### ii. Analyse moléculaire :

L'apport de ces méthodes d'études, couplées aux études électrophorétiques, a mené vers une véritable évolution des connaissances sur la microflore digestive. Les caractéristiques de ces méthodes, basées sur l'analyse du gène codant l'ARN ribosomique, ont fait de celles-ci les chefs de file de l'identification bactérienne. L'ARNr 16s est spécifique des bactéries, et des procaryotes en général, au contraire des eucaryotes présentant l'ARNr 18s. C'est pourquoi l'établissement d'une large base de données a pu s'effectuer car l'ADNr 16s et l'ARNr 16S sont présents dans chaque bactérie. Les séquences des gènes codant l'ARNr sont propres à chaque espèce. La détermination du domaine (Bacteria, Archaea, Eucarya...) jusqu'à l'espèce est effectué en analysant la structure primaire de l'ADNr. Différentes stratégies sont utilisées dans l'identification des espèces bactériennes présentes dans l'écosystème digestif. Afin d'avoir une vue globale sur les moyens moléculaire dont nous disposons, voici une figure (Figure 7) permettant de les mettre en évidence.

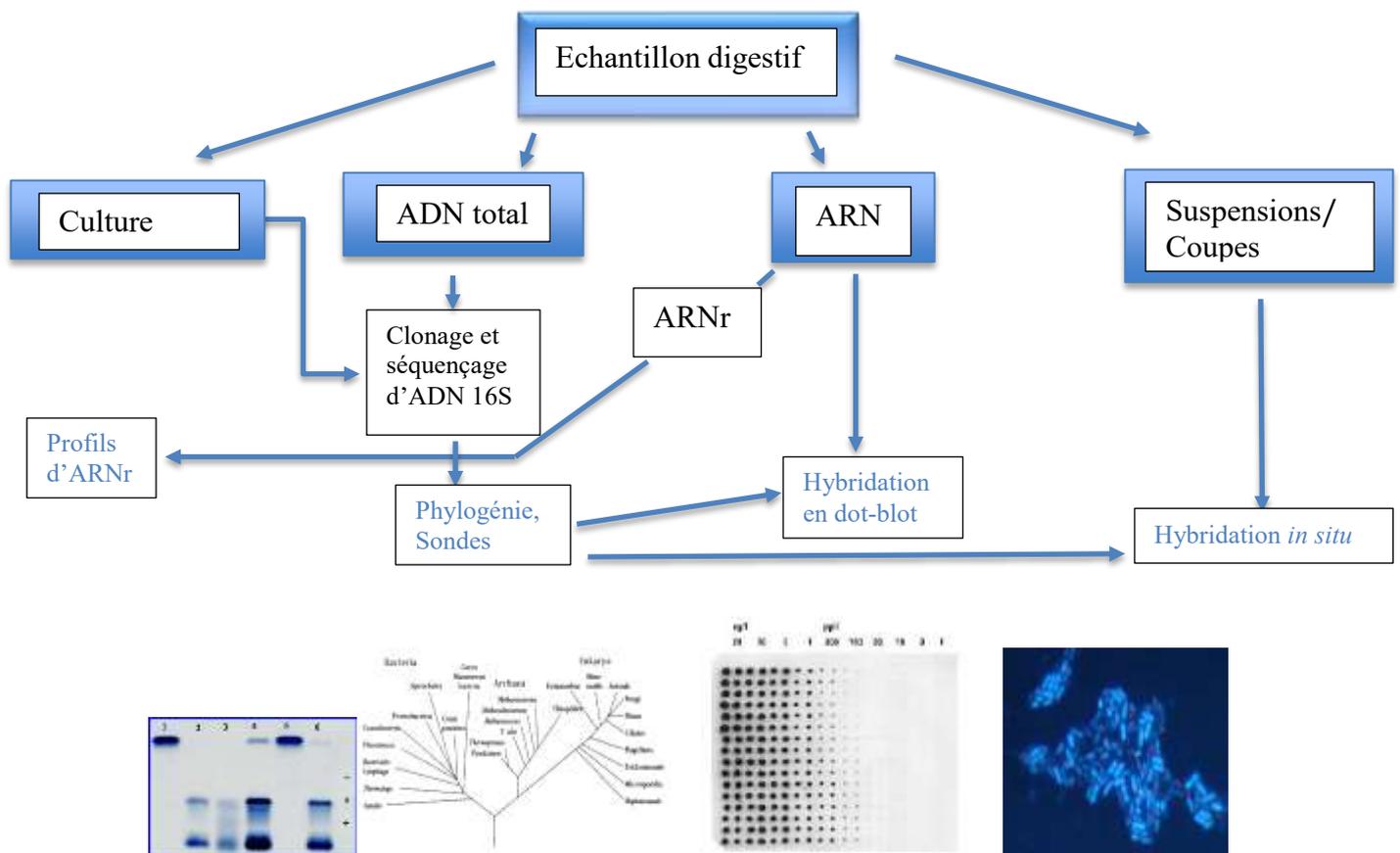


Figure 7 Méthodes d'études de la microflore intestinale (24)

Il est possible de faire une analyse comparative ou phylogénétique des séquences d'ADNr 16S afin de préciser le degré de parenté et de représenter graphiquement (dendrogrammes, etc) les relations naturelles existantes entre des organismes. Pour établir ces liens entre les espèces, on considère que l'appartenance à la même espèce moléculaire est définie par une similarité de séquence d'ADNr 16S supérieure à 99%.

Depuis l'analyse de séquences partielles d'ADNr 16S (25), un grand nombre d'espèces dominantes de la flore fécale a pu être inventoriée (26). L'étude de plus de mille séquences clonées a permis de montrer que :

- ❖ La flore fécale est principalement représentée par trois lignées phylogénétiques : le groupe *Clostridium coccoïdes*, le groupe *Clostridium leptum* et le groupe *Bacteroides-Porphyromonas-Prevotella* ;
- ❖ Chaque flore fécale possède une diversité d'espèces qui lui est propre et présente peu d'espèces en commun avec la flore d'un autre individu ;
- ❖ Des espèces ne faisant pas parties des groupes dominants sont parfois retrouvées fréquemment dans la flore de l'adulte sain comme *Collinsella aerofaciens* ou le genre *Bifidobacterium*.

Cette stratégie d'inventaire apporte une richesse d'informations permettant la constitution d'une large base de données. Il est aussi possible de calculer le nombre moyen d'espèces dominantes de chaque flore fécale. Cependant, des limites existent, telles que celles liées aux biais d'extraction ou d'amplification, il est possible que des espèces soient sous représentées car plus difficile à lyser, processus nécessaire à l'extraction du matériel génétique bactérien. Aussi, ces méthodes ne donnent une représentation que de la flore dominante et ne permettent pas une application sur un grand nombre d'échantillons. Par la suite, l'électrophorèse en gradient dénaturant de température (TGGE) ou chimique (DGGE) a permis de séparer dans un gel des fragments d'ADNr, préalablement obtenus par PCR (Polymerase Chain Reaction) (Figure 8), une technique qui consiste à amplifier de manière exponentielle une séquence d'ADN.

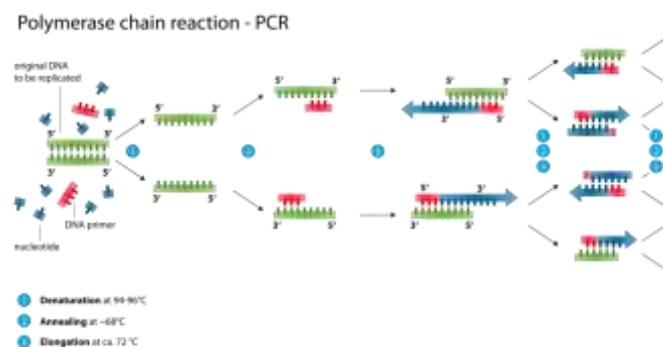


Figure 8 Principe de la PCR (21)

Cette séparation se base sur la dénaturation des séquences internes des fragments, principalement le pourcentage en bases nucléiques C et G. On obtient alors un profil électrophorétique où chaque bande correspond à une espèce dominante de l'écosystème. L'avantage de cette technique est qu'elle est applicable à un grand nombre d'échantillons. Même si l'utilisation de ces méthodes a permis d'établir un large inventaire d'espèces présentes dans l'intestin, une grande partie d'entre-elles reste encore à déterminer. En effet, on estime à 80% le nombre d'espèces identifiées qui n'ont pas de représentant dans les collections de souches actuelles.

### c. Mise en place de la flore intestinale

#### i. Développement chez le nouveau-né

Le système digestif du nouveau-né est stérile. Ce n'est que progressivement que l'écosystème microbien ne s'installe et celui-ci ne devient proche de sa structure mature qu'après plusieurs années. Cette installation se fait suite aux contacts du nouveau-né, puis de l'enfant, avec les différents environnements qui vont l'entourer.

#### 1. Acquisition et chronologie d'implantation

La cinétique de colonisation des microorganismes est un phénomène complexe et malgré les connaissances acquises, ce concept est loin d'être maîtrisé. Dans les conditions normales, ce n'est que lorsque la rupture des membranes fœtales a lieu que la colonisation commence, le nouveau-né se retrouvant alors confronté à un environnement bactérien riche et diversifié. La colonisation s'effectue à partir des flores maternelles intestinales, vaginales, cutanées et des flores de l'environnement. La diversification de sa flore sera due à l'exposition continue à de nouvelles bactéries. Même si cette exposition amène l'enfant à rencontrer de nombreuses bactéries, toutes ne s'implantent pas dans son tube digestif, grâce à l'intervention des mécanismes d'interactions bactéries-hôtes, bactéries-bactéries et aux paramètres de l'environnement intestinal.

Toujours en conditions normales, les premières bactéries arrivant à coloniser le tractus sont les aérobies-anaérobies facultatives, en majorité des staphylocoques, entérocoques et entérobactéries. A ce niveau, le potentiel redox colique est élevé et le développement de bactéries anaérobies strictes y est impossible, ce n'est qu'à la suite de l'action des aérobies-anaérobies facultatives, se retrouvant rapidement en grand nombre, que les anaérobies stricts pourront s'y développer. En effet, la consommation d'oxygène entraîne une diminution de ce potentiel d'oxydo-réduction, permettant l'implantation des bactéries anaérobies comme *Bifidobacterium* durant les premières semaines de vie. A l'inverse, comme l'oxygène diminue, les genres aérobies régressent.

Les bactéries transmises de la mère aux nouveau-nés proviennent surtout de sa flore fécale et non de sa flore vaginale (27). En effet, les nouveau-nés sont davantage colonisés par des entérobactéries et bifidobactéries fécales que par des lactobacilles d'origine vaginale. En parallèle à cette transmission maternelle, la transmission manuportée du personnel médical n'est pas à négliger. Les facteurs bactériens permettant cette implantation restent méconnus. Il a été démontré, sur des souches d'*E. coli*, que certaines pouvaient s'implanter puis rester chez un nouveau-né plus d'un an tandis que d'autres ne s'implantent pas durablement et sont perdues après quelques semaines (28). Les souches résidentes auraient certaines caractéristiques, comme des gènes codant pour des *fimbriae* (Figure 9) ou des hémolysines, qui auraient un rôle dans cette implantation prolongée. On admet que la flore identique à celle de l'adulte s'établit aux alentours de l'âge de deux ans (29).

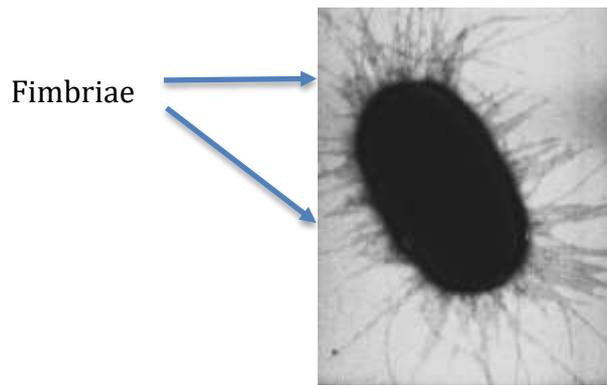


Figure 9 Fimbriae d'*E. coli* (25)

## 2. Importance des facteurs exogènes :

Il existe de nombreux facteurs connus influant sur la cinétique d'implantation et l'acquisition de différentes souches bactériennes. Le facteur le plus étudié est celui de l'alimentation. La microflore du nouveau-né nourri au lait artificiel présente une plus grande diversité que celle du nouveau-né allaité. De plus, l'allaitement favorise l'implantation de bactéries du genre *Bifidobacterium* et de manière parallèle, l'acquisition des entérobactéries est retardée, ou se fait à un moindre niveau (30). Lors de l'introduction de l'alimentation mixte, la flore du nouveau-né allaité tend à ressembler à celle d'un nouveau-né nourri au lait artificiel. Cette différence s'explique par le fait que le lait maternel ne possède pas de pouvoir tampon, entraînant un faible pH colique et donc favorable à l'implantation de bifidobactéries (29). Puis au moment du sevrage, les différences de flore vont en s'atténuant pour atteindre une flore proche de la flore adulte.

Ensuite, les circonstances de l'accouchement jouent également un rôle prépondérant dans la transmission des bactéries au nouveau-né. On a observé que les enfants nés par césarienne rencontrent en premier lieu des bactéries venant principalement de leur environnement, c'est-à-dire du personnel médical et de l'air ambiant, et non de leurs mères. Les premières bactéries à s'implanter sont toujours les espèces anaérobies facultatives, la flore anaérobie stricte apparaît plus tardivement (31) (de l'ordre de quelques mois), surtout les genres *Bacteroides* et *Bifidobacterium*. Cependant, il est bon de noter que des genres anaérobies stricts capables de sporuler comme *Clostridium* ont la capacité de s'implanter rapidement (32).

Le terme de naissance joue également un rôle sur ces paramètres d'implantation. On constate que les enfants prématurés présentent un retard important de colonisation ainsi qu'un nombre plus réduit d'espèces bactériennes. La flore aérobie colonise rapidement le prématuré mais la flore anaérobie démarre avec un retard marqué d'autant plus que l'âge gestationnel est bas (33) (les bifidobactéries apparaissent au bout de 10 jours et ne sont dominantes seulement que vers 2 à 3 semaines de vie). On peut expliquer ce processus par le fait que ces enfants sont souvent nés par césarienne, puis placés dans des milieux aseptisés voire soumis à une antibiothérapie à large spectre.

Une éventuelle antibiothérapie influe aussi sur l'établissement de la microflore. En effet, celle-ci va sélectionner des germes résistants ou tolérants aux antibiotiques ou bien perturber la flore de barrière qui risque d'entraîner une colonisation par des bactéries pathogènes. Une étude a montré que l'antibiothérapie prolongée et à large spectre entraîne une plus forte

colonisation par des entérobactéries résistantes (34). Une autre étude a permis d'observer que 60 à 80% des enfants sujets à une antibiothérapie possédait une flore ne dépassant pas  $10^6$  bactéries par gramme de fèces, contrairement aux enfants non traités, chez qui on retrouvait  $10^7$  bactéries/g (35).

La colonisation intestinale est finalement également influencée par l'environnement. En effet, la microflore d'enfants nés dans des pays développés est différente de ceux nés en dans les pays en voie de développement (36). De même, les enfants nés dans un environnement urbain possèdent une flore différente que celle des enfants nés en milieu rural. Pour finir, les enfants nés à l'hôpital ont une flore qui diffère de ceux nés à domicile.

Parmi les facteurs environnementaux, l'hygiène prend une part non négligeable dans la composition bactérienne de la flore digestive. Une récente étude a révélé que le genre *Bifidobacterium* tardait de plus en plus à s'implanter dans l'environnement intestinal des nouveau-nés (37). En effet, cette étude a montré que seulement 50 % des nouveau-nés réunissant les principaux facteurs favorisant la colonisation de *Bifidobacterium* (voie basse, né à terme, allaitement) contenaient à un mois de vie une moyenne de  $10^3$  bactéries par gramme de fèces. Ce taux pourrait s'expliquer par les conditions d'hygiène, plus strictes de nos jours lors d'un accouchement et réduisant l'exposition du nouveau-né à la flore de sa mère. Les exemples que l'on peut citer sont l'utilisation plus large d'antibiotique ainsi qu'une plus importante rigueur antiseptique.

Les méthodes moléculaires permis d'appuyer ces données d'implantation de la flore. L'hybridation *in situ*, permettant l'identification du genre *Bifidobacterium*, a confirmé que ce genre dominait chez des enfants allaités, contrairement aux enfants nourris au lait artificiel (38). Une autre étude a montré que chez ces enfants nourris au lait artificiel, le groupe des *Coriobacterium* se retrouvait à un taux plus élevé que les enfants allaités, groupe qui aurait un rôle dans certaines pathologies, comme la stéatose hépatique (39).

## ii. Colonisation et répartition

Les méthodes de culture classiques ont démontré que la flore est de plus en plus abondante et diverse au fur et à mesure de la progression de la bouche au colon (Figure 10). La bouche, où chaleur et humidité sont favorables à l'entretien d'espèces bactériennes, présente une densité de bactéries cent fois supérieur à celle de notre peau. La flore y est très complexe, spécifique de la muqueuse, du parodonte et de la plaque dentaire. Dans l'œsophage, on trouve surtout des bactéries provenant des aliments ingérés. Ces deux parties de notre système digestif ne seront pas développées dans mon travail.

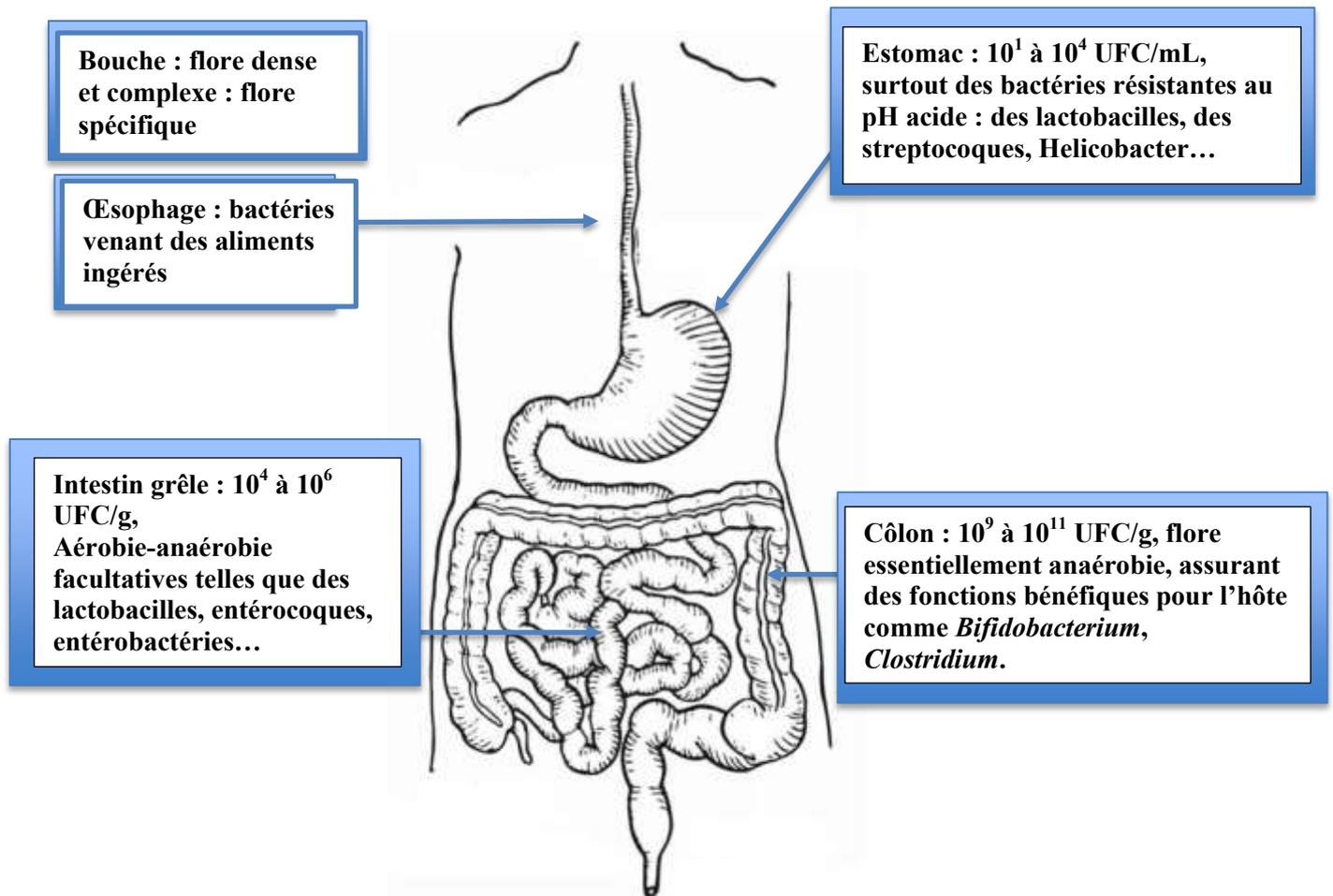


Figure 10 Population bactérienne le long du système digestif (40)

L'estomac est un lieu où le pH acide n'est pas favorable au développement de la majorité des espèces bactériennes. On y retrouve tout de même des lactobacilles, des streptocoques ou des entérobactéries, à hauteur de  $10^1$  à  $10^4$  UFC/mL de contenu gastrique (4). Par opposition, des espèces comme *Helicobacter pylori* trouvent cet environnement tout à fait favorable à leur développement et compose environ 50% des bactéries présentes dans l'estomac. Rappelons qu'environ 80% des ulcères gastro-duodénaux sont la conséquence d'infection par *Helicobacter*.

Au niveau de l'intestin grêle, le pH redevient neutre et l'oxygène se fait de plus en plus rare. Dans le système duodénum-jéjunum, la microflore ne dépasse pas  $10^4$  à  $10^6$  UFC/g de contenu et est essentiellement composée de bactéries aérobie-anaérobie facultatives (des lactobacilles, des streptocoques, etc.), qui correspondent essentiellement à la flore de passage. Arrivé à l'iléon, une flore anaérobie facultative plutôt rare est associée à la flore anaérobie stricte dominante :  $10^5$  à  $10^7$  UFC/g de contenu intestinal (principalement *Bacteroides*). On considère que comme la flore anaérobie n'excède pas  $10^7$  UFC/g, elle n'assurerait pas de fonctions majeures dans cette partie du système digestif, si ce n'est dans des situations pathologiques. Le côlon est la niche écologique de prédilection de nombreuses bactéries. Son importance ne se traduit pas seulement par sa grande densité en espèces bactériennes ( $10^9$  à  $10^{11}$  UFC/g), la flore microbienne qui s'y développe assure également de nombreuses fonctions bénéfiques pour l'hôte. Cette population importante de bactéries s'explique par le

fait que, dans le côlon, le transit est beaucoup plus ralenti et le potentiel redox y est très bas. C'est dans cette seule partie du système digestif que la colonisation est permanente, colonisation effectuée alors par une flore résidente. Enfin, dans les fèces, où la flore a été le mieux étudiée, on trouve de  $10^9$  à  $10^{11}$  UFC/g de selles.

Ces grandes quantités et cette diversité bactériennes présentes dans l'organisme ont amenés certains auteurs à considérer la microflore comme un organe à part entière car elle exerce sur l'hôte de nombreuses fonctions nécessaires et bénéfiques pour celui-ci.

## II. Rôles physiologiques de la flore intestinale : interactions hôtes-bactéries

### a. Relations entre microflore et épithélium digestif :

L'épithélium digestif est une structure dynamique ayant un fort pouvoir de renouvellement cellulaire. A titre de comparaison, la surface de l'épithélium de l'intestin grêle représente à elle seule l'aire de deux terrains de tennis. Il est important de souligner que seule l'épaisseur d'un entérocyte ou d'un colonocyte, dans l'intestin grêle ou côlon, respectivement, et de la lame basale, sépare l'intérieur de notre organisme de la lumière du tube digestif et donc du monde extérieur.

#### i. Histologie :

Dans le système intestinal se trouvent les villosités intestinales (Figure 11), sorte de replis, couvrant la muqueuse et permettant d'augmenter la surface et donc la capacité d'absorption des intestins. Au niveau des villosités, on retrouve de nombreuses irrégularités. En effet, on y retrouve des « bosses », qui sont en fait les microvillosités des entérocytes et des « fosses », appelées cryptes de Lieberkühn (Figure 12). Ces modifications structurelles de l'épithélium permettent d'augmenter sa surface d'absorption d'un facteur dix. En tenant compte des plica, qui quant à eux permettent de multiplier par trois la surface, on obtient une surface multipliée par trente, sans encore tenir compte des microvillosités, que nous verrons un peu plus tard.



Figure 11 : Villosités au niveau de la muqueuse intestinale (41)

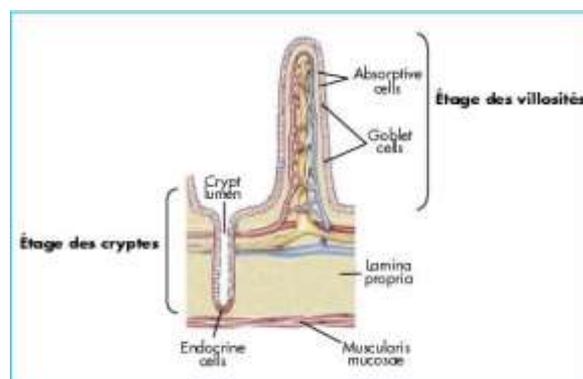


Figure 12 Crypte et villosité de la muqueuse intestinale (36)

L'épithélium digestif, du grêle au gros intestin, s'organise de façon très structurée et très hiérarchisée. Les cellules différenciées sont polarisées, avec une organisation cellulaire asymétrique constituée de pôles basolatéral et apical bien distincts. Ces pôles se distinguent par leurs matériels protéiques spécifiques, comme par exemple les transporteurs ioniques.

Si l'on observe les villosités, on remarque deux grands types de cellules (Figure 13) :

- ❖ Les cellules épithéliales, entérocytes ou colonocytes, qui sont des cellules spécialisées dans la réabsorption.
- ❖ Les cellules caliciformes, également dénommées « goblet cells », qui ont un rôle dans la production d'un mucus protecteur.



Figure 13 Visualisation des villosités intestinales

Tout le long de la surface de l'intestin (grêle et côlon) sont disséminées des zones constituées de plusieurs (5 à 200) cellules et appelées plaque de Peyer. Des cellules appelées « M » sont aussi présentes de manière peu fréquente mais régulière. Ces différentes cellules jouent un rôle primordial dans la transmission d'informations au système immunitaire en présentant des antigènes aux lymphocytes naïfs répartis à la base de l'épithélium intestinal, ce qui conduit à la production d'anticorps spécifiques de ces antigènes. Ces éléments fondamentaux seront davantage abordés dans la partie traitant le lien entre l'immunité et le système digestif.

Au fond des cryptes (Figure 14) se trouvent quatre types différents de cellules :

- ❖ Les cellules souches, par définition indifférenciées, sont présentes dans la zone proliférative où elles se divisent (mitose) avant de migrer dans la partie supérieure de la fosse où leur différenciation en cellules spécialisées a lieu. La durée du cycle de renouvellement cellulaire est estimée entre 36 et 96h.
- ❖ Les cellules dites endocrines, qui produisent des hormones libérées au niveau de leur pôle basal (dans le sang, et non dans la lumière intestinale). Citons par exemple la somatostatine ou la sécrétine.
- ❖ Les cellules de Paneth, possédant de nombreuses fonctions physiologiques fondamentales.
- ❖ Les cellules caliciformes, de même type que celles présentes au niveau des villosités.

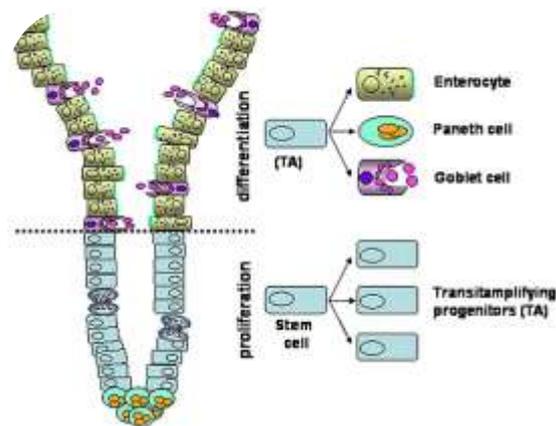


Figure 14 Crypte de Lieberkühn (37)

Nous allons maintenant approfondir les fonctions et rôles physiologiques de chaque type cellulaire, afin de comprendre l'importance de notre système intestinal.

### Les cellules épithéliales (entérocytes et colonocytes) :

Tout d'abord, les cellules épithéliales font office de barrière mécanique vis-à-vis du contenu intestinal. Cette barrière est maintenue grâce aux jonctions serrées (Figure 15) qui permettent d'assurer l'étanchéité nécessaire pour éviter la rentrée de macromolécules indésirables dans notre organisme ou la fuite d'éléments indispensables à l'organisme. Au pôle apical des entérocytes, se trouve les microvillosités, qui permettent d'augmenter plus encore la surface totale.

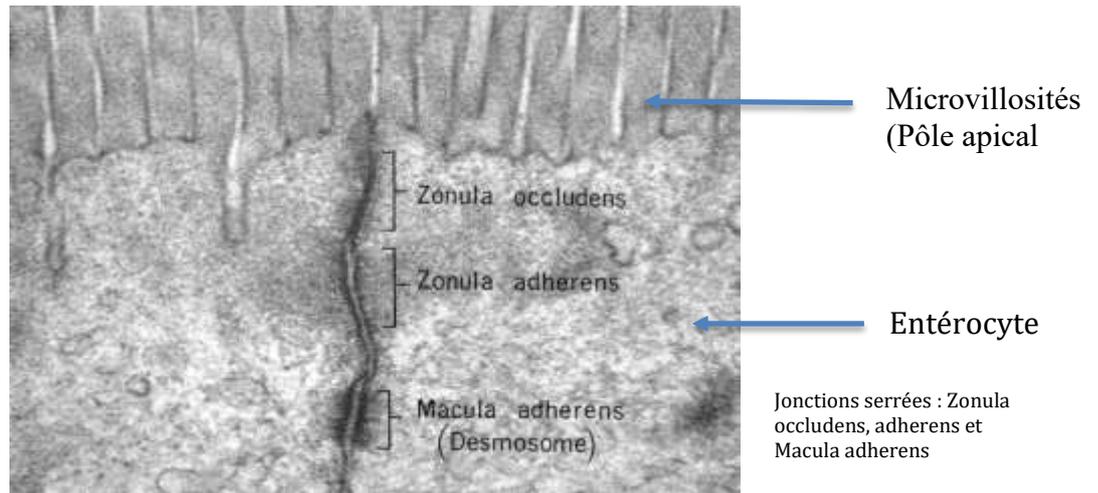


Figure 15 Jonctions serrées entre entérocytes

Parallèlement, à l'aide de transporteurs et de nombreuses enzymes situés dans les microvillosités, ces cellules réabsorbent des micronutriments nécessaires à notre survie. On trouve au niveau des pôles apical et basal de ces cellules plusieurs transporteurs permettant les échanges ioniques, notamment l'absorption de  $\text{Na}^+$  et de  $\text{Cl}^-$  grâce à des antiports  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  et  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ . Ces deux fonctions fondamentales des cellules épithéliales impliquent leur parfaite intégrité. Lorsque celle-ci se trouve perturbée, on parle de « leaky gut syndrom », symptôme que l'on étudiera plus tard. Des récepteurs qui permettent d'identifier des antigènes, notamment bactériens, se situent également sur ces cellules. Ils permettent la distinction entre les espèces pouvant être pathogènes et la flore commensale. Ces récepteurs, appelés Toll-like Receptors (42), sont surtout présents au niveau des monocytes et cellules dendritiques (43). On reviendra également sur ce point dans la partie traitant l'immunité.

Les cellules épithéliales de notre système digestif servent aussi dans la synthèse et la sécrétion d'immunoglobulines sIgA, molécules responsables de la protection des muqueuses (44). Elles modifient les IgA dimériques fabriquées par les plasmocytes en IgA sécrétoires, qui sont les seules capables de faire face à la protéolyse par des enzymes bactériennes ou digestives. De plus, ces sIgA modulent la prolifération de la flore commensale et favorisent l'homéostasie de celles-ci, soulignant encore plus leur importance (45). Une expérience a montré que l'inoculation à des souris axéniques (souris dont l'intestin est stérile) de *Bacteroides thetaiotaomicron* multipliait d'un facteur 10 le nombre de récepteurs aux IgA (46). Les entérocytes modulent donc l'expression de certains gènes impliqués dans des fonctions intestinales, en fonction de l'absence ou de la présence de bactéries commensales.

Des peptides antimicrobiens, dénommés  $\beta$ -défensines, sont également produits par nos cellules épithéliales (47). Ces molécules permettent d'éviter l'infection de la muqueuse qui est confrontée de façon permanente aux microorganismes (48). C'est un mécanisme majeur de l'immunité innée largement conservé dans l'évolution. La production de cytokines pro-inflammatoires a aussi été montrée, particulièrement la production d'interleukine (IL) 6, IL-7, IL-8 et de  $\text{TNF}\alpha$  (49). Ces cytokines sont des facteurs puissants de la régulation des lymphocytes de la muqueuse intestinale. Inversement, on trouve des récepteurs à différentes cytokines sur les entérocytes (50), tels que le récepteur à l'IL-2, l'IL-4 ou l'IL-7, mettant en évidence les échanges d'informations complexes entre cellules intestinales et lymphocytes T (51). On reviendra là aussi sur ce point d'immunologie dans le prochain chapitre.

## Les cellules caliciformes :

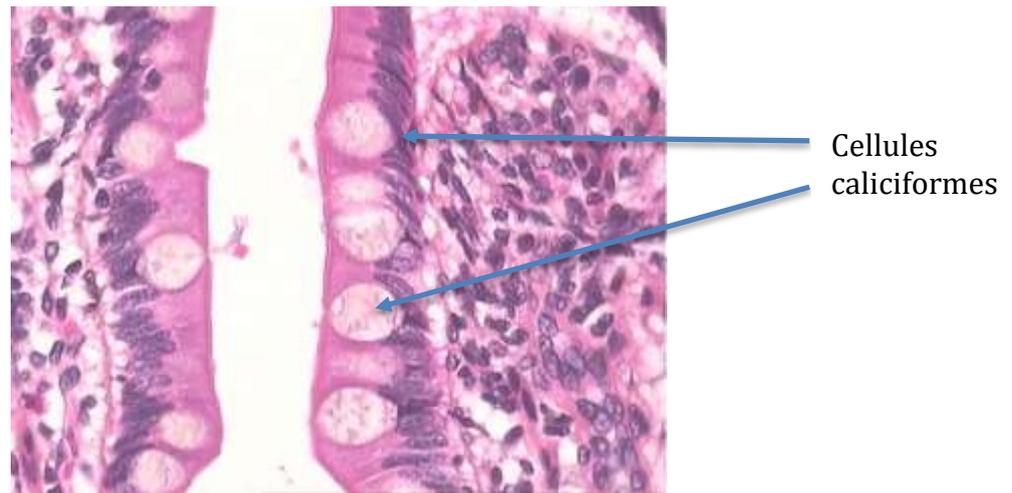


Figure 16 Coupe d'intestin grêle

Encore appelées « goblet cells » à cause de leur aspect, les cellules caliciformes (Figure 16) sont à l'origine de la couche de mucus servant à protéger l'intestin. Cette couche adhère aux entérocytes grâce à son ancrage sur le glycocalyx, tapis oligosaccharidique présent au pôle apical. Hormis son rôle de protection envers diverses agressions, le mucus a aussi un rôle lubrifiant important durant la digestion et sert également de vecteur entre le revêtement intestinal et le contenu intestinal (52). D'un point de vue quantitatif et qualitatif, la production de mucus est influencée par l'agression d'espèces pathogènes. Citons par exemple la toxine cholérique de *Vibrio cholerae*, qui induit une stimulation de l'exocytose des mucines englobées dans les granules (53). Inversement, *Clostridium difficile* diminue les défenses de l'hôte en entraînant une baisse de la production de mucus, par l'intermédiaire de sa toxine A (54). Un lien entre la présence des bactéries commensales et la production de mucus a aussi été établi. En effet, chez des souris axéniques, les cellules caliciformes sont en nombre plus réduit et de taille plus petite (55). Chez des rats gnotobiotiques (rats dont la flore ne comprend qu'une espèce bactérienne) l'inoculation de nouvelles bactéries change la composition des mucines dans le mucus (56).

La dernière particularité des cellules caliciformes que nous aborderons est la production de protéines : les peptides en forme de trèfle. Ils tiennent leur nom de leur structure secondaire qui forme trois boucles stables, reliées par trois ponts disulfures (57). Ces protéines, de leur vrai nom pS2, SP et ITF, possèdent une haute résistance à la protéolyse, ce qui leur permet de rester fonctionnellement et structurellement intacts au contact de protéases. Elles permettent alors de protéger la muqueuse intestinale vis-à-vis de certaines toxines bactériennes, de certains xénobiotiques et même de certains médicaments qui créent des lésions sur la muqueuse (58). En effet, les peptides en forme de trèfle permettent de réparer ces lésions. D'autre part, une synergie a été constatée entre l'action protectrice de ces protéines et celle du mucus. Une autre action protectrice de ces peptides a été mise en évidence. En effet, elles protègent des lésions et favorisent leur réparation. Ce rôle est surtout attribuable au peptide ITF (Intestinal Trefoil Factor). Il apparaît que ces peptides exercent également ces rôles au niveau gastrique et au niveau des voies respiratoires.

## Les cellules de Paneth :

Contrairement aux cellules indifférenciées, les cellules de Paneth (Figure 17) se différencient vers le fond des cryptes, où elles sont retrouvées en grande quantité. Ce sont de grandes cellules, avec une durée de vie moyenne d'environ vingt jours, remplies de granules qui contiennent de nombreux peptides (59).

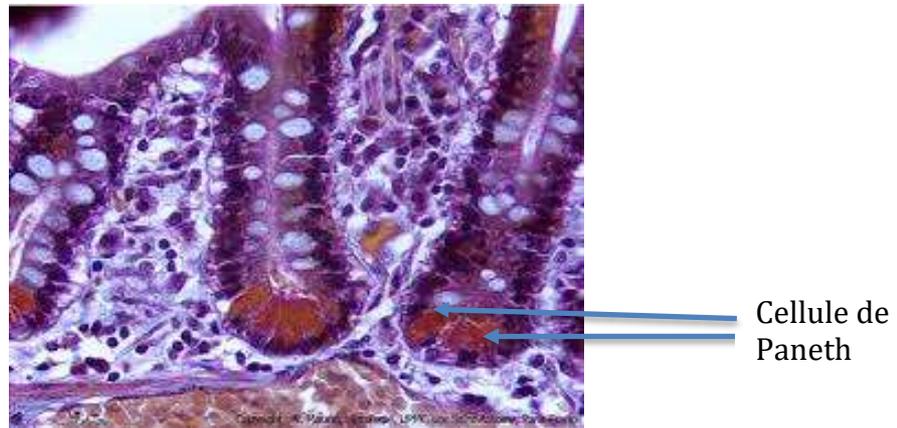


Figure 17 Cellule de Paneth dans la crypte intestinale

Les cellules de Paneth jouent un rôle majeur dans la réponse aux antigènes bactériens. Elles déversent, proportionnellement au nombre de bactéries détectées, des peptides antimicrobiens comme des  $\alpha$ -défensines, également appelées cryptidines (60). Les granules contiennent aussi du lysozyme ainsi qu'une phospholipase A2 sécrétoire, qui sont des enzymes ayant également des propriétés antimicrobiennes puissantes (61). Des métalloprotéinases comme la matrilysine sont aussi retrouvées dans les granules. Cette molécule permet l'activation des précurseurs de la cryptidine. Les cellules de Paneth sont stimulées par des antigènes bactériens spécifiques, tels que les lipopolysaccharides ou l'acide lipotéichoïque. La libération du contenu des granules est rapide et dose dépendante. Les cellules de Paneth influent donc la composition bactérienne au niveau des cryptes, mais jouent également un rôle sur le micro-environnement les entourant : elles régulent l'angiogenèse intestinale avec l'aide des bactéries commensales (on reviendra sur ce rôle majeur), elles stimulent le largage d'ions chlorure par les cellules épithéliales et ont une influence sur la fréquence des mitoses des cellules souches (62). Dès lors, on comprend aisément leur importance.

Un autre point non négligeable est la relation entre ces cellules et la maladie de Crohn. On sait que le gène NOD2 est un facteur familial de cette maladie inflammatoire. Or, une étude a montré que le gène NOD2 est le plus fortement exprimé dans les cellules de Paneth au niveau de l'iléon (63). Les cellules de Paneth apparaissent alors comme ayant un rôle critique dans la genèse de cette maladie.

## Les cellules souches :

On sait depuis la fin du 20<sup>e</sup> siècle que les cellules différenciées de l'épithélium intestinal proviennent d'un même précurseur cellulaire (64) Dans ces travaux, les cellules souches ont été mises en évidence suite à l'incorporation de thymidine tritiée et ont été découvertes dans la partie profonde des cryptes. Rappelons que les cellules souches sont des cellules

indifférenciées dotées d'un pouvoir de prolifération et ayant la capacité de se maintenir en nombre constant. Ce sont aussi des cellules pluripotentes qui permettent d'obtenir les types cellulaires différenciés constituant l'épithélium. Enfin, elles possèdent un pouvoir de régénération favorisant la régénération de l'épithélium s'il est agressé. On ne connaît pas exactement le nombre de cellules souches présentes dans les cryptes, mais, chez un hôte sain, celui-ci est stationnaire. Ce phénomène s'expliquerait par la division asymétrique (Figure 18) : sur les deux cellules filles que donnera une cellule mère, l'une se dirigera vers la différenciation et l'autre restera en tant que cellule souche (65).

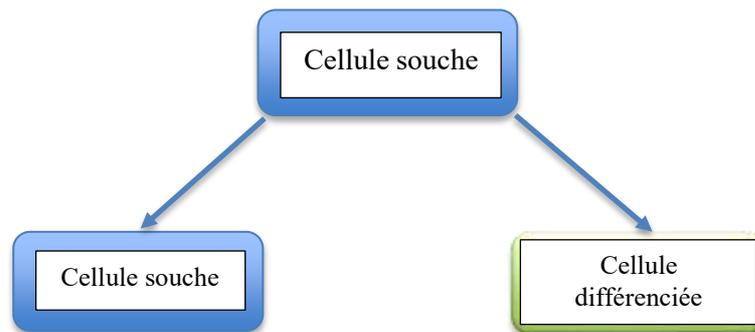


Figure 18 Principe de la division asymétrique

Une meilleure connaissance de ces cellules souches est essentielle car de possibles altérations génétiques touchant les cellules mères sont transmises aux cellules filles. Les phénomènes de transmission de ces altérations ont été étudiés et une équipe de chercheur a travaillé sur deux populations de cellules mères contenant ou non le gène codant la  $\beta$ -galactosidase, un marqueur aisément identifiable (66). Les résultats ont montré deux populations de cellules filles qui étaient positives ou négatives à l'expression de la  $\beta$ -galactosidase. On ne retrouvait jamais une population de cellules filles « mélangées », simplement une seule population.

#### ii. Effets de la flore et des métabolites bactériens sur l'épithélium :

Afin d'étudier l'effet de la flore sur l'épithélium intestinal, il est nécessaire d'utiliser un modèle d'étude pertinent pour directement étudier ces interactions. Pour se faire, les chercheurs ont utilisés des modèles animaux à flore contrôlée. Les animaux sont qualifiés d'axéniques lorsque leur intestin est dépourvu de flore, de gnotobiotiques ou gnotoxéniques, lorsqu'ils ont été inoculés par une ou plusieurs souches bactériennes connues (67). Pour obtenir des animaux axéniques, des utérus de femelles gravides sont introduits dans des isolateurs puis la descendance obtenue est élevée sur plusieurs générations en isolateurs. Ces animaux pourront ensuite être manipulés pour obtenir des animaux gnotoxéniques.

#### Structure et renouvellement de l'épithélium :

Chez l'animal axénique, la structure de l'épithélium et son renouvellement sont perturbés. En effet, chez celui-ci, on remarque une forte hypoplasie de la muqueuse. Une diminution du nombre de cellules par crypte d'environ 20% est constatée et leur production journalière est ralentie par rapport aux animaux conventionnels (53). La durée du cycle cellulaire est allongée chez l'animal axénique, avec une moyenne de 66h (50h chez l'animal conventionnel). Afin de comprendre ce ralentissement du renouvellement de l'épithélium, des chercheurs ont administrés chez ces animaux axéniques des AGCC (acides gras à chaînes

courtes) qui sont des substrats préférentiels de ces cellules épithéliales et qui sont normalement naturellement produits par des bactéries intestinales. Leurs résultats montrent une stimulation de la prolifération des cellules de la crypte en présence de ces AGCC, particulièrement le butyrate (Figure 19), reflétant leur rôle essentiel dans le renouvellement de l'épithélium colique (68).

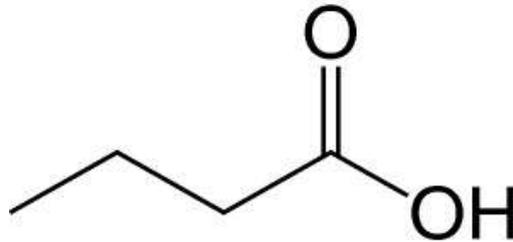


Figure 19 Acide butyrique

Une autre étude a été réalisée sur la métabolisation de différents substrats chez les animaux conventionnels ou non. La capacité de métabolisation du butyrate est bien conservée chez les animaux axéniques, mais il apparaît une diminution de la production des corps cétoniques. De même, on retrouve une plus faible expression d'une enzyme impliquée dans la cétogenèse colique, l'HMG-CoA synthase mitochondriale (69). Ainsi, les capacités métaboliques des colonocytes chez les rats axéniques sont diminuées.

Une souche bactérienne productrice de butyrate, *Clostridium paraputrificum*, a été inoculée chez des animaux axéniques. Suite à cette inoculation, on a retrouvé chez ces souris une activité de l'HMG-CoA synthase mitochondriale égale à celle retrouvée chez les animaux conventionnels. Inversement, une souche bactérienne non productrice de butyrate a été inoculée chez des animaux axéniques et l'expression de l'HMG-CoA n'est pas améliorée. Le butyrate est donc capable de moduler l'activité d'une enzyme de son métabolisme marquant l'importance des réactions métaboliques au niveau bactérien (69).

En revanche, l'utilisation de la glutamine provenant de l'alimentation se voit augmenter chez les animaux axéniques, ce qui est vraisemblablement dû à une augmentation de l'activité de la glutaminase dans ces cellules. Il a été suggéré que cette hausse de l'activité soit liée à une augmentation des ARNm responsables de cette enzyme et que la glutamine est utilisée comme moyen compensateur si les AGCC ne sont pas présents. Pourtant, ce rôle compensateur de la glutamine ne permet pas d'améliorer le renouvellement de l'épithélium, traduisant le fait que la biodisponibilité de celle-ci n'est pas suffisante pour favoriser ce renouvellement (70).

### Symbiose entre flore et épithélium intestinal :

Les entérocytes sont producteurs de glycoconjugués fucosylés, utilisés comme marqueur de maturation intestinale. Ces molécules sont également utilisées par la flore comme nutriments ou même comme cibles pour certaines adhésines d'origine bactériennes. Les glycoconjugués fucosylés apparaissent donc comme des marqueurs de choix pour l'étude des interactions hôte-bactéries (71). Ces études ont permis de montrer des interactions dynamiques entre flore et épithélium, et ces interactions permettraient à quelques bactéries d'induire la transformation de leur environnement afin de le rendre plus favorable à leur installation.

Chez l'animal conventionnel, les glycoconjugués fucosylés apparaissent dans les villosités et dans les cryptes des entérocytes de la partie distale du grêle, entre le 17<sup>ème</sup> et le 21<sup>ème</sup> jour de vie postnatale (72). Ensuite, l'expression de ces molécules se généralise chez l'ensemble des entérocytes et se maintient durant au moins toute la première année de vie. En revanche, chez l'animal axénique, c'est le contraire. Même si les glycoconjugués sont soumis aux étapes précoces de leur production, à partir du 21<sup>ème</sup> jour, leur production s'atténue pour disparaître complètement. Mais, si l'on inocule une flore de souris conventionnelle à ces animaux axéniques, la production reprend et atteint des valeurs normales. Ce phénomène est lié à la stimulation de l'activité  $\alpha$  1,2-fucosyltransférase, une enzyme entrant dans la synthèse des glycoconjugués.

Pour aller plus loin dans la compréhension de ces mécanismes, le rôle de *Bacteroides thetaiotaomicron*, présente dans la flore intestinale, a été étudié. Deux souches de cette bactérie ont été sélectionnées : l'une capable de métaboliser des glucides, dont le fucose, et l'autre incapable de procéder à cette métabolisation (73). L'inoculation à des animaux axéniques de la première souche a permis de restaurer les capacités de production des glycoconjugués. Au contraire, les animaux axéniques chez lesquels la souche incapable de métaboliser les glucides a été inoculée, on ne retrouve pas d'induction de la production des glycoconjugués. Cela suggère alors l'existence d'un lien entre l'utilisation de fucose par les bactéries et l'induction de la production des glycoconjugués chez l'hôte. Les chercheurs ont continué à travailler sur différentes souches mutantes de *Bacteroides thetaiotaomicron* et certains mécanismes jouant sur ces interactions ont été mis en lumière (Figure 20)(24). Ainsi, la protéine bactérienne FucR serait responsable de la coordination entre les enzymes spécifiques du métabolisme du fucose et une molécule « signal » transmise à l'hôte concernant la production de glycoconjugués. Si le fucose est présent, FucR se voit inhiber, l'activité des enzymes du métabolisme du fucose est augmentée tandis que celle de la molécule « signal » est réprimée. Si au contraire, le fucose est absent, FucR atténue l'activité des enzymes de métabolisation et stimule l'activité de la molécule « signal ». Ainsi, selon la présence ou non de fucose disponible chez l'hôte, FucR sera capable de contrôler la production entérocytaire des glycoconjugués tout en régulant le métabolisme bactérien.

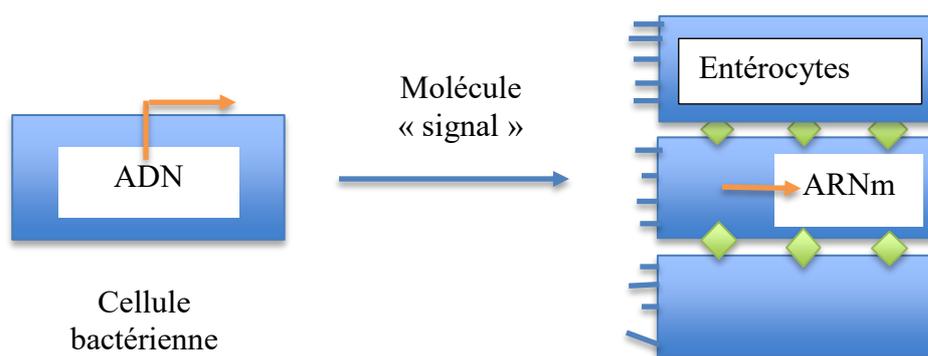


Figure 20 Communication entre les bactéries et les cellules épithéliales

### Effets des métabolites bactériens :

Les substrats utilisés par les bactéries sont des composés faisant parti des glucides, des protides et des lipides. Seule une faible proportion des lipides ingérés arrive jusqu'au côlon, et ne représente pas la part majoritaire des substrats disponibles. Les protéines arrivent en

deuxième position, car c'est bien les composés de nature glucidique qui font office de substrat préférentiel. La fermentation de l'amidon et des polyosides végétaux amène vers la production de gaz mais surtout d'AGCC (acétate, propionate et butyrate). Les protéines quant à elle conduisent vers une production d'AGCC, d'acides gras à chaîne ramifiée (isovalérate, isobutyrate) et de molécules azotées (ammoniaque, polyamines, composés phénoliques). Enfin, la métabolisation de la très faible part d'acides gras arrivant au côlon donne des composés toxiques pour l'organisme (acides gras hydroxylés). La flore est capable d'utiliser d'autres voies de métabolisation développées plus loin dans ce propos. Finalement, la concentration en métabolites disponibles pour les bactéries dépend énormément de la composition de l'alimentation ingérée par l'hôte et de la flore microbienne. Pour citer un exemple, l'absence de fibres non fermentescibles diminue la vitesse de transit et le volume fécal, entraînant une augmentation des métabolites, dont ceux toxiques, vis-à-vis de l'épithélium colique.

### **Le butyrate :**

Parmi les métabolites bactériens, citons à nouveau le butyrate, véritable substrat essentiel pour l'épithélium colique. Dans l'environnement colique, le butyrate est retrouvé sous sa forme dissociée anionique, configuration l'empêchant de rentrer dans le compartiment cellulaire. Plusieurs transporteurs spécifiques ont été découverts, notamment le récepteur MCT1 dont le rôle serait prépondérant. Fait notable, ce récepteur a été largement rencontré dans les cellules de l'épithélium, mais pas dans celles du fond des cryptes. De plus, le butyrate régule positivement le fonctionnement de ce récepteur (74). Afin de rendre compte de l'utilisation privilégiée du butyrate comme source énergétique par l'épithélium colique, une étude a montré que son métabolisme représente 70 à 80% de la consommation d'oxygène, les 20 à 30 % restants étant apportés par les autres AGCC, le glucose et la glutamine sanguine. Le butyrate réduit l'oxydation de ces métabolites, cependant la production de CO<sub>2</sub> et la consommation d'oxygène due au métabolisme du butyrate ne se retrouve pas impactée par les autres nutriments.

C'est dans la mitochondrie que se déroule le métabolisme du butyrate (Figure 21)(75). En effet, il a été retrouvé dans le système mitochondrial deux enzymes activatrices des AGCC, l'une spécifique au butyrate et une pour les autres AGCC. Cela démontre encore une fois l'utilisation préférentielle du butyrate par rapport aux autres nutriments. On retrouve donc les carbones du butyrate sous forme de CO<sub>2</sub> mais aussi sous forme d'acéto-acétate et de  $\beta$ -hydroxybutyrate, qui sont des corps cétoniques, traduisant le rôle de précurseur majoritaire du butyrate concernant la cétogenèse dans les colonocytes.

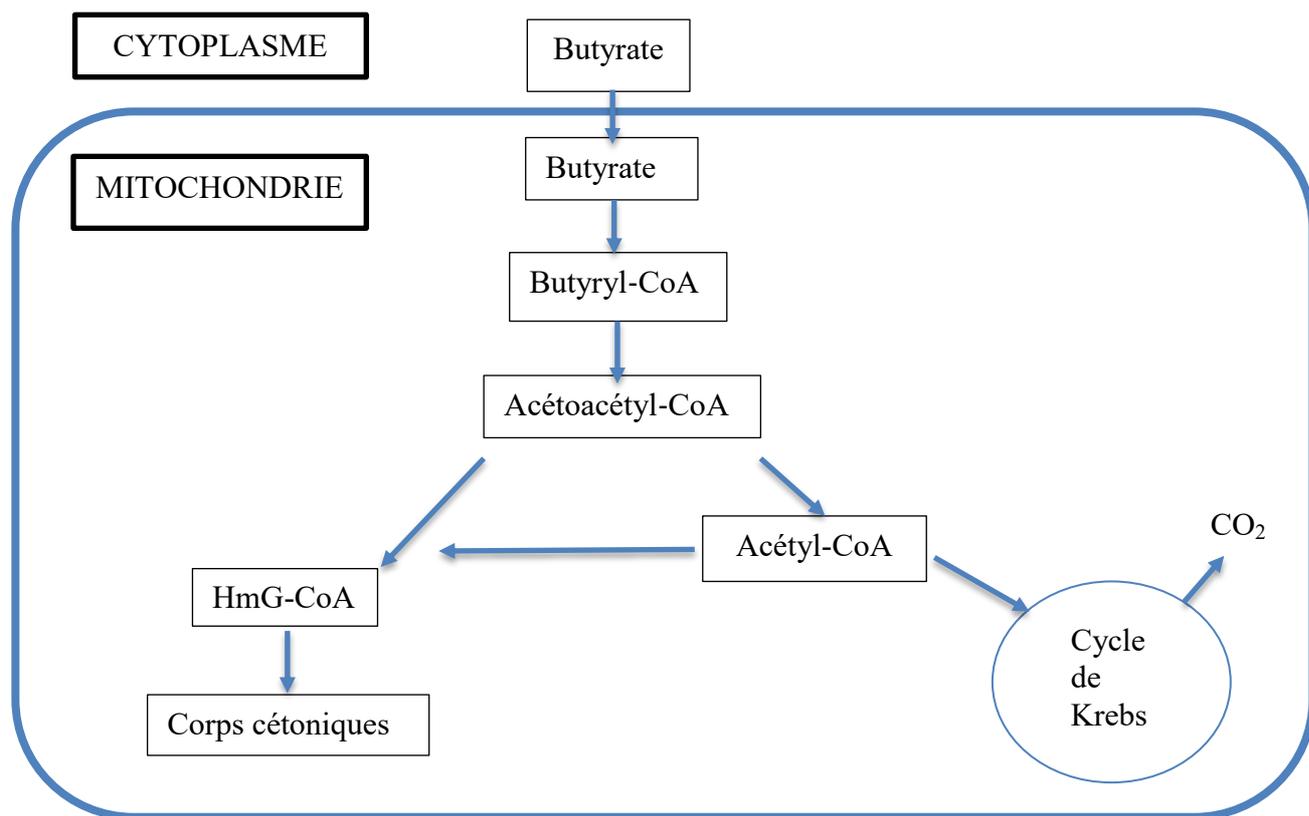


Figure 21 Devenir du butyrate dans la mitochondrie

D'autres recherches menées sur le rôle du butyrate dans la prolifération des colonocytes en sont venues aux conclusions, qu'*in vivo*, le butyrate possède un effet trophique au niveau de la muqueuse colique, favorise le renouvellement de l'épithélium colique (76) et possède également un pouvoir d'inhibition sur la prolifération des cellules tumorales coliques (77). En effet, des infusions au niveau colique de butyrate ou d'autres AGCC à doses physiologiques ou supra-physiologiques permettent de corriger l'atrophie de la muqueuse. Une équipe de chercheur a montré une hausse de la synthèse d'ADN et des index mitotiques au niveau des parties de l'épithélium colique exposées aux infusions, mais aussi dans des parties non exposées (78). De même, l'absence de butyrate augmente l'expression d'une protéine pro-apoptose, la protéine Bax, et induit l'apoptose dans l'épithélium colique testé. En revanche, cet effet est supprimé si des concentrations physiologiques de butyrate sont restaurées (79). Le butyrate *in vitro* et *in vivo* permet donc d'inhiber la prolifération cellulaire, et son utilisation dans le traitement de certains cancers colorectaux est à envisager selon une équipe de chercheurs ayant étudié les réponses cellulaires de cellules cancéreuses suite à l'utilisation d'AGCC (80).

Le mécanisme d'inhibition de la prolifération cellulaire par le butyrate semble être associée à un blocage de cellules en phase G1, phase du cycle cellulaire contrôlée à la fois par les cyclines D et par les kinases dépendantes des cyclines, cdk-4 et cdk-6 (81). Le butyrate favorise l'expression de p21<sup>Cip1</sup>, inhibiteur du complexe cycline-cdk, et induit fortement l'expression de la cycline D3, protéine équipière des cdk-4 et cdk-6 (82). En cas d'absence d'expression de la protéine p21<sup>Cip1</sup>, au lieu de s'accumuler en phase G1, les cellules s'accumulent en G2/M, le passage en apoptose devenant en conséquence plus fréquent (Figure 22).

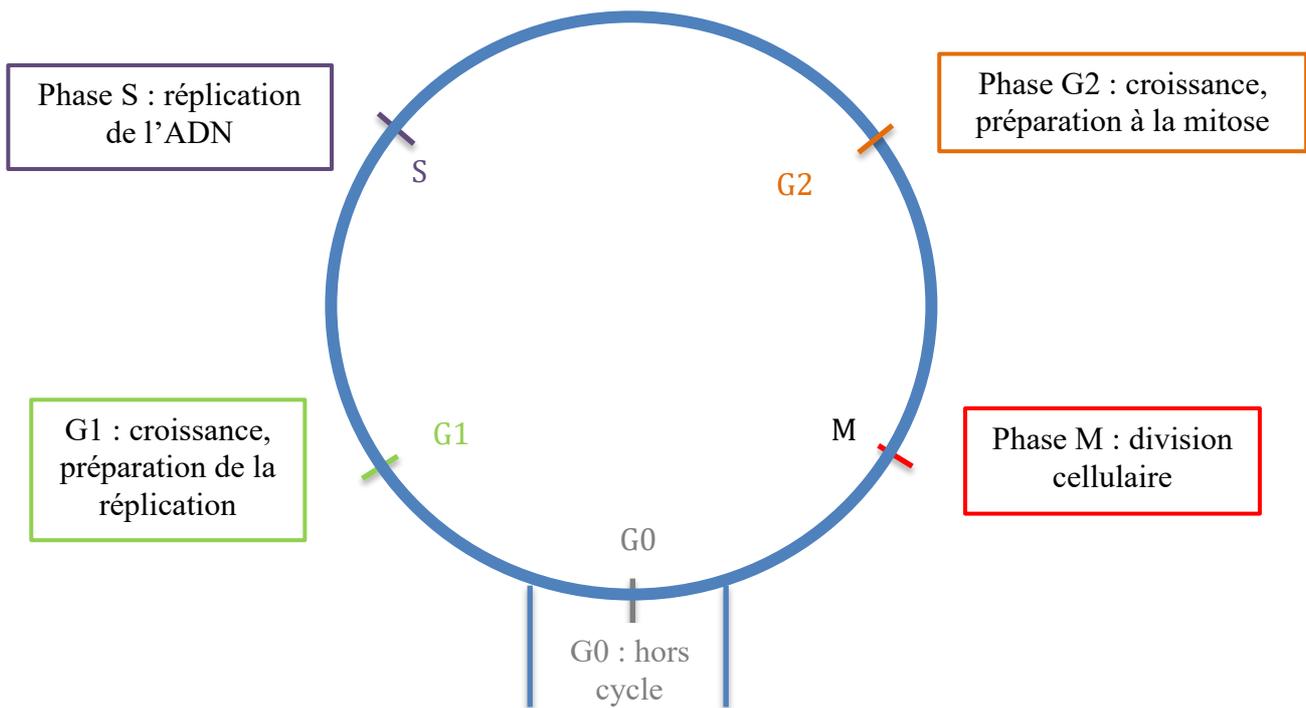


Figure 22 Le cycle cellulaire

Les AGCC, particulièrement le butyrate, sont véritablement essentiels au niveau colique : c'est une source d'énergie pour les cellules et ils sont aussi modulateurs de l'expression de plusieurs gènes. Néanmoins, d'autres travaux portés sur des traitements à base d'AGCC ont publié des résultats contradictoires, c'est pourquoi le consensus sur le butyrate de nos jours est que ce métabolite, source énergétique préférentielle, ne permet d'augmenter la prolifération des cellules seulement là où un déficit énergétique prévaut.

### L'ammoniac bactérien :

Autre métabolite nous intéressant : l'ammoniac bactérien, produit majoritairement par la fermentation caecale et colique des acides aminés et des acides nucléiques, est capable d'atteindre de fortes concentrations (60-70mM). Après son absorption au niveau colique simplement couplée à un flux de protons, l'ammoniaque se voit transformer en urée dans le foie. Il faut savoir que l'ammoniac est toxique pour l'épithélium intestinal car il diminue la demi-vie des cellules et perturbe la synthèse d'ADN. Une équipe de chercheurs a montré que l'infusion d'ammoniac au niveau colique provoque une hausse de la prolifération cellulaire, sans pour autant modifier la taille des cryptes (83), soulignant l'hypothèse que l'ammoniac est un stimulateur de l'élimination des colonocytes. On a aussi observé que l'ammoniac utilisé à la concentration de 10mM diminue l'utilisation cellulaire du butyrate en amont de l'étape génératrice d'acétyl-CoA et que la glycolyse est augmentée.

### Le sulfure d'hydrogène :

Un autre métabolite bactérien agressif vis-à-vis de l'épithélium est le sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) que l'on peut détecter dans l'intestin en concentration élevée (0,2 à 2 mM). Cette molécule provient soit du métabolisme des bactéries sulfato-réductrices, résumé à une

réaction de réduction des sulfates, soit d'amines soufrés (méthionine et cystéine) et certains additifs conduisant à la formation d'H<sub>2</sub>S. Le sulfure peut aussi provenir du soufre des mucines. La toxicité de cette molécule est connue. Le sulfure d'hydrogène agit sur la respiration cellulaire par un phénomène puissant d'inhibition de la cytochrome c-oxydase, enzyme intervenant dans la chaîne de transfert des électrons. Une grande concentration d'H<sub>2</sub>S est toxique pour l'épithélium, mais si ces concentrations ne dépassent pas les micromoles, le sulfure d'hydrogène est capable d'améliorer la respiration cellulaire, de procurer de l'énergie aux cellules et aux mitochondries pour les détoxifier (84). Un déséquilibre de la flore qui entraînerait une production accrue d'H<sub>2</sub>S serait donc responsable d'effets nocifs sur l'épithélium intestinal. La mise en évidence de cette toxicité a été illustrée par des travaux montrant l'inhibition de la β-oxydation mitochondriale suivant l'ajout de H<sub>2</sub>S (85). Il en résultait une oxydation diminuée du butyrate couplée à une accumulation d'acyl-CoA. Des moyens de défense vis-à-vis d'H<sub>2</sub>S, comme sa méthylation, existent et l'hypothèse que le sulfure d'hydrogène soit en partie responsable de la rectocolite hémorragique a été évoquée. Malheureusement, les traitements mis en place à base de lavements au butyrate n'ont rien donné de positif.

### **Les polyamines :**

Par ailleurs, les polyamines de type putrescine, spermidine et spermine, également produits du métabolisme bactérien mais aussi issus de l'alimentation et d'une synthèse endogène, permettent de maintenir l'homéostasie au niveau colique car, leur concentration intracellulaire est fortement liée à la croissance des cellules épithéliales. En effet, une baisse de leurs concentrations intracellulaires inhibe, *in vivo* et *in vitro*, la croissance de ces cellules. Les polyamines agissent sur le cycle cellulaire et favorisent la prolifération des cellules intestinales (86). On remarque que durant les phases G1 et S du cycle, les polyamines voient leurs concentrations augmentées et une baisse notable de polyamines conduit à un blocage en G1. Inversement, une hausse des polyamines amène les cellules vers l'apoptose, mais cette susceptibilité est modulable s'il s'en suit une forte diminution des polyamines. Les polyamines interagissent également avec l'ADN, le stabilisant et permettant sa condensation, favorisant des changements de conformations de certaines séquences. Ils ont aussi une action sur certains facteurs de transcription et sur certaines polymérases. Pour finir, les polyamines seraient des stabilisateurs des membranes cellulaires, en agissant à la fois sur leur fluidité et comme protecteur en tant qu'antioxydant (87).

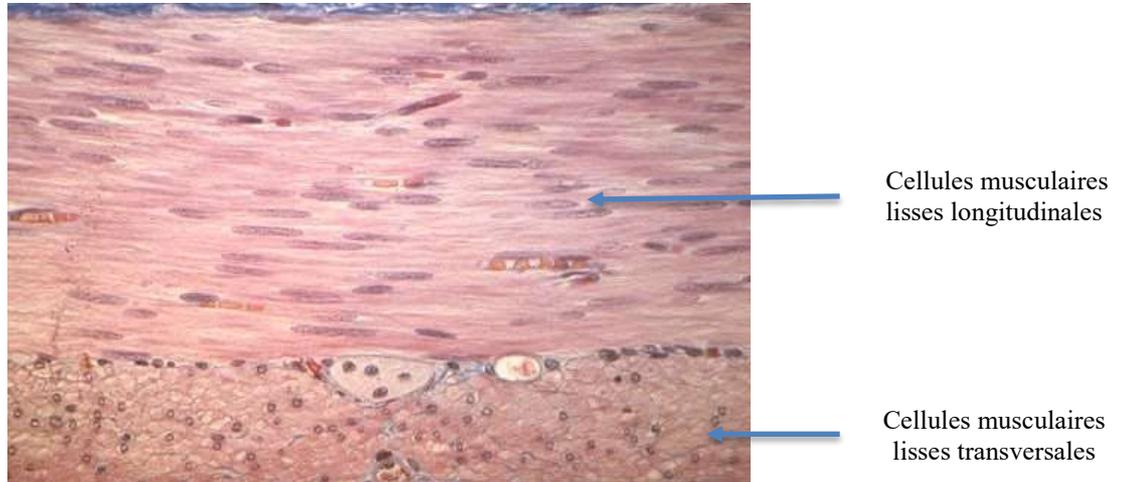
Pour conclure ce mini-chapitre sur les métabolites bactériens, rappelons que ces exemples montrent leurs actions sur les diverses cibles de l'épithélium colique et que ces interrelations ne doivent pas être négligées.

### *iii. Effets de la motricité colique sur la microflore et vice versa*

La motricité colique normale est faible, permettant un brassage prolongé et la progression lente du contenu colique, favorisant alors son absorption. Grâce à cette vitesse relativement lente, de nombreuses espèces bactériennes peuvent s'implanter et se développer dans l'intestin ce qu'il leur permet d'assurer certains rôles.

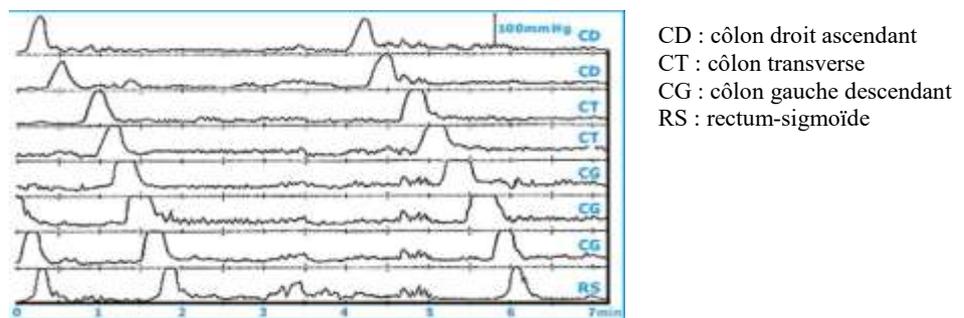
### *La motricité colique normale :*

En conditions normales, les cellules musculaires lisses (Figure 23) du côlon (et chaque segment intestinal) génèrent deux types d'activité motrice : l'activité tonique et l'activité phasique (88).



*Figure 23 Coupe de la paroi intestinale*

Deux techniques sont utilisées pour mesurer l'activité phasique : l'électromyographie ou la manométrie (Figure 24). Ces techniques d'enregistrement ont permis de montrer que la motricité colique est irrégulière, se traduisant par des contractions basales de faible amplitude (moins de 60 mmHg) et qu'elle n'est pas propagée. Durant le sommeil ou les périodes de jeûne, cette activité faible permet le brassage et la stagnation du contenu colique (89). En revanche, le réveil et les repas augmente l'activité colique, davantage localisée dans le côlon distal que dans le côlon proximal (90). On remarque aussi des CPGA, des Contractions Physiques de Grande Amplitude (plus de 100 mmHg). Ces CPGA, essentiellement retrouvées lors du réveil ou en période post-prandiale, se propagent rapidement, sur de grandes distances, dans le sens oral-aboral.



*Figure 24 Enregistrement manométrique de deux séquences de CPGA (91)*

L'activité tonique, elle, est mesurable à l'aide du barostat électronique, un système qui permet de maintenir une pression constante à l'intérieur d'un ballonnet intra-luminal rempli d'air. Comme l'activité phasique, le repas déclenche une contraction diffuse, et la nuit, le tonus

diminue (92). Ce tonus reste malgré tout mal connu. Il serait en partie responsable, par ses variations, de la fonction réservoir du côlon.

En plus de préserver le contenu colique, une des nouvelles méthodes utilisées pour mesurer la motricité colique permet d'étudier plus aisément les relations flore et motricité. Une sonde est introduite par voie orale puis progressivement amenée dans le système digestif jusqu'à son expulsion au niveau anal. Il est alors possible d'étudier l'activité tonique et phasique dans un segment du tube digestif ou dans sa totalité. Cependant, cette méthode est longue, elle représente environ 4 jours d'immobilisation pour les volontaires avec un taux d'échec conséquent. D'autres méthodes de mesure de la motricité, pouvant être utilisées sans modifier la flore colique, existent, tels que la scintigraphie intestinale segmentaire, méthode mesurant le temps de transit entre le moment d'ingestion d'aliments et l'apparition des selles au niveau du caecum, ou l'ingestion de pellets radio-opaques (Figure 25).



*Figure 25 Mise en évidence de pellets radio-opaques le long du tube digestif*

### **Effet de la motricité colique sur la microflore :**

A ce jour, peu de travaux ont permis de mettre en lumière que la modification de la motricité colique, étudiée par l'utilisation d'agent pharmacologique, soit précisément responsable de perturbation de la flore. En revanche, deux molécules bien connues, le loperamide, un anti-diarrhéique qui ralentit le transit intestinal et le cisapride, antagoniste des récepteurs à la sérotonine et accélérateur du transit intestinal, engendreraient des modifications de la flore, sans qu'on n'en connaisse les mécanismes précis (93). Ainsi, cette étude sur 3 populations bactériennes, les bactéries anaérobies, les sulfato-réductrices et les méthanogènes, le loperamide diminue les concentrations fécales de butyrate et propionate, augmente le pH fécal et l'excrétion d'hydrogène dans les gaz expirés. Les effets du cisapride sont strictement opposés. Le loperamide entraîne un ralentissement du transit, augmentant alors la concentration fécale de bactéries méthanogènes et diminuant celle des bactéries sulfato-réductrices. Là encore, l'effet contraire est retrouvé pour le cisapride. La population des bactéries anaérobies n'est globalement pas affectée par ces changements de cinétique.

## Effet de la microflore sur la motricité colique :

Les effets de la flore colique sont difficiles à étudier, de par la densité en microorganismes mais également par la grande difficulté à implanter dans le temps une souche bactérienne facilement identifiable.

Une équipe a montré que le polyéthylène glycol (PEG), agent connu pour diminuer temporairement la flore, entraîne une variation des paramètres de l'activité phasique (90). Leurs résultats faisaient ressortir que l'activité motrice basale n'était pas perturbée par la prise de PEG mais les CPGA, en revanche, se retrouvaient significativement augmentés. Cette analyse laisse suggérer que la flore agit directement ou non sur la motricité, par les réactions de fermentation.

Des lactobacilles ou des bifidobactéries ont été utilisées pour comprendre ce phénomène de la flore sur la motricité colique, mais les résultats sont discordants. La première étude, portée sur *Bifidobacterium longum*, a démontré que cette espèce n'influait pas le temps de transit (94). Puis, une autre étude a montré que *Propionibacterium freudenreichii*, bactéries de certains fromages, augmentait le temps de transit dans le côlon gauche, mais n'influait en rien le temps de transit colique global et droit (95). Plus récemment, une étude a montré qu'une souche de *Bifidobacterium animalis* diminuait le temps de transit colique global et le temps de transit sigmoïdien (96). Malgré leur significativité, ces variations du transit restent sans conséquences établies pour le traitement de patients atteints d'un ralentissement du transit. En effet, l'ingestion de prébiotiques comme l'inuline, favorisant le développement de bifidobactéries, ne rétablissent pas un temps de transit colique normal (97). D'autre part, les fibres digestibles ou non, tels que les mucilages ou la cellulose, qui sont connues pour leurs propriétés laxatives et qui augmentent la masse bactérienne dans les selles, ne modifient pas la motricité colique phasique (98). Le lactulose, un sucre fermentescible et non absorbable, est utilisé dans le traitement de certaines constipations. Les métabolites bactériens issus des réactions fermentaires du lactulose ont également été utilisés dans des travaux sur la motricité colique. Les résultats des travaux assurent que les métabolites bactériens produits dans les réactions fermentaires respectives concourent à la régulation de la motricité.

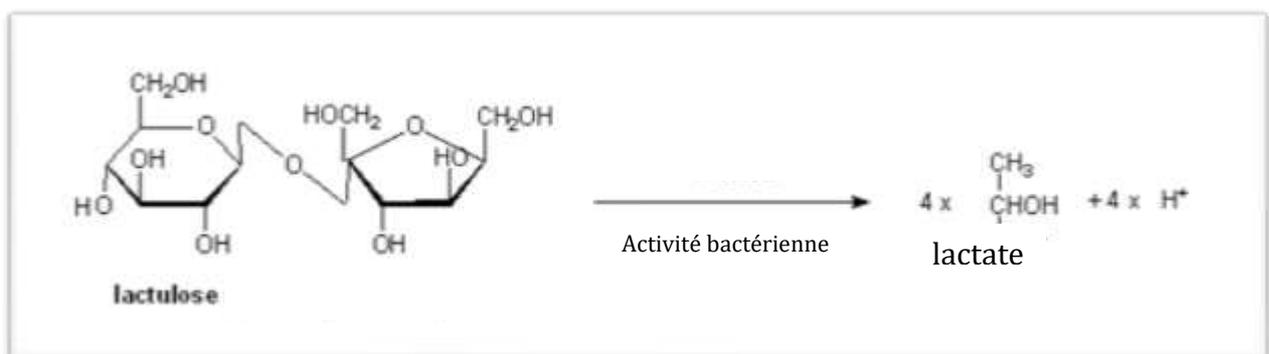


Figure 26 Fermentation bactérienne du lactulose

Lorsque le lactulose arrive dans le côlon, celui-ci se voit rapidement transformé en AGCC et en lactate (99) (Figure 25). La scintigraphie a montré que le lactulose accélérât le transit, notamment par une hausse de la vidange du côlon ascendant. Ingéré à une dose de 15 g, le lactulose fait apparaître une contraction tonique du côlon droit et plusieurs ondes de

contractions irrégulières, peu ou pas diffuses (100). L'hypothèse que cet effet moteur soit la conséquence de l'osmolarité du produit fut émise, mais rapidement réfutée. En effet, l'ingestion de macrogol, de même osmolarité mais non fermentescibles, n'agit pas sur la motricité colique. Ces événements moteurs apparaissent rapidement, dès le début de la fermentation, comme le suggère le test respiratoire à l'hydrogène. Ce test est simplement basé sur la mesure dans les gaz expirés de l'hydrogène produit par la réaction de fermentation du lactulose. Enfin, la fermentation colique du lactulose relâche transitoirement le sphincter inférieur de l'œsophage, ayant un rôle prépondérant la physiopathologie du reflux gastro-œsophagien. Ces résultats soulignent le rôle non négligeable des métabolites bactériens sur la motricité colique.

D'autres études se sont portées sur l'amidon. La perfusion intracolique de 15 g d'amidon, sucre mal absorbé s'il n'a pas subi l'action d'amylase salivaire ou pancréatiques, entraîne une hausse de CPGA mais respecte le tonus colique (101). Ce nouvel effet moteur de l'amidon s'expliquerait par une réaction de fermentation différente du lactulose, les produits de cette réaction étant principalement le propionate et le butyrate. Cependant, les mécanismes responsables de ces effets restent mal connus. La perfusion intracolique d'AGCC en quantité équivalente à la fermentation de 15 g d'amidon, chez des sujets sains, n'agissait ni sur le tonus, ni sur l'activité phasique (102). Chez le rat, en revanche, la perfusion intracolique de hautes doses d'AGCC abaisse la motricité colique et accélère le temps de transit colique (103). L'augmentation du neuropeptide YY, couplée à l'abolition de ces effets suite à une anesthésie locale, suggère une stimulation de phénomènes nerveux, réactifs à la présence d'AGCC. En amont, les AGCC jouent également un rôle sur la motricité. Au niveau de l'iléon, ceux-ci entraînent une contraction tonique et phasique dont la fonction serait d'empêcher l'implantation de bactéries de l'intestinal terminal durant les reflux cæco-iléaux (104).

#### *b. Multiples fonctions de la flore :*

La flore intestinale de l'Homme est responsable d'effets divers et essentiels. Pasteur l'écrivait, « sans bactéries, pas de vies ». La métabolisation de certains substrats ou encore leur rôle de barrière physiologique contre des espèces bactériennes nuisibles sont désormais des fonctions bien connues que l'on va détailler.

##### *i. Les substrats disponibles :*

Deux catégories de substrats sont disponibles pour les bactéries présentes dans l'écosystème intestinal (Figure 27). Les substrats endogènes, synthétisés par l'hôte et les substrats exogènes, provenant de l'alimentation. La diversité de ces sources de carbone et d'énergie serait responsable de l'énorme diversité microbienne présente dans le système intestinal. Les voies de métabolisation de ces substrats amènent à la production de composés, toxiques ou non, constituant l'écosystème intestinal.

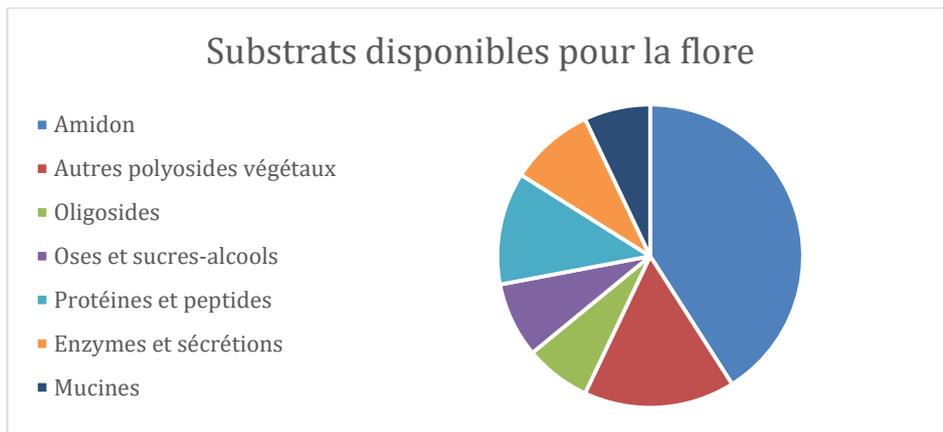


Figure 27 Substrats endogènes et exogènes disponibles pour la flore intestinale

### Les substrats exogènes :

Ces substrats sont essentiellement issus de l'alimentation, et sont surtout des glucides non digérés dans la première partie du tube digestif, contrairement aux protéines qui sont quasiment absorbées en totalité au niveau de l'intestin grêle. Les chefs de files de ces glucides sont l'amidon et les polysides végétaux (paroi cellulaire). Certains oses et oligosides sont aussi présents. On considère que 10% de l'amidon ingéré fuit la digestion dans l'intestin grêle et arrive alors au niveau du côlon (8 à 40 g par jour). Les polysides sont surtout des glucides insolubles tels que la cellulose, l'hémicellulose et les pectines. D'autres polysides comme l'inuline, les mucilages et gommes sont utilisés par les bactéries et ont également un rôle de prébiotique, chapitre que l'on verra plus loin. Les changements alimentaires imputables à l'industrie agro-alimentaire (utilisation de ces composés comme émulsifiant, agents de textures...) ont augmenté les apports de ces polymères, de l'ordre de 8 à 20 g par jour. Pour finir, des oligosides, des oses et des sucre-alcools tels que les fructo-oligosaccharides (là encore, utilisés comme prébiotique) contenus dans l'artichaut ou le raffinose contenu dans les haricots sont aussi retrouvés au niveau colique.

### Les substrats endogènes :

Ces substrats proviennent directement de l'hôte : soit depuis la paroi colique, qui donne des mucopolysaccharides ou des mucines, soit depuis l'intestin grêle, apportant quant à lui des stérols biliaires, des enzymes pancréatiques, des mucines ou des cellules épithéliales. Tout d'abord, les mucines, qui sont des glycoprotéines, possèdent une structure peptidique où des chaînes de fucose, galactose, ou autres oses sont greffés. Un exemple bien connu de mucopolysaccharides est l'acide hyaluronique (105). Ensuite, un autre substrat endogène important est représenté par les cellules épithéliales mortes. En effet, le renouvellement épithélial intestinal est très rapide, on comprend alors aisément la prévalence de ces substrats. De même, les enzymes apportées par les sécrétions pancréatiques, surtout des enzymes hydrolytiques, constitue une source majeure d'azote organique utilisable par la flore. Pour terminer, certains stérols, comme le cholestérol ou les acides biliaires, et la bilirubine parviennent à atteindre le côlon.

ii. Métabolisme des substrats disponibles :

La microflore dispose, dans l'environnement intestinal, de nombreux substrats lui permettant d'assurer sa survie. Les produits issus des réactions métaboliques bactériennes sont les métabolites bactériens. Certains, comme le butyrate, dont on a vu plusieurs caractéristiques dans les points précédents, ont des effets bénéfiques pour l'hôte mais, comme nous le verrons, d'autres composés produits sont responsables d'effets délétères sur l'organisme.

### Métabolisme des glucides :

Ce processus complexe implique différentes espèces bactériennes, engageant la diversité et la complémentarité de leurs activités métaboliques qui leurs sont propres. Afin de rendre compte des différents métabolismes, voici un schéma récapitulatif illustrant ces phénomènes (Figure 28) (24).

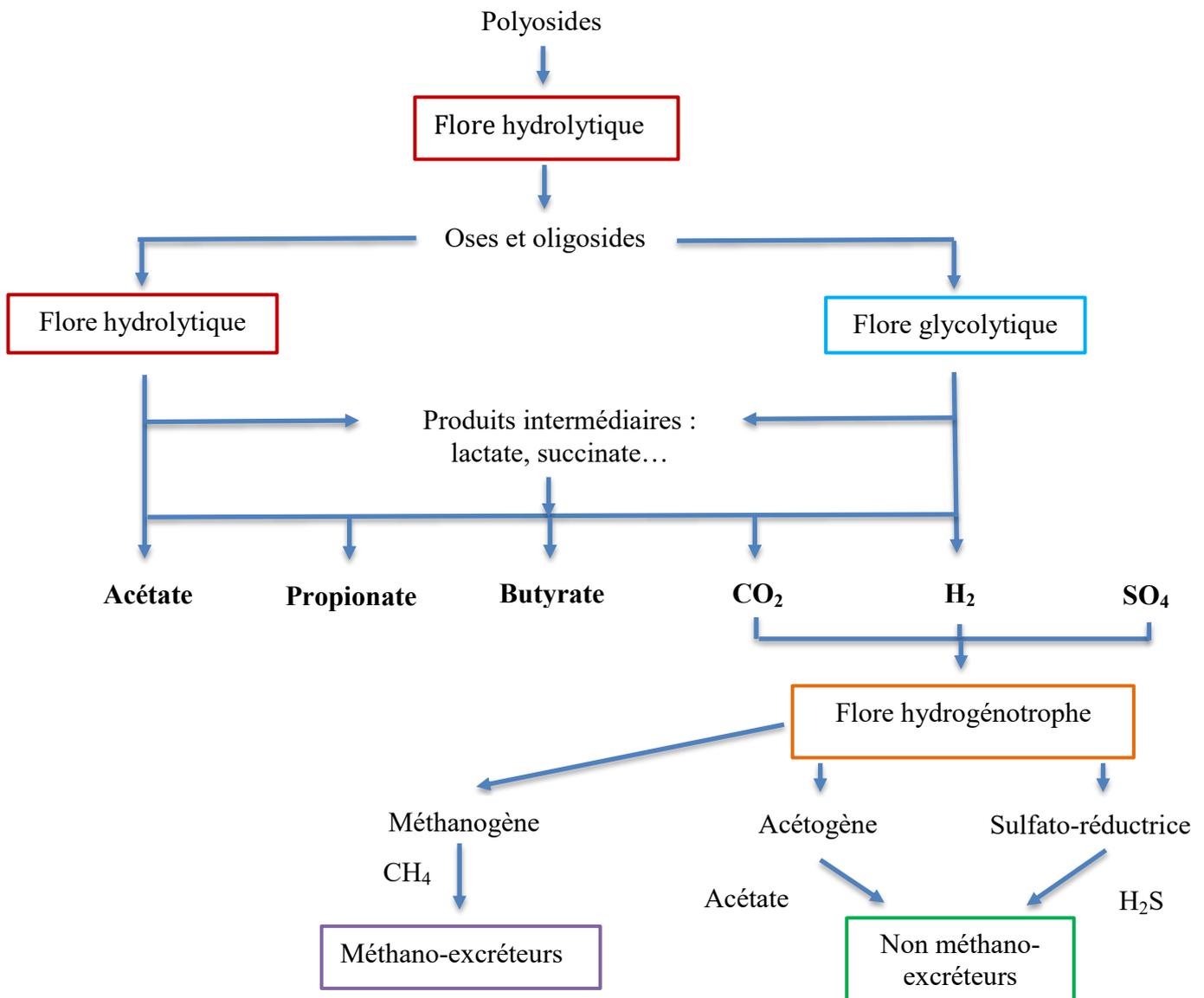


Figure 28 Devenir des glucides suite à leur utilisation par la flore bactérienne

## Hydrolyse des polysides :

La première étape consiste à dégrader les polysides (cellulose, amidon) afin de les transformer en fragments osidiques plus petits, utilisés comme source d'énergie. Les différentes espèces bactériennes possédant une activité hydrolytique démontrée sont les genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus*, *Clostridium* et *Eubacterium*. Pour cliver ces grosses molécules, les bactéries utilisent des enzymes qu'elles synthétisent et qui ne sont pas produites par l'hôte. Il s'agit de polysaccharidases ou/et de glucosidases, enzymes inductibles et toujours liées à la bactérie (106).

## Espèces amylolytiques :

Les espèces amylolytiques sont des espèces qui se servent de l'amidon comme source énergétique (107). L'amidon (Figure 29) est une longue structure glucidique composée d'un enchainement de D-glucose et identifiée par la formule  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Ces enchainements forment l'amylose et l'amylopectine qui sont les deux constituants de l'amidon.

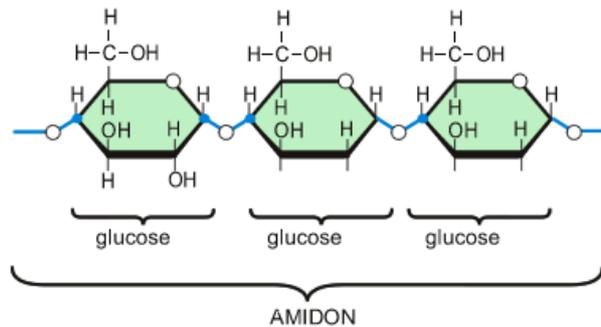


Figure 29 Structure de l'amidon

Les espèces amylolytiques sont représentées par les genres *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* et le genre dominant *Bacteroides*. De fait, l'espèce *Bacteroides thetaiotaomicron* lie l'amidon à sa surface dans le but d'en faciliter l'assimilation (108).

## Espèces hydrolytiques :

Les espèces correspondantes à la flore qui hydrolyse la cellulose n'ont été que peu étudiées car détectées chez peu de personnes. Cependant, des bactéries cellulolytiques appartenant aux genres *Ruminococcus* (Figure 30), *Clostridium* et *Eubacterium* ont été mises en évidence (109). D'autres travaux ont identifié des espèces faisant parties des genres *Enterococcus* et *Propionibacterium* (110).

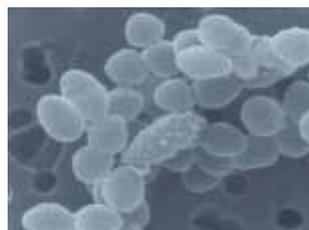


Figure 30 *Ruminococcus flavefaciens* (110)

Il a été démontré que seuls les individus méthano-excréteurs possèdent une flore cellulolytique hydrolysant la cellulose cristalline. En revanche, une cellulose moins cristalline et une fraction cellulosique non purifiée utilisées chez plusieurs personnes ont mis en évidence une flore cellulolytique présente chez tous ces volontaires, qu'ils soient ou non méthano-excréteurs (110). L'étude de cette flore chez les personnes non méthano-excrétrices a mis en évidence des nouvelles espèces du genre *Bacteroides*. Les espèces hémicellulolytiques quant à elles sont présentes en plus grand nombre et appartiennent surtout aux genres *Clostridium* ou *Bacteroides* (109). Citons aussi la pectine, dégradée essentiellement par le genre *Bacteroides* ou *Bifidobacterium*. Les gommes, comme la gomme guar, sont aussi utilisées par ces bactéries. La digestion de ces polysides met donc en jeu de nombreuses enzymes hydrolytiques produites par les bactéries dont la contribution semble complémentaire.

### **Espèces mucolytiques :**

Les espèces mucolytiques favorisent la dégradation des mucines et des mucopolysaccharides. Les genres *Bacteroides*, *Ruminococcus* et *Bifidobacterium* en sont les principaux responsables. Là encore, une batterie d'enzymes composée d' $\alpha$ -glucosidase, de sialidase ou encore de  $\beta$ -D-galactosidase agissent sur les mucines (111). Certaines espèces de *Ruminococcus* possèdent l'intégralité de cet arsenal, tandis que certaines espèces de *Bifidobacterium* n'en produisent qu'une partie. Les mucopolysaccharides, par exemple les acides hyaluroniques, sont dégradés plutôt par des sulfatases, des lyases ou des  $\beta$ -glucuronidases, surtout par les espèces du genre *Bacteroides*.

### **Devenir des oligosides :**

Les produits de ces réactions donnent des fragments plus petits (passage de polysaccharides à des monosaccharides), pouvant être utilisés par les bactéries pour leur développement. Ces bactéries constituent la flore glycolytique et leur croissance est donc fortement liée à deux choses : l'activité hydrolytique des espèces vues précédemment et la compétition des espèces bactériennes vis-à-vis de ces substrats.

### **Fermentation des glucides :**

Il n'existe que peu de voies métaboliques utilisées pour fermenter les glucides, malgré l'abondance et la diversité des substrats et des espèces.

L'élément central de ce processus (Figure 31) (24) est le pyruvate. Il est obtenu par la glycolyse (ou voie d'Embden-Meyerhof-Parnas), un moyen utilisé par la quasi-totalité des bactéries (hormis les bifidobactéries) pour convertir les glucides en pyruvate. L'autre voie conduisant à la synthèse de pyruvate est celle des pentoses-phosphates, utilisée par certaines bactéries lors du métabolisme des pentoses. Dans ce cycle, le pyruvate est transformé majoritairement en acétate, propionate et butyrate mais des produits intermédiaires sont également obtenus par certaines bactéries, tels que le succinate, le lactate, l'ATP, l'éthanol, l' $H_2$  et le  $CO_2$ . Tous ces métabolites intermédiaires sont rapidement réutilisés par d'autres bactéries et ne s'accumulent donc pas. Il est alors facile de comprendre que ces molécules participent à l'entretien de la diversité de la flore. De plus, la majorité des espèces bactériennes présentent une fermentation dite acide-mixte, c'est-à-dire qu'elles produisent plusieurs métabolites quand elles utilisent un substrat.

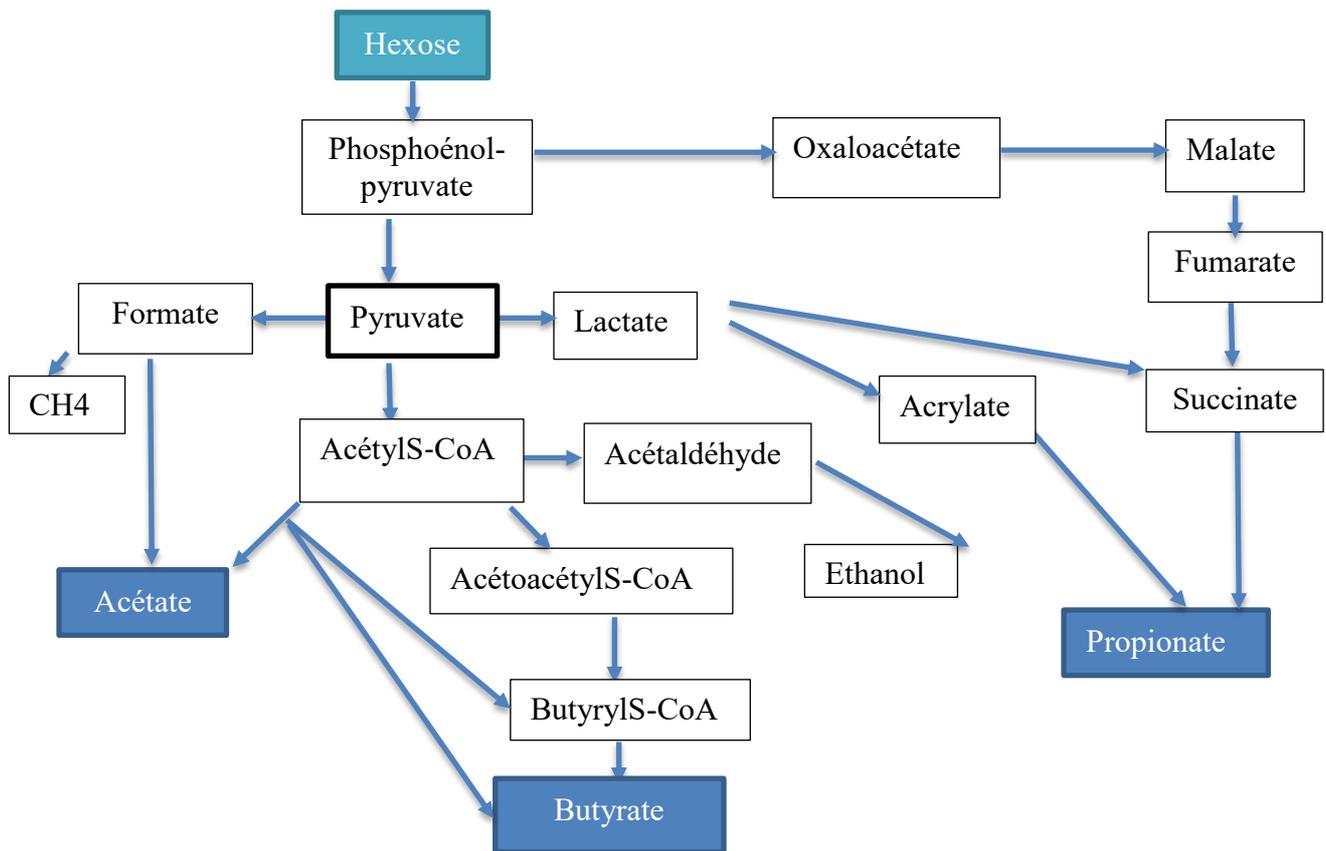


Figure 31 Processus de fermentation des glucides

Les espèces responsables de la production de ces composés essentiels restent encore mal connues malgré les nouvelles identifications bactériennes établies par de récents travaux.

## Métabolisme des gaz :

L'un des gaz les plus abondants retrouvés au niveau du côlon est le dihydrogène. Les espèces hydrogénotrophes, qui produisent de l' $H_2$  à partir des oses, sont principalement des espèces faisant parties des genres *Clostridium*, *Eubacterium* et *Ruminococcus*. Il existe deux finalités pour l' $H_2$  produit : soit il sera utilisé directement par les bactéries, soit il sera excrété par voie anale et/ou pulmonaire. Son utilisation par les bactéries implique trois mécanismes distincts : la méthanogenèse, la sulfato-réduction et l'acétogenèse réductrice (112).

### La méthanogenèse :

Du  $CO_2$  et/ou de l' $H_2$  peuvent être utilisés par des bactéries comme des substrats dont le produit est le  $CH_4$ . Seules deux espèces bactériennes du microbiote intestinal ont été identifiées comme étant productrices de  $CH_4$ . La première espèce, *Methanosphaera stadtmaniae*, produit du  $CH_4$  par réduction du méthanol par de l' $H_2$ . L'autre, *Methanobrevibacter smithii* (Figure 32) retrouvée en plus grande quantité, produit du  $CH_4$  par réduction de  $CO_2$  par de l' $H_2$  (113).

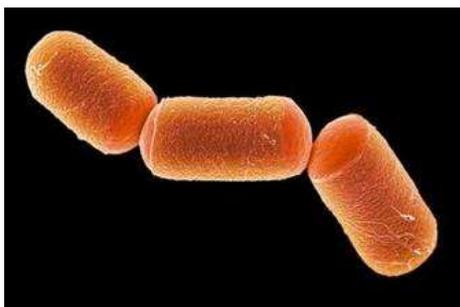


Figure 32 *Methanobrevibacter smithii* (114)

Le  $\text{CH}_4$ , éliminé par les poumons et dans les flatulences, serait retrouvable dans l'air expiré à partir d'un seuil de  $10^8$  bactéries méthanogènes/g de selles. Cette estimation a permis de déterminer que le pourcentage d'individus méthano-excréteurs est compris entre 30 et 50% de la population (115).

### La sulfato-réduction :

Le principe de cette réaction est la réduction du sulfate en  $\text{H}_2\text{S}$ . Les donneurs d'électrons, molécules essentielles pour cette réaction, sont l' $\text{H}_2$  et le formate, mais aussi le lactate, le pyruvate et l'éthanol (métabolisé en acétate). Lorsque la réduction du sulfate se déroule avec de l' $\text{H}_2$ , il y a production de composés soufrés, les sulfures, molécules toxiques pour les cellules de l'hôte (116). Parmi les bactéries sulfato-réductrices, le genre *Desulfovibrio* est celui le plus fréquemment rencontré. Nous pouvons aussi citer les genres *Desulfobacter* et *Desulfomonas*. L'activité de cette flore dépend essentiellement de la quantité disponible de sulfate présente dans l'environnement, qu'elle soit d'origine endogène ou exogène. Etant donnée la part prédominante de l'alimentation dans ces apports, la flore doit être dotée d'une capacité d'adaptation suivant les variations de la teneur en sulfate.

### L'acétogénèse réductrice :

L'acétogénèse réductrice est une réaction plus compliquée que les deux dernières. Il s'agit de la réduction de deux moles de  $\text{CO}_2$  par quatre moles d' $\text{H}_2$  pour pouvoir produire de l'acétate. Les genres *Clostridium*, *Streptococcus* et *Ruminococcus* sont les plus représentatifs de cette réaction (117). L'un des  $\text{CO}_2$  formera le groupement méthyl de l'acétate, le second conduira au groupement carboxyl qui, accompagné d'acétylS-CoA, conduiront à la production d'acétate et à la formation d'ATP. Lorsque les bactéries méthanogènes sont en sous-nombre, les bactéries sulfato-réductrices expriment elles aussi un pouvoir hydrogénotrophe, permettant alors d'éliminer de l' $\text{H}_2$  (118).

### Métabolisme des protéines :

Ces réactions métaboliques de dégradation des protéines, contrairement à celles du métabolisme des glucides, conduisent à la production d'un nombre important de molécules toxiques pour l'hôte. Le schéma global suivant permet d'avoir une représentation de celles-ci (Figure 33).

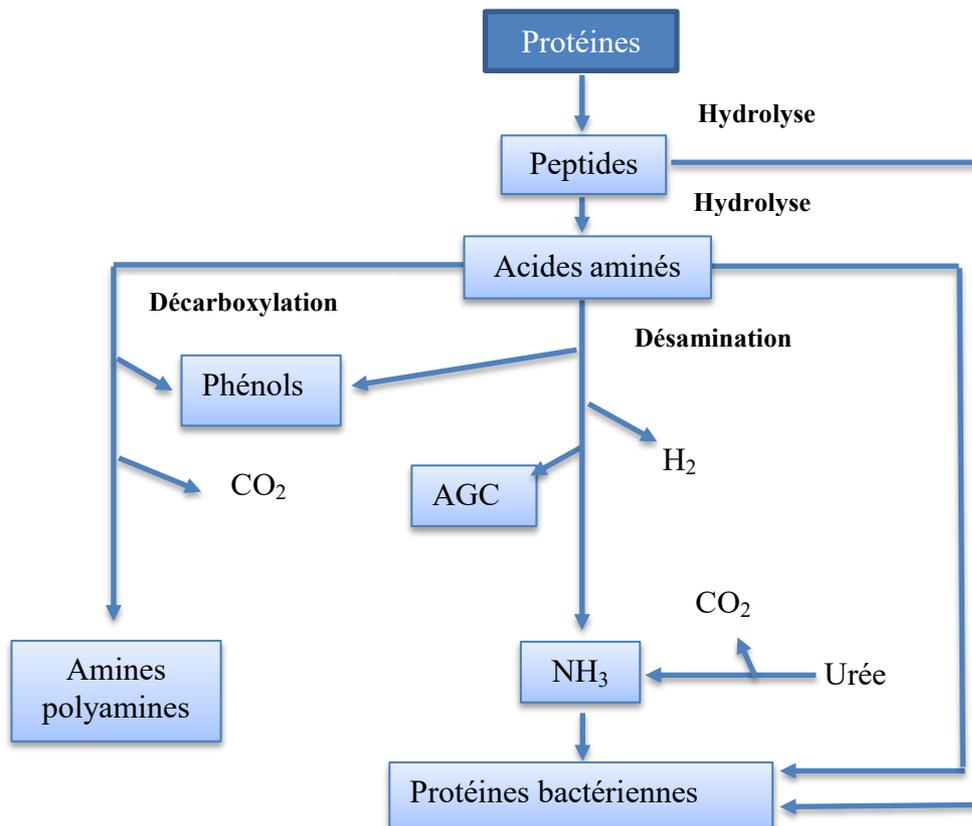


Figure 33 Devenir des protéines suite à leur utilisation par la flore bactérienne intestinale

### L'hydrolyse des protéines :

La première étape du métabolisme des protéines consiste à les lyser en molécules plus petites afin de fournir les éléments nécessaires au développement des bactéries. Parmi les facteurs impliqués dans l'efficacité de ce processus, la structure, la solubilité et le temps de transit des protéines semblent être déterminants.

Les protéases, enzymes qui lysent les protéines, sont actives à un pH neutre. Le pH colique a donc un rôle non négligeable dans ces réactions. Les paramètres modulant le pH colique tel que la synthèse d'acides lors du métabolisme des glucides peuvent donc avoir une influence sur l'activité protéolytique (119). De ce fait, la supposition que les protéases soient plus actives dans le côlon distal, environnement où le pH se voit être augmenté, a été faite. Suite à leurs dégradations par les protéases de type sérine-, cystéine- ou métalloprotéases, les protéines libèrent des peptides utilisables par les bactéries. Certaines assimilent directement l'azote des peptides tandis que d'autres espèces bactériennes préfèrent assimiler certains acides aminés libres issus des réactions chimiques. L'action des protéases varie largement entre les espèces bactériennes, cependant elles sont retrouvées soit au niveau extra-cellulaire, comme chez les *Clostridium* (120), soit directement liée à la cellule, comme chez les *Lactobacillus*. D'autres genres bactériens ayant une action protéolytique sont les genres *Propionibacterium*, *Bacteroides* ou encore *Streptococcus*.

## Peptides et acides aminés :

Les peptides sont des molécules importantes pour les bactéries. Ils sont responsables de la croissance d'espèces bactériennes intestinales. Les produits de leur utilisation sont des acides aminés, libres et plus petits, qui vont eux aussi être utilisés par d'autres espèces bactériennes. Les espèces capables de métaboliser ces acides aminés pour leur fournir de l'énergie appartiennent à différents genres comme *Peptococcus*, *Acidaminococcus*, *Clostridium* ou *Eubacterium*. Une des réactions majoritaires impliquée dans la fermentation des acides aminés est celle de désamination. Elle permet de former des AGCC, dont on a vu l'importance, ainsi que de l'ammoniaque. Par exemple, après fermentation de la lysine, *Fusobacterium nucleatum* produit de l'acétate et du butyrate. *Bacteroides sp.* transforme quant à lui l'aspartate en succinate et acétate. D'autres composés sont formés durant ces réactions comme des acides gras ramifiés ou des phénols. La concentration en acides gras augmente du côlon proximal au côlon distal et ces acides sont utilisés comme marqueurs de la protéolyse colique car ils sont uniquement produits dans le côlon. Les phénols sont des composés issus du métabolisme des acides aminés aromatiques (Tyr, Trp, Phe) produits par quelques espèces de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Clostridium* (121). Ces composés sont supposés toxiques car retrouvés en grande quantité dans certaines pathologies, comme le cancer colique (122).

## L'ammoniac :

L'ammoniac provient de la désamination des acides aminés, il est assimilé par les bactéries selon deux voies métaboliques puis sert à la synthèse d'autres acides aminés nécessaires à la flore. L'ammoniac est également absorbé par l'hôte puis transformé au niveau hépatique en urée afin d'être excrété dans les urines. L'ammoniac a un rôle probablement toxique puisqu'il s'avère altérer le métabolisme et la morphologie de cellules intestinales et d'augmenter la synthèse d'ADN, le tout à faible concentration. Son action pourrait favoriser l'apparition de cancers coliques. La hausse de la concentration d'ammoniac résulte d'un déséquilibre de la balance production/utilisation de celui-ci et la fermentation glucidique, qui engage la synthèse de protéines bactériennes, favorise la diminution de la concentration d'ammoniaque.

## Les amines et polyamines :

Ces composés sont majoritairement issus de la décarboxylation des acides aminés. Ce sont également des produits de la dégradation des polyamines. Il existe une large diversité d'amines comme l'histamine ou la piperidine et pour citer des polyamines, la putrescine ou la cadavérine. La plupart des bactéries participant à la production d'amines sont des *Bacteroides*, *Lactobacillus* ou *Clostridium* ainsi que certaines entérobactéries. D'ailleurs, certaines espèces ont besoin de polyamines afin d'évoluer favorablement. Les polyamines, absorbables et excrétables, sont utilisables comme marqueur du métabolisme des protéines par les bactéries. Là encore, ces molécules sont potentiellement toxiques et auraient un rôle dans certaines pathologies comme la migraine ou la schizophrénie (123).

## Métabolisme des stérols :

La source endogène principale des stérols est la bile et constitue avec l'apport exogène un apport conséquent de substrats pour les bactéries intestinales. Des acides biliaires, le cholestérol et les hormones stéroïdiennes composent les stérols biliaires. A ce jour, malgré

l'identification d'espèces responsables de ces mécanismes, les voies métaboliques et le rôle physiologique de ces substrats restent à déterminer.

### Le cholestérol :

Une faible proportion de cholestérol (Figure 34) arrive au niveau colique car celui-ci est principalement absorbé au niveau de l'intestin grêle. Deux voies métaboliques sont empruntées par le cholestérol, qui est soit transformé majoritairement en coprostanol, soit transformé en coprostanone. La première voie se manifeste par une série d'oxydations et de réductions, responsables de la production de coprostanone et coprostanol. L'autre voie consisterait en une réduction directe du cholestérol en coprostanol (124).

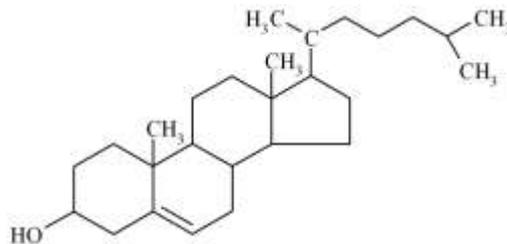


Figure 34 Représentation schématique du cholestérol

Ces deux produits sont retrouvés dans les selles et des études chez le rat ont montré que l'activité bactérienne sur le cholestérol se localisait principalement dans le caecum. Chez l'Homme, cette activité est observée chez plus de 70% d'individus (23 personnes sur 31) couplée à de fortes variations interindividuelles (125). La majorité des espèces métabolisant le cholestérol ont été identifiées dans les selles, la plupart appartenant au genre *Eubacterium* (126). Aujourd'hui, les genres *Clostridium*, *Bacteroides* et *Bifidobacterium* complètent ce groupe de métaboliseurs.

### Les acides biliaires :

Les acides biliaires majoritaires chez l'Homme sont l'acide cholique et l'acide chénodésoxycholique. Ils sont largement absorbés dans l'iléon terminal pour retourner dans le foie. Malgré tout, une faible proportion d'acides biliaires atteint le côlon, où ils seront métabolisés par la flore. Les produits de ces réactions sont excrétés dans les selles, mais aussi réabsorbés pour certains. Ils seront alors amenés dans le foie et constitueront les acides biliaires secondaires (126). Une vingtaine d'acides biliaires secondaires ont été identifiés, montrant ainsi la diversité des voies de métabolisation des acides biliaires primaires.

Cinq voies majoritaires de métabolisation des acides biliaires ont été étudiées. La première est l'hydrolyse de la liaison entre la glycine ou la taurine (liaison amide), effectuée par des hydrolases spécifiques aux genres bactériens comme *Bacteroides*, *Clostridium*, *Lactobacillus* ou *Streptococcus* (127). L'oxydation des acides biliaires et l'épimérisation de leurs groupements implique un second type de voie métabolique mettant en jeu une déshydrogénase spécifique de certains genres, tels que *Fusobacterium*, *Clostridium* ou *Ruminococcus* (128). La troisième voie, et plus significative chez l'Homme, est celle de la 7-déshydroxylation qui transforme les acides biliaires en acide désoxycholique et lithocolique.

Les espèces composant la flore capable d'effectuer cette réaction appartiennent aux genres *Clostridium* (129) et *Eubacterium* mais sont présentes chez une faible proportion de la population.

Ensuite, l'estérification effectuée par certaines espèces des genres *Bacteroides*, *Ruminococcus* ou *Lactobacillus* a aussi été identifiée comme une quatrième voie métabolique menant à de l'acide lipotéichoïque (130). Très peu d'études viennent compléter le fait, qu'*in vitro*, ces bactéries soient capables de saponifier ces acides. Pour finir, la désulfatation des acides biliaires à l'aide d'une sulfatase spécifique est une dernière voie métabolique décrite chez des espèces appartenant aux genres *Clostridium*, *Peptococcus* et *Fusobacterium* (131).

### Les hormones stéroïdiennes :

Les hormones stéroïdiennes, sont des molécules retrouvées en faible quantité chez l'Homme, sous une forme conjuguée, soit avec un groupement sulfate soit avec un groupement glucuronide. Suite aux réactions de déconjugaison, ces composés seront utilisés par la flore qui produira des métabolites entrant dans un cycle d'absorption/excrétion hépatique. La première voie métabolique consiste à supprimer les groupements sulfate/glucuronide à l'aide des enzymes correspondantes (sulfatases et glucuronidase). Les principales espèces responsables de cette activité appartiennent aux genres *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Eubacterium*. Une autre voie de métabolisation a été identifiée chez une bactérie, *Eubacterium lentum* (132). Sur les hormones stéroïdiennes, cette espèce est capable de déshydroxyler le groupement fixé en position 21. Des activités desmolase, qui lysent les liaisons des glucocorticoïdes, des activités réductase et des réactions d'oxydo-réduction entrent également en jeu dans le métabolisme des hormones stéroïdiennes.

### Métabolisme des xénobiotiques :

Les xénobiotiques sont définis comme étant des composés présents chez un hôte mais qui ne sont ni produits par son organisme, ni apportés dans son alimentation habituelle, comme les médicaments. L'organisme humain possède un système de détoxification qui lui est indispensable pour éliminer les xénobiotiques. Ce système s'articule autour de deux réactions, la phase I et la phase II. La phase I consiste en une série de réactions d'oxydation, de réduction ou d'hydroxylation, ayant pour but de faciliter l'excrétion des xénobiotiques en augmentant leur polarité. Ces réactions sont effectuées par le cytochrome P450 (CYP450), une enzyme contenue dans le foie ou les intestins. La phase II, quant à elle, consiste en des réactions de conjugaison, principalement par glucuronidation et sulfonation. Cette conjugaison des xénobiotiques permet leur excrétion via les fèces ou les urines. Plus de 70% des 200 médicaments les plus prescrits sont métabolisés dans le foie, 50% d'entre eux sont métabolisés par le CYP450 et 25% seront éliminés dans les urines (133).

Hormis le système de détoxification de l'hôte, la microflore exerce également des fonctions dans le métabolisme des xénobiotiques. En effet, plus de 40 médicaments et produits naturels sont métabolisés par la microflore (134) (Figure 32). La flore intestinale influence la pharmacocinétique en modulant la biodisponibilité orale ou la demi-vie des principes actifs, en jouant sur la capacité de métabolisation des médicaments par certaines enzymes ou sur l'expression de gènes impliqués dans ce métabolisme (135).

Tableau 3 Exemple de médicaments métabolisés par la microflore (136)

Drugs	Clinical application	Type of microbial metabolism	Microbial-related products	Influence on drug efficacy or toxicity	Related bacteria (if available)
Digoxin	Treatment for heart disease	Reduction	Dihydrodigoxin and dihydrodigoxigenin	Decreased cardiac activity	<i>Eggerthella lenta</i>
L-Dopa	Treatment for parkinson's disease	Dehydroxylation	m-tyrosine, m-tyramine, m-hydroxyphenylacetic acid	Decreased activity	
Metronidazole	Anti-anaerobic bacteria drug	Reduction	N-(2-hydroxyethyl)-oxamic acid and acetamide	Probably increase its liver toxicity	
Simvastatin	Hypolipidemic drug and prevention of cardiovascular disease	Hydrolysis, demethylation, hydroxylation/dehydroxylation and $\beta$ -oxidation	Lactic acid, 3-hydroxybutanoic acid, cyclohexanecarboxylic acid, 2-hydroxyvaleric acid.	Altering its lipids-lowering activity	
Lovastatin		Hydrolysis	Demethylbutyryl metabolite, hydroxylated metabolite, hydroxy acid metabolite.		
Acetaminophen	Anti-analgesic drug	O-Sulfation, C-S cleavage of acetaminophen-3-cysteine	Acetaminophen sulfate and glucuronide	Decreased activity or increased cellular toxicity	<i>Clostridium difficile</i>
Levamisole	A typical anthelmintic drug that is also used for anti-colon cancer treatment	Thiazole ring opening	Fermentation of three thiazole ring-opened metabolites, namely, levametabol-I, II and III	Increased activity	<i>Bacteroides</i> and <i>Clostridium spp.</i>

La digoxine, un médicament à marge thérapeutique étroite utilisé dans le traitement de l'insuffisance cardiaque, est un exemple de médicament métabolisé par le microbiote. La microflore transforme normalement cette molécule en un métabolite inactif, la dihydrodigoxine. Cependant, suite à l'utilisation d'un antibiotique modulant la flore, une diminution de la sécrétion de dihydrodigoxine dans les urines et un taux sanguin de digoxine augmenté ont été observés (137), favorisant dès lors l'apparition d'effets indésirables. Une des bactéries mise en jeu durant ce processus est *Eggerthella lenta* (138). Chez cette bactérie, il a été récemment découvert la présence d'un « cytochrome encodant operon », un groupe de gènes codant pour un cytochrome. Dénommé CGR operon pour Cardiac Glycoside Reductase operon, il est supposé responsable de l'inactivation de la digoxine car une corrélation a été retrouvée entre l'abondance de CGR et la digoxine *ex vivo* chez des patients.

L'irinotécan est une molécule utilisée en chimiothérapie dans le traitement du cancer colorectal et administrée par voie I.V. Une fois dans l'organisme, l'irinotécan se voit transformé en SN-38, le composé actif, inhibiteur des topoisomères I des cellules tumorales. Le SN-38 est ensuite conjugué en SN-38-G par une enzyme hépatique, l'UDP-glucuronosyltransferase, avant d'être excrété dans l'intestin. Cependant, le SN-38-G, composé non toxique, peut être reconverti au niveau intestinal en SN-38 par la  $\beta$ -glucuronidase bactérienne et entraîner de violents effets indésirables, telles de fortes diarrhées (139). Une solution est l'utilisation concomitante d'antibiotique qui permet de réduire l'apparition des effets indésirables intestinaux imputables au métabolisme de l'irinotécan (140).

Les statines, telle la simvastatine, sont une des principales classes médicamenteuses prescrite pour réduire le taux de LDL cholestérol (LDLc), par l'intermédiaire de leur action inhibitrice sur l'HMG-CoA reductase. Malgré tout, des différences de réponses aux traitements existent entre chaque individu. Des chercheurs ont récemment montré une corrélation entre certains métabolites bactériens et l'efficacité de la simvastatine sur le taux de LDLc (141). En effet, plusieurs acides biliaires secondaires, produits par des bactéries, pourraient prédire l'impact de la simvastatine sur le taux de LDLc et son degré d'efficacité. De plus, ces acides biliaires secondaires sont corrélés avec les taux plasmatiques de simvastatine, suggérant le rôle possible de la microflore sur sa biodisponibilité. L'incubation de lovastatine, une autre statine, avec des fécalases (ensemble des enzymes bactériennes contenues dans les selles) humaines ou murines entraîne la production de quatre métabolites actifs. De plus, les concentrations plasmatiques de métabolites actifs de la lovastatine sont significativement diminuées chez les rats traités par antibiotique.

### iii. Barrière physiologique :

La présence de la microflore sur la muqueuse intestinale protège l'hôte des bactéries pathogènes, parce qu'elle occupe l'espace disponible à l'implantation de celles-ci. Cette présence physique des bactéries bénéfiques pour l'organisme empêche l'attachement des bactéries pathogènes sur des points de fixation et elles ne pourront exercer leurs effets délétères. C'est ce qu'on appelle la compétition bactérienne (Figure 36). Dans le phénomène des diarrhées, les bactéries qui en sont responsables doivent s'implanter au niveau de la muqueuse, afin d'introduire dans l'entérocyte les toxines favorisant une production accrue de liquide, de mucus ou de sang. A l'inverse, si les bactéries pathogènes ne parviennent pas à se fixer, le mécanisme physiopathologique ne pourra pas s'effectuer. Les bactéries de la microflore, présentent en surnombre, monopolisent tous les nutriments disponibles à leur développement et privent alors les bactéries pathogènes des ressources nécessaires à leur multiplication.

Outre ces phénomènes physiques, les bactéries de la microflore produisent des substances ayant un rôle protecteur sur l'hôte. Ces molécules, appelées bactériocines, possèdent des activités semblables aux antibiotiques (142). Elles peuvent être bactéricides (destruction de bactéries) ou bactériostatiques (empêcher la croissance de bactéries) dépendant de la souche bactérienne dont elles proviennent. La première bactériocine, la colicine, a été découverte en 1925, avant la pénicilline, et aujourd'hui des centaines de ces molécules ont été étudiées. Ces bactériocines sont utilisées dans de nombreux domaines, en particulier dans l'agro-alimentaire où la nisine, produite par *Lactobacillus lactis*, est employée en tant qu'agent conservateur.

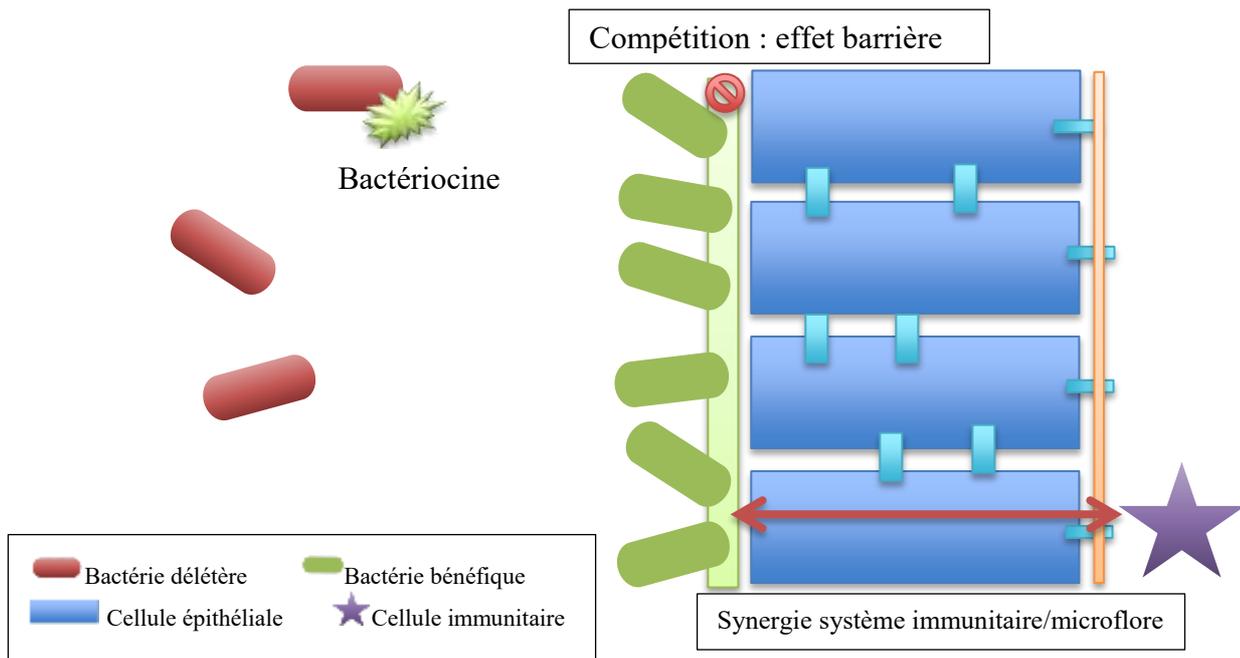


Figure 35 Système de défenses liées à la flore

L'impact de la microflore sur les mécanismes de défenses est fondamental car la flore a le pouvoir de moduler le système immunitaire, point majeur de la microflore, qu'on abordera dans un prochain chapitre.

#### iv. Régulation de l'angiogenèse intestinale :

L'angiogenèse intestinale (Figure 37) est un mécanisme permettant la création de nouveaux vaisseaux sanguins. L'angiogenèse est la résultante de l'activation des cellules endothéliales conduisant, par leur état, à la dégradation de la matrice extra-cellulaire et de la membrane basale. La migration cellulaire est orientée puis les cellules vont proliférer et se différencier afin de former le nouveau réseau vasculaire, permettant aux tissus de se développer. De nombreux facteurs, appelés facteurs de croissance, ont la capacité d'activer ce processus. Parmi ceux-ci, ressort le V.E.G.F (Vascular Endothelial Growth Factor). La néovascularisation est impliquée dans plusieurs mécanismes physiologiques tels que le développement embryonnaire, mais aussi dans certaines situations pathologiques comme les cancers où ce processus permet la vascularisation des tumeurs et l'apparition de métastases.

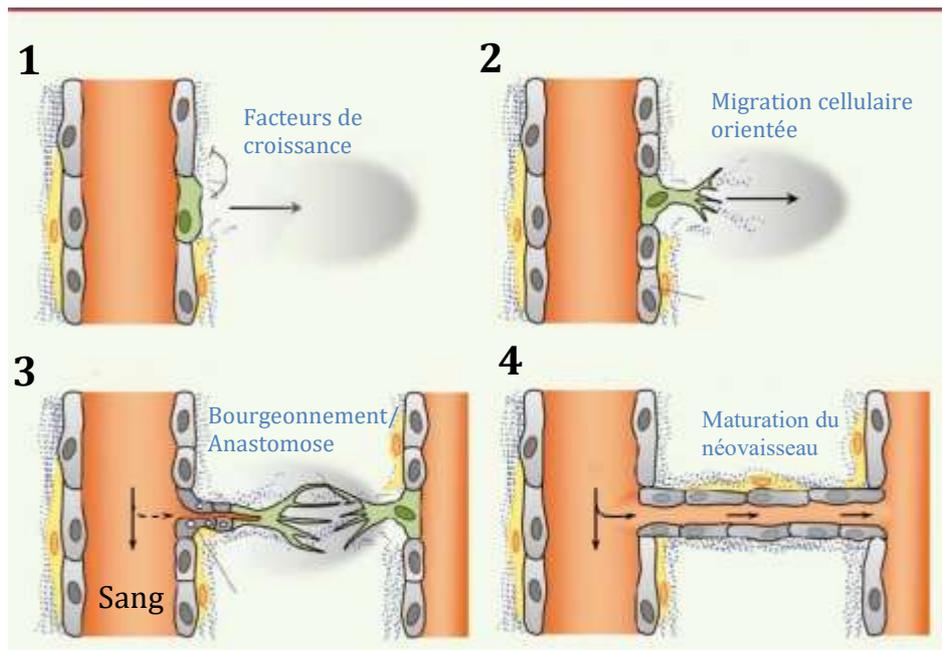


Figure 36 Processus de l'angiogénèse

L'implication de la microflore dans la régulation de l'angiogénèse intestinale a été démontrée par des travaux menés sur des souris axéniques (143). Les réseaux sanguins des villosités intestinales nouvellement créés ont été comparés entre ceux des souris axéniques et ceux des souris conventionnelles. Un réseau deux fois moins dense a été observé chez les souris axéniques, ceci s'expliquant par l'arrêt prématuré de son développement (144).

#### v. Stimulation du système immunitaire

L'intestin est le siège de l'immunité digestive mais surtout de notre immunité globale. Par l'intermédiaire de la microflore faisant pression sur celui-ci, les mécanismes de réponse de notre système immunitaire sont modulés. L'immunité innée, la première ligne défensive limitant les infections, agit par l'intermédiaire de récepteurs reconnaissant certains antigènes bactériens. L'immunité acquise grâce aux lymphocytes B et lymphocytes T assure également un rôle dans la défense de l'hôte vis-à-vis des microorganismes pathogènes. Il s'agit ici d'un rôle favorable essentiel de la microflore et nous allons voir en détail dans le prochain chapitre ces différents mécanismes de défense et l'interaction entre les bactéries de la flore et le système immunitaire.

#### c. Stimulation du système immunitaire : Immunité et importance du microbiote :

##### i. Rappels d'immunologie :

#### L'immunité innée :

La première ligne défensive de l'hôte, l'immunité innée, est assurée par les cellules dendritiques, les cellules « natural killer » (cellules NK), les polynucléaires neutrophiles et les macrophages/monocytes. Ces sentinelles, grâce à leur pouvoir de phagocytose, éliminent les

microorganismes étrangers potentiellement pathogènes. Elles reconnaissent aussi des composants bactériens à l'aide de plusieurs récepteurs à la surface des cellules, comme le CD14, ainsi que des récepteurs appelés Toll-like Receptor (145). Les liaisons à ces différents récepteurs conduisent à l'activation d'un facteur nucléaire, lui-même amenant la transcription de gènes effectuant la synthèse de chimiokines, comme l'interleukine-8, et de cytokines pro-inflammatoires, comme le TNF- $\alpha$ . Cette synthèse a pour conséquence d'attirer les polynucléaires neutrophiles et les lymphocytes B et T, et de provoquer la synthèse d'autres cytokines entraînant la stimulation de l'expression des macrophages et des cellules dendritiques, de stimuler également la phagocytose, d'augmenter la production de NO et de moduler les réponses immunitaires acquises par une orientation Th0 vers Th1, que l'on verra plus loin.

Les cellules NK ont une action dans l'activité antitumorale et modulent les réponses immunitaires acquises suite à la synthèse d'interféron  $\gamma$ . Les macrophages et cellules dendritiques sont aussi des cellules présentatrices d'antigène, qui présentent ces motifs aux cellules de l'immunité acquise. On parlera ici des mécanismes mettant en lien la microflore et le système immunitaire.

### Les récepteurs Toll-like :

Les récepteurs Toll-like (TLR) (Figure 38) ont d'abord été identifiés chez la drosophile, par l'intermédiaire de la protéine Toll, indispensable pour provoquer la réaction immunitaire chez ces insectes. Chez l'Homme, dix TLR ont été découverts et chacun est spécialisé dans la reconnaissance d'un motif bactérien.

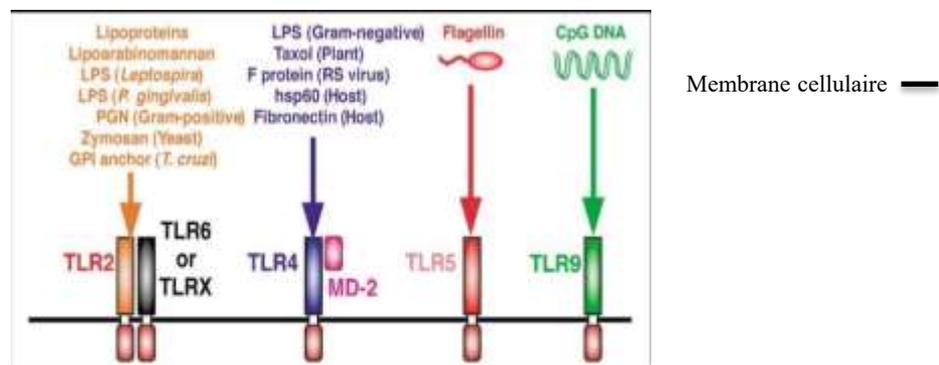


Figure 37 Les différents récepteurs TLR et leurs substrats

Le TLR-4 reconnaît spécifiquement les lipopolysaccharides (LPS), motifs caractéristiques des espèces bactériennes Gram négatif, et l'acide lipotéichoïque (LTA) caractéristique des espèces Gram positif (146). Autre exemple, le TLR-2 identifie le peptidoglycane (PGN) caractéristique des bactéries Gram positif qui est un motif pouvant déclencher avec le LTA un choc septique. Le TLR-2 reconnaît aussi le lipoarabinomannane (LAM), caractéristique des mycobactéries (147). Le TLR-3 reconnaît quant à lui l'ARN viral alors que le TLR-9 différencie l'ADN bactérien de l'ADN humain par la présence d'îlots CpG non méthylés chez les bactéries. Le TLR-5 reconnaît principalement la flagelline, une protéine faisant parti du flagelle bactérien (148). Quels que soient leurs ligands spécifiques, le rôle principal de l'activation des TLR est d'induire la synthèse du facteur de transcription NF- $\kappa$ B, suite à une

cascade de réactions intracellulaires, et d'activer les différents processus de l'immunité acquise.

### Les protéines NOD :

Les protéines NOD, protéines cytoplasmiques surtout exprimées dans les cellules de Paneth ont aussi leurs rôles dans les mécanismes immunitaires. Alors que la protéine NOD-1 active le facteur de transcription NF- $\kappa$ B par reconnaissance du LPS, la protéine NOD-2 reconnaît quant à elle le PGN (149). Ces molécules sont complémentaires des TLR mais s'en différencie en étant actives au niveau du cytoplasme. La protéine NOD-1 active aussi les voies de signalisation de l'apoptose. Dans l'intestin, ce mécanisme est utilisé pour détruire les cellules infectées, et constitue alors un autre moyen de défense vis-à-vis des pathogènes.

### Les lymphocytes MAIT :

Les cellules MAIT (Mucosal Associated Invariant T cells) sont des lymphocytes T immuables. Découverts récemment dans la *lamina propria*, une zone sous la muqueuse, ces lymphocytes sont impliqués dans le mécanisme de défense de l'hôte (150). Malgré leur statut de lymphocytes T, ces cellules ne reconnaissent qu'une proportion restreinte de motifs antigéniques, car ils possèdent qu'un inventaire limité de récepteurs spécifiques. Avec les TLRs, ils constituent le lien avec l'immunité acquise. En effet ces cellules MAIT ont le pouvoir de moduler l'activité des lymphocytes B intestinaux (151).

Un des faits les plus remarquables a été observé chez l'animal axénique. Ainsi, ces lymphocytes ne sont pas présents chez les souris dont la microflore est absente, soulignant alors l'importance et la dépendance entre le système immunitaire et la flore de l'hôte. De plus, les cellules MAIT sont capables de faire la distinction entre les bactéries qui colonisent le système digestif et les bactéries qui seront responsables d'une infection (152).

### L'immunité acquise :

Contrairement à l'immunité innée, l'immunité acquise est un mécanisme spécifique doué de mémoire. Les défenses acquises mettent en jeu les réponses cellulaires spécifiques de l'antigène et les réponses humorales. Lorsqu'un antigène est rencontré pour la première fois, les réponses sont longues à se mettre place. Cependant, du fait de leur capacité de mémoire, lors d'un suivant contact avec ce même antigène, le mécanisme de défense est bien plus rapide.

Pour rendre ce mécanisme optimal, il est indispensable d'avoir une coopération entre la cellule T et les cellules présentatrices de l'antigène (macrophages, cellules dendritiques). Ces liaisons vont activer la cellule T, soit en CD4+ pour les réponses cellulaires et humorales, soit en CD8+ pour les réponses cellulaires. Ces interactions ligands-récepteurs sont indispensables pour moduler les réponses immunitaires.

### Le GALT :

Le GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue) est un tissu lymphoïde recouvrant la face interne de la muqueuse propre à l'intestin. Il possède en son sein un nombre de lymphocytes plus grand que tous les organes lymphoïdes secondaires dans leur ensemble (153). De ce fait, sans un intestin sain, le système immunitaire peut s'avérer défaillant. Dans le GALT, les

lymphocytes sont isolés dans la *lamina propria* ou bien réunis pour former les plaques de Peyer, de volumineux follicules lymphoïdes (Figure 39).



Figure 38 Coupe histologique de plaque de Peyer (24)

Dans la *lamina propria* se trouvent les lymphocytes T activés et des lymphocytes B accompagnés de plasmocytes (lymphocytes B produisant des anticorps). Cette zone entre la couche de cellules épithéliales et la sous-muqueuse est le siège de réactions immunitaires importantes pour l'intestin.

#### Les cellules M :

Dans les plaques de Peyer, les entérocytes ne forment plus une palissade homogène car il y apparaît une autre entité cellulaire, sans glycocalyx et sans bordure en brosse. Aussi, les microvillosités sont remplacées par des digitations moins longues et désordonnées. Ces cellules, appelées cellules M, adoptent une forme dite en doigt de gant. Contrairement aux entérocytes, les cellules M favorisent l'adhérence des microorganismes pour pouvoir les capturer et les présenter aux cellules immunitaires sous-jacentes. Leur rôle premier est l'échantillonnage de microorganismes et d'antigènes présent dans leur environnement. Ces deux composés sont captés par les digitations de la cellule M, absorbés par endocytose puis conduits vers le pôle basal des cellules M par transcytose. D'ailleurs, c'est selon ce mécanisme que le V.I.H est absorbé, faisant des cellules M un acteur majeur dans la contamination par voie rectale du V.I.H (154). Les follicules lymphoïdes sont présents en des endroits où l'échantillonnage doit être important. Par exemple, dans l'estomac, quasiment stérilisé par l'HCl, il y en a très peu. A l'inverse, dans l'appendice ou le côlon, résident de nombreux follicules. D'autre part, les cellules M disposent de poches intra-épithéliales qui contiennent des lymphocytes B ou T, mais aussi des cellules dendritiques.

#### Les cellules dendritiques :

Ces cellules contenues dans les cellules M sont des CPA qui sélectionnent les antigènes de leur environnement en envoyant leurs dendrites à travers les jonctions serrées des entérocytes et des cellules M. Ensuite, elles les présentent aux lymphocytes et stimulent alors le système

immunitaire. Ces capacités des cellules dendritiques en font une des principales portes d'entrée de microorganismes pathogènes, tout comme les cellules M.

### La balance Th1/Th2 :

Suite à l'activation par les CPA des cellules T CD4+ (cellule T *helper*), les lymphocytes produisent des cytokines qui vont avoir une action sur la synthèse d'anticorps par les cellules B. Deux populations de cellules sont obtenues à partir des cellules Th : les cellules Th1 d'une part et les cellules Th2 d'autre part (Figure 39) (24). Les Th1 sont des cellules produisant préférentiellement une cytokine, l'IFN  $\gamma$  pro-inflammatoire, et entraînent aussi une faible production d'anticorps par les cellules B. Elles sont surtout utilisées dans les phénomènes de réponses cellulaires. Les Th2 vont produire des cytokines anti-inflammatoires comme l'interleukine 4, et entraînent une production beaucoup plus importante d'anticorps par les cellules B, comme les IgA ou IgE.

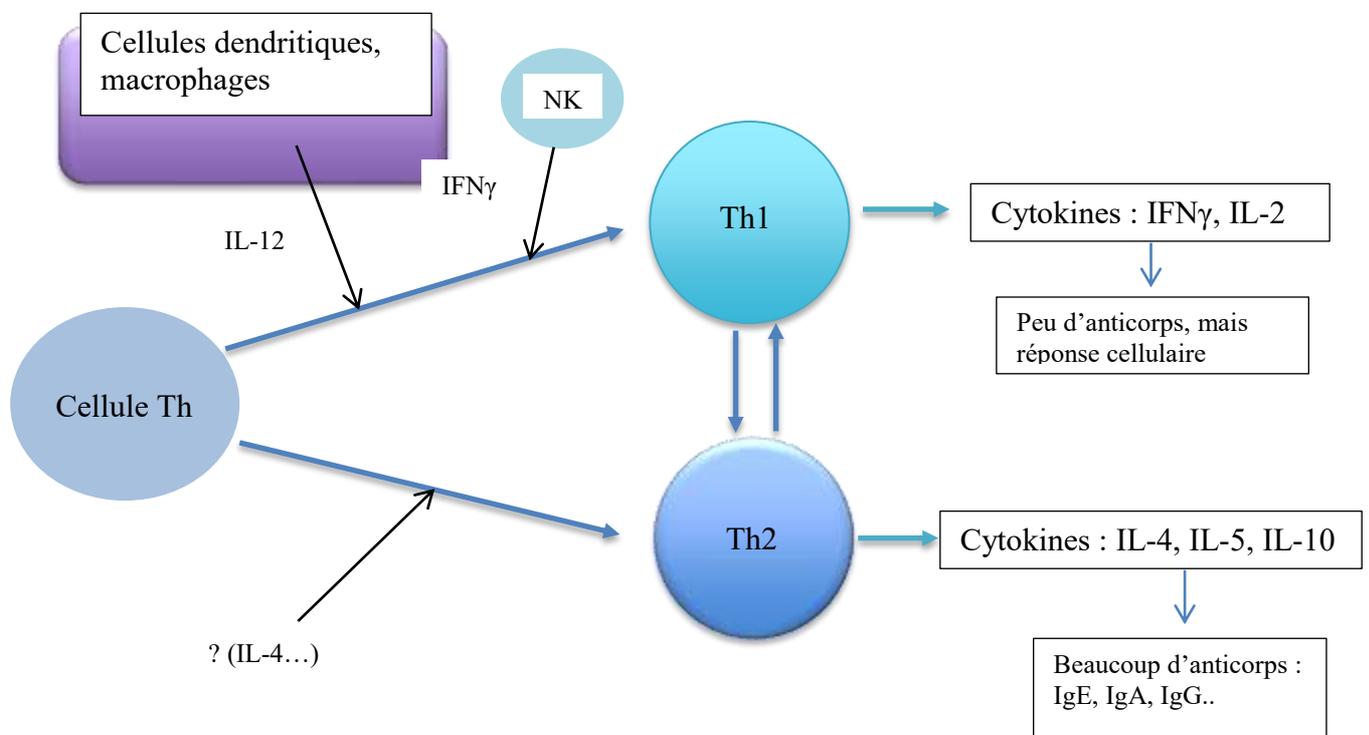


Figure 39 Devenir des cellules immunitaires Th

NK : Cellule Natural Killer ; IL : Interleukine ; Ig : Immunoglobuline ; IFN : Interféron

L'activation des cellules Th en cellules Th1 ou Th2 est sous la dépendance de facteurs environnementaux, dont les cytokines IL-12 et l'IFN $\gamma$ . La population de Th1, inflammatoire et cellulaire, va plutôt être sollicitée pour des infections intracellulaires tandis que celle composée des Th2 effectuera une production plus importante d'anticorps. La balance Th1/Th2 participe considérablement dans l'orientation et la régulation des réponses immunitaires. En effet, elle est capable d'amener des réponses immunitaires adaptées pour chaque antigène.

L'atopie chez le nourrisson est un phénomène prenant de l'ampleur ces dernières années et il semblerait qu'un déséquilibre de la balance soit responsable de ce phénomène allergique. L'enfant atopique se trouve dans un contexte déséquilibre de Th2 et le passage de Th2 à Th1 ne s'effectue pas. Le rôle de la flore bactérienne dans ce mécanisme a été établi suite à des travaux sur des souriceaux traités avec de la kanamycine, un antibiotique bactéricide (155). Les résultats ont montré que, chez les souriceaux traités, la réponse immunitaire restait bloquée en Th2 tandis que les souriceaux témoins partageaient Th1 et Th2. D'autre part, l'utilisation de probiotiques, dont l'espèce *Lactobacillus rhamnosus*, sur des nourrissons atopiques a confirmé leurs actions curatives ou préventives sur cette maladie (156). Ainsi, chez les enfants traités, la fréquence de l'atopie était de 23%, contre 46% dans la population d'enfants non traités.

La flore intestinale agit aussi sur les taux d'IgA et d'IgG. Chez l'animal axénique, on ne retrouve que très peu de ces deux immunoglobulines (75). Le taux d'expression des gènes Vh, codant pour la synthèse des parties variables des anticorps, permet d'étudier le panel d'immunoglobulines produites par les cellules B. Chez le souriceau conventionnel, l'expression du gène Vh7183 est forte dans les cellules B mais diminue au fil des années, soulignant la diversité des anticorps nouvellement synthétisés (157). Cette diversification n'est pas retrouvée chez un animal axénique, montrant alors l'importance de la flore intestinale dans ce processus de maturité du système immunitaire.

#### *ii. Rôle de la flore sur le développement du système immunitaire intestinal :*

Le système immunitaire intestinal, contrairement au système immunitaire périphérique vu auparavant, ne produit pas de réactions inflammatoires qui engendreraient la perturbation de la muqueuse intestinale. Sa principale fonction est d'établir les réponses cellulaires et humorales quand cela est nécessaire. Les réponses cellulaires sont médiées par les lymphocytes intra-épithéliaux qui détruisent les cellules infectées ou anormales. La réponse humorale est caractérisée par l'excrétion d'IgA qui, en formant des complexes immuns, empêchent l'adhésion des bactéries potentiellement pathogènes, neutralisent les toxines et bloquent la multiplication intracellulaire des virus.

L'autre fonction du système immunitaire intestinal est contradictoire avec son rôle d'éviction des bactéries. En effet, il s'agit de bloquer l'activation des réponses immunitaires pour des antigènes bactériens (ou non) présents constamment dans l'environnement intestinal afin d'éviter des réactions inflammatoires qui perturberaient l'absorption des nutriments. La tolérance orale est une des réponses immunitaires mises en jeu. Cette réponse suppressive consiste à réprimer les réponses cellulaires et humorales qui sont spécifiques à une protéine alimentaire si l'on est réexposé à celle-ci, permettant d'esquiver les réactions inflammatoires. Une dérégulation de la tolérance orale peut entraîner des hypersensibilités alimentaires se caractérisant par de l'eczéma atopique (Figure 40) ou par des diarrhées.



Figure 40 Eczéma atopique chez un nourrisson

Le système immunitaire intestinal chez la souris axénique est peu développé. Chez ces animaux, on retrouve peu de lymphocytes intra-épithéliaux et une atrophie des plaques de Peyer. Cependant, l'inoculation d'une flore de souris conventionnelle rétablit le système immunitaire intestinal ce qui se traduit par une augmentation de cellules T, de plasmocytes et de lymphocytes intra-épithéliaux (158).

Les plasmocytes à IgA chez l'Homme augmentent parallèlement à l'acquisition progressive de la flore, atteignant leur population normale vers l'âge de deux ans. Afin d'expliquer le rôle de la flore sur le développement de ces cellules immunitaires, des chercheurs ont procédé à l'inoculation de flore d'animaux conventionnels, âgés de 1 à 25 jours, chez des animaux axéniques (159). Chez les souris axéniques, avant inoculation, le nombre de plasmocytes à IgA par villosités est d'environ 4. Dans les 1 à 4 jours post-inoculation, ce nombre passe à 15, pour atteindre environ 43 chez les souris axéniques « âgées » de 25 jours. Pour obtenir un développement maximal des populations de plasmocytes, il s'est avéré nécessaire d'avoir une flore diversifiée et une alimentation équilibrée.

Le lien entre la microflore et le système immunitaire peut se démontrer avec un autre exemple. Ainsi, chez un enfant allaité par sa mère, les rotavirus déclenchent des diarrhées moins violentes que chez les enfants nourris au lait infantile. Des modèles de souris gnotoxéniques ont été utilisés afin d'en comprendre la raison (160). Un premier lot de souris possédait une flore comprenant *Escherichia coli* et *Bifidobacterium bifidum* et se rapprochant d'une flore d'un enfant allaité tandis qu'un autre lot de souris possédait une flore seulement composée d'*Escherichia coli* et mimant un enfant nourri au lait infantile. Vingt jours après l'ingestion de rotavirus chez ces animaux, l'analyse du taux d'anticorps IgA anti-rotavirus a montré que ceux-ci étaient 4 fois plus abondants chez les souris possédant une flore d'enfant allaité. Ainsi, *Bifidobacterium bifidum*, contrairement à *Escherichia coli*, exerce un effet stimulateur sur les réponses IgA et favorise la production de mucus protecteur (161). Ces effets sont souches-dépendants.

La flore intestinale fait partie des facteurs influençant le mécanisme de la tolérance orale. Pour mettre en évidence ce processus, trois populations de souris, axéniques, à flore humaine ou à flore conventionnelle, ont été étudiées. Une moitié de ces souris a été gavée avec une protéine alimentaire, l'ovalbumine (OVA), et l'autre gavée avec un tampon (162). Une semaine plus tard, ces souris ont été immunisées par voie systémique avec cette protéine. Ensuite, les réponses immunes anti-OVA des trois populations gavées ou non-gavées ont été comparées afin de déterminer si une tolérance orale a eu lieu. Chez la souris axénique, la

tolérance orale est induite suite à un gavage OVA mais, à l'inverse d'une souris possédant une flore d'Homme ou conventionnelle, la suppression de la réponse IgA anti-OVA est transitoire. En effet, elle dure une dizaine de jours chez la souris axénique et cinq mois chez la souris conventionnelle (163). De plus, sur trois bactéries testées, deux sont capables de restaurer un pouvoir de suppression de réponse anti-OVA durable chez la souris axénique, *Escherichia coli* et *Bacteroides*, contrairement à *Bifidobacterium bifidum* qui n'a aucun effet (164). L'élément clef dans ce processus de tolérance orale est que la flore soit présente depuis la naissance. D'autres voies d'activation sont régulées pour qu'un individu puisse tolérer sa propre flore intestinale, notamment la voie NF- $\kappa$ B, responsable de la synthèse de cytokines inflammatoires. En effet, une équipe a montré que la flore intestinale activait le récepteur PPAR $\gamma$  qui permettait de bloquer l'activation de la voie NF- $\kappa$ B et donc l'apparition de phénomènes inflammatoires (165).

Tous ces résultats tendent à montrer l'importance d'un environnement bactérien riche et diversifié autour de l'enfant pour permettre la mise en place de la tolérance orale. Les mécanismes exacts de la flore sur la tolérance orale ne sont pas encore totalement définis. Les cellules dendritiques et certaines cellules T seraient en responsable de tolérance orale *via* leur sécrétion de cytokines anti-inflammatoires (IL-10) empêchant l'activation des cellules T (166).

### III. Dysbiose intestinale et pathologies associées :

#### a. Définition et généralités :

Une dysbiose intestinale est définie comme étant une perturbation des différentes populations bactérienne composant la flore intestinale pouvant entraîner des troubles fonctionnels. Les causes de ce désordre microbien sont multiples et souvent complexes dans leurs mécanismes d'action. Citons parmi ces perturbateurs des différents facteurs de contrôles de la flore vu précédemment, les antibiotiques, grands déstabilisateurs de la flore et qui favorisent le développement d'espèces résistantes au détriment des bactéries commensales. Ces désordres aboutissent à l'apparition de nombreux troubles pouvant être d'une grande sévérité et allant de la simple diarrhée au « leaky gut syndrom », en passant par le diabète. Pourtant, la dysbiose intestinale reste une pathologie mal connue car difficile à diagnostiquer à son début. Etant donné que plus de 15% de la population serait victime de ces troubles, il est nécessaire d'en comprendre les mécanismes physiopathologiques sous-jacents dans le but de contrôler les dysbioses.

#### b. Le « Leaky Gut Syndrom » ou syndrome de l'intestin perméable :

Le leaky gut syndrom (LGS) est un phénomène complexe défini comme étant l'apparition d'une hyperperméabilité intestinale se traduisant par une ouverture des jonctions serrées liant les cellules épithéliales permettant l'entrée de molécules ou de microorganismes. Plusieurs causes physiologiques du LGS existent comme l'ischémie intestinale suite à des efforts physiques longs et intenses, des périodes de jeûne prolongées ou l'immaturité intestinale. Certaines espèces bactériennes sont aussi capables de moduler la perméabilité intestinale. Ainsi, *Escherichia coli* ou *Streptococcus viridans* sont capables d'engendrer une hausse de la perméabilité intestinale, tandis que *Lactobacillus brevis* en diminue la perméabilité (167). Une dysbiose peut donc être à l'origine d'un LGS et entraîner plusieurs complications.

#### **Entrée de molécules :**

S'il existe une hyperperméabilité, l'échantillonnage des antigènes par les cellules immunitaires se voit débordé par l'entrée massive d'antigènes à travers les jonctions ouvertes. Cette abondance de molécules, normalement bien tolérées, entraîne de nombreux stimuli provoquant des désordres du système immunitaire, c'est l'atopie. Les multiples allergènes rencontrés vont notamment provoquer une augmentation du mimétisme moléculaire, encore appelé auto-immunité. De plus, il y aura une formation accrue de complexes immuns, favorisant des phénomènes allergiques et/ou inflammatoires. Par exemple, chez les personnes intolérantes au lactose, on retrouve des jonctions serrées poreuses, permettant alors un passage accru d'antigènes et il en va de même chez les personnes allergiques au lait de vache. Un intestin perméable va permettre de faire entrer également certaines toxines, plus ou moins antigéniques. Cette surcharge de toxines pourra être la cause d'apparition de plusieurs troubles, comme des désordres au niveau de la détoxification hépatique. De plus, chez les patients atteints de dysbiose, certains aliments partiellement digérés pourront également faire leur entrée par l'intermédiaire des jonctions ouvertes. Dès lors, des antigènes alimentaires pourront pénétrer et être à la base d'allergies alimentaires.

## Entrée de microorganismes :

Certains micro-organismes sont capables de traverser la muqueuse épithéliale pour se retrouver dans la lamina propria et ensuite éventuellement migrer vers d'autres tissus. Ce phénomène est appelé translocation bactérienne. Suite à un déséquilibre de l'environnement intestinal, certaines bactéries peuvent anormalement proliférer, et s'il existe une hyperperméabilité intestinale, celles-ci peuvent être la cause de différentes complications comme des dégâts tissulaires ou encore un choc septique. Hormis les bactéries, le phénomène de translocation peut aussi concerner les espèces fongiques, en particulier le genre *Candida* mais également certaines amibes comme *Entamoeba histolytica*.

Le LGS, par son phénomène d'imperméabilité, peut être la cause de nombreuses plaintes et entraîner l'apparition de plusieurs pathologies. Malgré tout, les mécanismes du leaky gut et ses liens avec ces maladies, comme les MICI ou les allergies, restent à éclaircir.

### *c. Proliférations bactériennes :*

Une multiplication exagérée de certaines bactéries commensales à la suite d'un déséquilibre des moyens de contrôle de la flore peut être responsable de désagréments sur la santé de l'hôte. Hormis les infections bactériennes « classiques », on traitera surtout ici des proliférations excessives de microorganismes.

### Pullulation bactérienne au niveau de l'intestin grêle :

Lors de ce syndrome, en anglais SIBO pour Small Intestine Bacterial Overgrowth, on retrouve dans l'intestin grêle des espèces bactériennes qui sont normalement présentes au niveau du côlon. Si la plupart des proliférations exagérées sont asymptomatiques, elles peuvent parfois entraîner certaines affections.

Un cas clinique d'une patiente ayant un syndrome du côlon irritable depuis l'enfance avec une augmentation des plaintes illustre ces affections. Les différents symptômes rencontrés sont notamment une diarrhée chronique et une perte de poids. A la prise de sang, la patiente présentait un taux sérique de vitamine B12 anormalement élevé en ne prenant aucun complément vitaminique. On sait que *Klebsiella* ou *Pseudomonas*, genres le plus souvent retrouvés modérément dans la flore colique, synthétisent de la vitamine B12 qui n'est pas résorbée dans le côlon (168). Mais, si ces espèces se trouvent dans l'intestin grêle, la vitamine B12 y est largement absorbée. Plusieurs dosages sanguins ont mis en évidence que le taux de vitamine B12 augmente de manière parallèle aux ressentis de la patiente. À la suite de cette hypothèse, une prise en charge intestinale par différents médicaments et régimes a permis de corriger le taux de vitamine B12 et d'effacer les plaintes de la patiente.

Le SIBO est souvent lié à différentes pathologies, telle que le syndrome du côlon irritable, mais également dans un tiers des cas de cirrhose hépatique où la prolifération est un facteur de gravité (169). Le SIBO intervient aussi dans la diarrhée chronique dans laquelle une étude l'incrimine dans plus d'un quart des cas, ou dans la maladie cœliaque lente. L'une des principales causes favorisant le SIBO est l'hypochlorhydrie gastrique, souvent consécutive à la prise d'inhibiteurs de la Pompe à Protons comme l'oméprazole, rendant alors le pH de l'appareil digestif plus élevé et donc moins sélectif vis-à-vis de certaines souches bactériennes (170). D'autres étiologies du SIBO dues aux bactéries existent comme une immunostimulation insuffisante ou une insuffisance de sécrétions exocrines du pancréas.

### La diverticulite :

La diverticulite est une complication d'une maladie appelée diverticulose (Figure 41) se caractérisant par l'apparition d'hernies traversant la paroi musculaire de l'intestin, principalement dans le sigmoïde. On la retrouve fréquemment chez les personnes de plus de cinquante ans et est souvent asymptomatique. La diverticulite est une inflammation correspondant à l'infection des diverticules par des bactéries commensales dont la prolifération est accrue et entraînant un épaissement de la paroi intestinale. Les principales complications de la diverticulite sont une occlusion, une perforation, l'apparition d'abcès et des hémorragies. L'antibiothérapie reste essentielle dans certains cas, et l'utilisation de probiotiques permet de prévenir le caractère récurrent de la diverticulite (171).



*Figure 41 Visualisation de la diverticulose*

### Les bactéries saccharolytiques :

Afin de diagnostiquer la croissance surabondante de bactéries saccharolytiques, il est possible de rechercher des douleurs sur le côté droit de l'abdomen, en particulier dans la fosse iliaque droite, par une palpation. Le principal symptôme est un ballonnement, accompagné d'une émission accrue de gaz, malodorants ou non. La cause principale de cette croissance exagérée est l'alimentation. En effet, un régime alimentaire constitué de beaucoup de fibres et de glucides est responsable de la prolifération des bactéries douées de capacité de fermentation créant alors un déséquilibre de la microflore.

### Les bactéries protéolytiques :

C'est au niveau du côlon gauche que l'on retrouve les bactéries protéolytiques et, par palpation ou ressenti par le patient, il est possible d'émettre l'hypothèse d'une croissance surabondante de ces microorganismes. L'émission de gaz nauséabonds est souvent retrouvée mais la majorité des signes cliniques ne sont pas caractéristiques. Des douleurs ou des ballonnements peuvent être présents mais l'indice permettant de guider vers ce diagnostic est, encore une fois, l'alimentation. Une consommation accrue de protéines fournit une plus grande quantité d'acides aminés pour les bactéries protéolytiques et amènera à leur prolifération exagérée.

### Les bactéries sulfato-réductrices :

La majorité des bactéries sulfato-réductrices productrices de sulfure se retrouvent dans le sigmoïde et le rectum, car les mucines du côlon possèdent plus de sulfate (172). Le sulfure d'hydrogène est un composé toxique vis-à-vis de la muqueuse intestinale. Il ne permet pas l'oxydation du butyrate, et cette inhibition est susceptible d'être une des origines de la rectocolite hémorragique (173). D'ailleurs, lors d'anastomose iléo-rectale (geste chirurgicale utilisé dans le traitement de la recto-colite) le rectum du patient est remplacé par une poche, qui peut se faire coloniser par des bactéries sulfato-réductrices (pathologie appelée pouchite), soulignant leur rôle potentiel dans la pathogenèse de la maladie. En effet, ces bactéries ne sont pas retrouvées lors d'anastomose du même type dans la polypose adénomateuse par exemple (174). Malgré ces faits, les causes bien définies de la rectocolite hémorragique restent à débattre. Les bactéries sulfato-réductrices font aussi l'objet d'un débat dans la spondylarthrite ankylosante, où, dans les selles des patients atteints, leur population est fortement augmentée (175).

### Les bactéries méthanogènes :

Les bactéries méthanogènes sont rarement retrouvées en quantité plus importante que la normale, par contre leur diminution voire leur absence peut poser problème. Comme les bactéries sulfato-réductrices, elles sont le plus souvent rencontrées dans le sigmoïde et le côlon descendant. Les personnes africaines possèdent dans leur intestin une plus grande quantité de bactéries méthanogènes et un meilleur écosystème intestinal (176). De plus, ces populations présentes moins de cas de maladies inflammatoires intestinales. Les bactéries méthanogènes sont inactivées par les acides biliaires primaires (177), cela expliquerait les liaisons entre certaines maladies (obésité, transit rapide), les habitudes alimentaires et l'absence de ces bactéries.

### Proliférations fongiques et parasitaires :

#### **Proliférations fongiques :**

*Candida* est le genre fongique majoritairement retrouvé dans le système intestinal (178). C'est un genre commensal dont la prolifération peut amener à l'apparition de nombreuses pathologies, moins graves chez les personnes immunocompétentes. Chez les personnes immunodéprimés, *Candida albicans* devient capable de traverser la barrière intestinale par translocation et de provoquer par la suite des infections disséminées (candidose systémique) dans l'organisme(179). Dans cette population, l'issue de ces infections est souvent fatal. Ces dernières années, les cas d'infections fongiques par le genre *Candida* s'accroît fortement en soins intensifs pédiatriques. Hormis *Candida albicans*, d'autres espèces comme *Candida parapsilopsis* ou *Candida tropicalis* sont concernées par l'apparition d'infection potentiellement graves selon le statut immunitaire. D'autres espèces fongiques sont également responsables d'infection du tractus intestinal, parmi elles *Blastoschizomyces capitatus* ou *Saccharomyces cerevisiae* qui n'est autre que la levure de bière.

Hormis les *Candida*, des microsporidies ont été décrites chez l'homme., Ces champignons pathogènes intracellulaires strictes sont responsables d'infections opportunistes. Ainsi, la microsporidiose n'a été précisément décrite que à la suite de l'épidémie de SIDA, car c'est une pathologie qui se manifeste majoritairement chez les personnes fortement immunodéprimées. *Enterocytozoon bienewisi* est une espèce souvent responsable de

microsporidiose, Elle entraîne des diarrhées générant une malnutrition, une déshydratation et un amaigrissement, avec une atteinte possible des voies biliaires. D'autres symptômes comme des kératites, des néphrites ou des hépatites peuvent être occasionnés par plusieurs espèces de microsporidies tel que *Encephalitozoon intestinalis* (180).

### **Proliférations des protozoaires :**

Les principaux protozoaires pathogènes retrouvés chez l'Homme sont les flagellés, les ciliés, les amibes et les sporozoaires. Certains protozoaires commensaux sont généralement inoffensifs mais leur prolifération exagérée génère des pathologies. Parmi les amibes, *Entamoeba histolytica* est responsable d'une maladie grave provoquant un syndrome dysentérique, des abcès hépatiques et des tumeurs coliques (181). On observe aussi d'autres amibes semblablement proches d'*Entamoeba histolytica* comme *Entamoeba coli* causant des dysentéries mais moins invasive ou *Entamoeba hartmanni* responsable d'arthrites (182).

Chez les flagellés, nous pouvons citer *Giardia intestinalis*, un parasite largement retrouvé chez l'Homme. Il est capable d'engendrer des troubles intestinaux tels qu'une diarrhée, des douleurs abdominales, des troubles anorexiques ou des vomissements (183). Un autre parasite, *Dientamoeba fragilis* est responsable de diarrhées aiguës, de perte de poids et il est suspecté d'être un des responsables du syndrome du côlon irritable (184).

*Balantidium coli*, responsable de la balantidiose, est le seul cilié pathogène de l'Homme. Bien que souvent de portage asymptomatique, il provoque parfois des symptômes tels qu'une colite chronique, des ulcères coliques ou une dysenterie (185). Ce parasite peut aussi se développer dans les poumons et dans le foie, provoquant des abcès et des issues parfois fatales.

Un autre protozoaire suspecté d'être une espèce favorisant l'apparition du syndrome de l'intestin irritable est *Blastocystis hominis*. Ce microorganisme est celui le plus fréquemment rencontré dans les selles humaines (186). Son implication en pathologie est controversée, car des études ont montré sa pathogénicité, mais d'autres le considèrent comme commensal. Les symptômes retrouvés ressemblent à ceux du syndrome de l'intestin irritable, à savoir des diarrhées, des douleurs abdominales ou encore des nausées.

Les sporozoaires peuvent se retrouver dans le système intestinal. *Isospora belli*, une coccidie, engendre souvent des diarrhées bénignes avec des poussées fébriles modérées chez l'immunocompétent. Cependant, chez les personnes immunodéprimées, leur état général s'aggrave suite aux diarrhées sévères pouvant alors provoquer la mort (187). *Cryptosporidium parvum* est également retrouvée chez l'Homme car c'est une espèce pathogène zoonotique présente assez fréquemment dans les eaux récréatives et de distribution (188). On estime que l'infection par *Cryptosporidium parvum* est l'une des principales causes mondiales de diarrhées. En effet, les diarrhées sont sévères, redoutable chez les personnes immunodéprimées, pouvant aller jusqu'à 12 litres par jour et entraîner la mort par déshydratation.

#### *d. Relations entre la dysbiose et les troubles neurologiques :*

La flore intestinale, malgré sa localisation, est responsable d'actions diverses sur le système nerveux central et ses perturbations peuvent être à l'origine de certaines modifications de comportements. On va présenter ici les liens entre la microflore et le cerveau ainsi que différents troubles du comportement.

## **Le « gut/brain axis » :**

Le « gut/brain axis », GBA ou axe intestin/cerveau, consiste en une communication bidirectionnelle entre le système nerveux central (SNC) et le système nerveux entérique (rappelons que plus de 200 millions de neurones sont répartis tout au long de l'intestin, faisant de celui-ci un véritable « deuxième cerveau »), mettant en lien les centres cognitifs et émotionnels avec les fonctions intestinales. Les voies de communications microbiote/cerveau ou cerveau/microbiote se font par l'intermédiaire de moyens neuronaux, endocriniens, immunitaires et humoraux. Ce véritable réseau de communication comprend donc le SNC, cerveau et moelle épinière compris, le système nerveux autonome (SNA), le système nerveux entérique (SNE) et l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS).

Le SNA, comprenant le sympathique et le parasympathique, conduit les signaux afférents, provenant de la lumière intestinale et transmis par des voies entériques, spinales et vagues au SNC, et des signaux efférents du SNC vers la paroi intestinale. L'axe HHS est considéré comme étant l'axe principal du stress, qui coordonne les réponses adaptatives de l'organisme face aux facteurs de stress environnementaux (189). C'est une zone cruciale du cerveau, impliqué principalement dans la mémoire et les réponses émotionnelles. Le stress environnemental ainsi que des concentrations systémiques élevées de cytokines pro-inflammatoires vont activer ce système qui, par une sécrétion de corticotropine (CRF) dans l'hypothalamus, va activer la sécrétion par l'hypophyse d'hormone corticotrope (ACTH) qui, à son tour, stimulera les glandes surrénales pour libérer du cortisol, l'hormone majeure du stress. L'émergence de cette notion de GBA est apparue il y a une vingtaine d'années, après l'observation d'amélioration souvent spectaculaires de patients atteints d'encéphalopathie hépatique traités par antibiotique (190).

La dysbiose, en plus d'induire des troubles intestinaux, est souvent associée à des troubles de l'humeur, en lien avec un déséquilibre du GBA (191), provoquant alors une dérégulation de la motricité intestinale et des différentes sécrétions. Cela conduit à des hypersensibilités viscérales et donc des altérations cellulaires entéro-endocriniennes et immunitaires pouvant mener au développement du syndrome de l'intestin irritable par exemple. De plus, l'hypersensibilité viscérale du syndrome de l'intestin irritable peut être induite chez des souris axéniques en inoculant une microflore de personne atteinte (192). La dysrégulation du GBA associée à un déséquilibre de la flore ont amené à penser que le syndrome de l'intestin irritable est une conséquence de ces phénomènes (193).

La colonisation de l'intestin par les bactéries est essentielle au développement et à la maturation à la fois du SNE mais également du SNC (194). L'absence de colonisation microbienne entraîne une altération de l'expression et du renouvellement des neurotransmetteurs dans les deux systèmes (195). On y retrouve une diminution des fonctions sensori-motrices, comme une vidange gastrique retardée, et/ou une réduction du complexe moteur migrant (196). Ces anomalies neuromusculaires sont associées à une réduction de l'expression génique d'enzymes impliquées dans la synthèse et le transport des neurotransmetteurs (46). Toutes ces fonctions altérées sont restaurées si une colonisation bactérienne suffisante a lieu.

Des études portées sur l'animal axénique ont montrés que ces animaux présentent une anxiété diminuée (197) et une réponse augmentée au stress après injection avec des concentrations élevées d'ACTH et de cortisol (198). La colonisation de l'intestin par les bactéries entraîne une normalisation du GBA seulement si la colonisation a lieu chez les très jeunes souris. En

effet, la réversibilité de l'effet n'est observée que dans ce cas précis, soulignant la présence d'une période cruciale durant laquelle la plasticité neuronale est modulée par la microflore. En parallèle, les souris axéniques présentent des troubles de la mémoire (199), probablement dus à une altération de l'expression du BDNF, le facteur neurotrophique dérivé du cerveau, molécule essentielle dans les phénomènes mnésiques. En effet, ce facteur est impliqué dans la réparation, la régénération et la différenciation au niveau du cortex cérébral et de l'hippocampe. Pour finir, le microbiote module le système sérotoninergique, car une augmentation du turn-over de la sérotonine et des concentrations fluctuantes de métabolites associés ont été retrouvés dans le système limbique de souris axéniques (200).

Le microbiote joue sur l'anxiété et le HHS en influençant la neurochimie cérébrale (201). En effet, un traitement chronique à base de souches de *Lactobacillus rhamnosus* JB-1 induit des altérations régions-dépendantes de l'ARNm GABA dans le cerveau. À la suite du traitement, l'expression de la sous-unité du récepteur GABA, GABA<sub>B1b</sub> pouvant provoquer l'anxiété, est augmentée dans les régions corticales et prélimbiques, alors qu'il diminue dans l'hippocampe, le complexe amygdalien et dans le locus coeruleus. La sous unité GABA<sub>A $\alpha$ 2</sub> est diminuée dans le cortex préfrontal et le complexe amygdalien, mais augmentée dans l'hippocampe. Ainsi, la souche bactérienne *Lactobacillus rhamnosus* JB-1 réduit l'anxiété, le stress induit par le cortisol et les comportements dépressifs (202). De plus, l'utilisation d'antibiotiques (néomycine, bacitracine, natamycine) chez des souris exempts de pathogènes spécifiques, a amélioré le comportement exploratoire et l'expression hippocampique du BDNF (203). En outre, un complexe de probiotiques (VSL#3) utilisé chez la souris entraîne une augmentation de l'expression du BDNF, une atténuation des altérations de l'hippocampe (204) liées à l'âge et une réversion de l'hypersensibilité viscérale induite par la séparation maternelle néonatale (modèle de stress de souris provoquant un syndrome de l'intestin irritable) (205).

La communication entre le microbiote et le cerveau implique le nerf vague, qui transmet les informations de la lumière intestinal au SNC. En effet, les actions neurochimiques et comportementales ne sont pas présentes chez la souris vagotomisée, identifiant le nerf vague comme la principale voie de communication modulatrice entre la flore et le SNC (202). Dans un modèle de colite chronique associé à un comportement anxieux, l'effet anxiolytique obtenu suite à l'utilisation de *Bifidobacterium longum* est absent chez les souris qui ont été vagotomisées avant l'induction de la colite (206).

La microflore interagit avec le GBA à travers de multiples mécanismes. Un des principaux consiste en une modulation de la barrière intestinale, dont la perturbation peut influencer les compartiments sous-jacents. Certains probiotiques permettent de restaurer l'intégrité de la barrière et d'engendrer une atténuation de l'axe HHS et du SNA, paramètres qui ont été confirmés grâce aux concentrations plasmatiques de cortisol et de catécholamines retrouvées. Les probiotiques préviennent également de possibles troubles concernant à la fois la neurogenèse hippocampique et des gènes impliqués dans la plasticité synaptique (207). D'autre part, *Lactobacillus reuterii* interagit avec le GBA en modulant les nerfs sensitifs afférents et joue sur leur sensibilité. Elle inhibe l'ouverture des canaux potassiques dépendant du calcium et peut donc influencer la motilité intestinale ou la perception de la douleur (208). Le microbiote agit également sur l'activité du SNE par l'intermédiaire de ses métabolites. Certains d'entre eux peuvent agir en tant que neurotransmetteurs locaux comme le GABA, la sérotonine ou l'acétylcholine (209). La flore peut aussi produire des formes de catécholamines biologiquement actives dans l'intestin (210).

L'influence du régime alimentaire, qui entraîne la production de certains métabolites bactériens, sur le comportement est constatée chez la souris. Par exemple, des souris nourries avec un régime composé de 50% de bœuf hachée maigre hébergent une plus grande diversité bactérienne au niveau intestinal que les souris recevant une nourriture classique. Les souris nourries au bœuf présentent aussi une augmentation de l'activité physique, une meilleure mémoire et un comportement moins anxieux que les autres souris (211).

L'inflammation accrue des muqueuses induite chez des souris, après un traitement antibiotique, augmente l'expression de la substance P (un neuropeptide impliqué dans l'humeur, l'anxiété ou encore les nausées) dans le SNE. Cependant, ces effets sont normalisés après la prise de probiotique, *Lactobacillus paracasei* (212).

Le GBA peut lui aussi interagir avec la flore. En effet, un stress social engendré expérimentalement sur des souris, pendant seulement deux heures, réduit le nombre total de bactéries présentes dans le système intestinal (213). Ces effets seraient médiés par le SNA et l'HHS suite à des interactions hôte-bactéries et des changements de conditions environnementales. Les communications s'effectuant entre les effecteurs du SNC et la microflore nécessite la présence de récepteurs à certains neurotransmetteurs sur les bactéries. En effet, une haute affinité de *Pseudomonas fluorescens* pour le système GABA existe et le mécanisme de liaison est similaire à celui des récepteurs cérébraux (214). D'autre part, la souche O157:H7 possède un récepteur de l'adrénaline/noradrénaline pouvant être bloqué par des antagonistes adrénergiques (215).

### **L'autisme :**

L'autisme est défini par l'OMS comme étant un trouble envahissant du développement affectant les fonctions cérébrales. Caractérisé par une perturbation des relations sociales, un trouble de la communication et du développement, l'autisme toucherait une personne sur cent cinquante.

Plusieurs équipes se sont intéressées à la flore intestinale et son lien avec le trouble autistique car ce n'est pas le premier cas de modification de comportement induit par la microflore. Par exemple, lorsque *Toxoplasma gondii* infecte un rongeur, il provoque chez celui-ci la perte de sa peur innée de l'urine de lynx, son prédateur (216). De ce fait, le rongeur n'évite plus les territoires marqués par le lynx et se fait plus facilement attraper. *Toxoplasma gondii* est ensuite propagé dans les selles du lynx et peut contaminer un nouveau rongeur ce qui clos le cycle du parasite. Chez l'Homme, *Toxoplasma gondii* est potentiellement responsable de changement de comportement, tel que la perte du « self control » et augmente les comportements à hauts risques (217). D'autres affections neuropsychiques ont été mises en lien avec des infections avec *Brucella suis* ou *Leptospira spp.* De plus, comme nous l'avons vu, les souris axéniques développent plus facilement des troubles anxieux, suggérant à nouveau la pression des populations composant la flore intestinale sur le comportement (197). Un modèle de souris présentant un trouble autistique a été traité avec l'inoculation de *Bacteroides fragilis*, une bactérie commensale. Hormis la restauration de la perméabilité intestinale, *Bacteroides fragilis* a provoqué une amélioration de la communication, du comportement anxieux et des comportements stéréotypés des souris traitées (218).

Comme on l'a vu également, la flore de l'enfant atteint la composition de celle d'un adulte vers l'âge de deux ans et l'autisme est le plus souvent diagnostiqué entre un et trois ans. Cela ne pourrait être qu'une coïncidence mais il s'est avéré que les enfants autistes présentaient des

variations de populations dans leur flore avec une plus grande quantité de clostridies (219). Dans les selles de ces enfants, une hausse de la population de *Bacteroidetes vulgatus* a été constatée, mais pas dans la flore intestinale. Une autre étude a montré une diminution de *Prevotella* et *Coprococcus*, deux espèces fermentantes (220). Ces variations de populations bactériennes ont été retrouvées chez tous les enfants autistes, qu'il y ait présence de symptômes digestifs ou non, et aucun enfant ne présentait d'habitudes alimentaires particulières. Chez ceux présentant des symptômes digestifs, on a retrouvé le genre *Desulfovibrio* dans les selles, ou encore *Sutterella spp*, et ces microorganismes ne sont pas retrouvés chez des personnes non autistes présentant les mêmes symptômes (221). Chez les enfants autistes, des désordres métaboliques ont été retrouvés, comme une élévation de l'acide propionique, un des chefs de file des métabolites susceptible de provoquer des troubles autistiques (222), une élévation de l'oxalate, de para-crésol, des perturbations dans le métabolisme de la créatine ou encore une déficience en tryptophane. Certains de ses paramètres seraient en partie modulés par la flore. En effet, une accumulation de *Pseudomonas stutzeri* entraîne une élévation de para-crésol (223) et l'acide propionique est produit par certains clostridies. A l'inverse, une autre étude comparant des enfants présentant un trouble autistique ainsi que des symptômes digestifs et des enfants présentant uniquement des symptômes digestifs n'a montré aucune différence majeure entre les différentes flores (224), soulignant l'importance de la compréhension des mécanismes entre la flore et l'hôte. Les différents paramètres pouvant provoquer des troubles autistiques, comme l'usage d'antibiotique chez les nouveau-nés ou l'auto-anticorps maternel entraînant une sévère réaction allergique chez le fœtus, restent nombreux et ont été tous vérifiés par de nombreux travaux, suggérant la multiplicité des facteurs pouvant être mis en causes dans l'autisme et donc la complexité de celui-ci.

### **Les troubles du comportement alimentaire :**

L'anorexie mentale est un trouble du comportement alimentaire touchant essentiellement les femmes. Les mécanismes physiopathologiques sont mal connus et les facteurs de risques font l'objet de nombreux travaux. Ce trouble se manifeste généralement chez les femmes entre 14 et 17 ans, avec une prévalence maximale à 16 ans. Suite aux nombreuses complications entraînées par la maladie, 5% d'entre elles vont décéder. De précis critères cliniques permettent de diagnostiquer la maladie, comme la façon de s'alimenter, le poids ou encore l'absence de règles depuis au moins trois mois. Deux types d'anorexie mentale sont distinguées, le comportement restrictif, où les patients se privent de nourriture, et le comportement boulimique, phase où les patients absorbent d'énorme quantité de nourriture en peu de temps, suivi d'un sentiment de honte et de vomissements provoqués.

Aujourd'hui, il est admis que la microflore joue un rôle déterminant dans les mécanismes physiopathologiques de l'obésité, c'est pourquoi des chercheurs ont effectués des travaux portant sur la flore intestinale de patientes atteintes d'anorexie mentale (225). Cette étude est portée sur deux catégories de patientes, d'abord les femmes atteintes d'anorexie mentale (AM), y compris anorexique restrictive (AMR) et boulimique (AMB). Le deuxième groupe de patientes est un groupe témoin, où les femmes ne présentent pas de troubles et sont en parfaite santé. Chez les patientes AM, le nombre de bactéries totales est très amoindri par rapport à celui concernant le groupe témoin, particulièrement des bactéries anaérobies comme *C. coccoides*, *C. leptum* mais aussi *B. fragilis* et *Streptococcus*. De plus, les concentrations en acétate et propionate sont diminuées de façon significative chez les patientes AM. Le propionate serait une molécule « anti-obésité », ayant un rôle dans la satiété (226).

Dans d'autres travaux, , *Methanobrevibacter smithii*, est présente chez les patientes atteintes d'anorexie en quantité bien plus importante que la normale (227), soulignant la possible influence exercée par cette espèce sur l'organisme. En parallèle la transplantation de *Christensenella minuta*, une espèce faisant partie de la famille des *Christensenellaceae*, dans des animaux axéniques réduit la prise de poids des souris en modulant leur microbiome. Ces résultats soulignent qu'une dysbiose intestinale est bien présente dans les troubles anorexiques.

Malgré ces nombreux travaux qui mettent en évidence la dysbiose comme un facteur d'apparition de l'anorexie, la nature exacte des mécanismes physiopathologiques mis précisément en jeu est difficile à déterminer car plusieurs limites existent comme la diversité des bactéries pouvant être impliquées ou la non-détection de bactéries abondantes.

L'obésité est un trouble multifactoriel qui se résume en une accumulation de tissu adipeux. Certains paramètres susceptibles de provoquer l'obésité, comme l'accouchement par césarienne, présentent également des effets sur la composition de la microflore et pourrait être le lien causal de la maladie. (228). L'obésité est causée par un déséquilibre de la balance consommation/dépense d'énergie, mais certains facteurs favorisant ce désordre restent à éclaircir. Plusieurs études ont montré, chez des patients obèses, une diminution des *Bacteroidetes* au profit des *Firmicutes* (229). D'autres changements de composition microbienne sont également constatés et parmi les espèces concernées, *Clostridium innocuum*, *Eubacterium dolichum*, *Lactobacillus reuteri*, *Actinobacteria*, et des archées comme *Methanobrevibacter smithii* sont retrouvées dans des proportions différentes chez les personnes obèses (230). Cependant, les travaux concernant la dysbiose chez les personnes obèses ne sont pas assez nombreux pour démontrer que la microflore soit responsable à elle seule de ce désordre. De plus, il est difficile de savoir si c'est la flore intestinale qui entraîne l'obésité ou si c'est l'obésité qui entraîne une modification de la microflore, car différents apports alimentaires peuvent favoriser l'obésité ou la croissance par sélection de certaines espèces bactériennes. D'autre part, l'étude de la microflore de jumeaux discordants par leur IMC a révélé une diminution des *Bacteroidetes* et une augmentation quantitative des *Actinobacter* chez le jumeau obèse. Par contre, aucune différence significative de population parmi les *Firmicutes* n'est observé (231).

À la suite de l'inoculation d'une microflore de personne non obèse à une souris axénique, les populations bactériennes se multiplient de façon « normale ». Inversement, l'inoculation d'une flore de personne obèse entraîne chez la souris axénique un développement d'une obésité, mais ne suffit pas à elle seule à expliquer ce phénomène (232). Par ailleurs, l'inoculation d'une flore de personne non obèse chez une souris déjà inoculé par une flore de personne obèse permet de prévenir partiellement le développement de l'obésité, mais seulement si la flore bactérienne est dépourvue de substrats riches en graisses ou en fibres. En effet, suivant l'introduction de ces aliments dans les deux populations de souris (obèse et non obèse), la masse musculaire et la masse graisseuse augmentent, même dans la population de rongeurs « traités » par la flore d'une personne non obèse. Ces apports alimentaires favoriseraient la croissance d'une espèce bactérienne, *Clostridium ramosum* qui est capable d'induire un développement de l'obésité en fonction des aliments ingérés chez la souris axéniques (233). De plus, cette bactérie augmente l'expression de Glut2, un transporteur de glucose, au niveau de la muqueuse du jéjunum et celle de Cd36, une translocase des acides gras. Ces deux augmentations sont susceptibles d'être impliquées dans le développement de l'obésité.

Le comportement alimentaire lié à l'obésité peut aussi être modulé par la flore intestinale. En effet, une altération du goût pour le gras et le sucré sont observée chez la souris axénique (234). Par exemple, les souris axéniques consomment plus de sucres que les souris conventionnelles et un régime gras et riche en fibre entraîne chez les souris axénique une hyperphagie. Ce phénomène s'explique par une diminution de l'activation des neurones vagues afférents (235). Un des mécanismes de cette baisse d'activation s'expliquerait par une constante stimulation des TLR-4 des neurones afférents, induite par le LPS, les rendant alors insensibles aux effets de la leptine, l'hormone de la satiété, mais aussi vis-à-vis des CKK, hormones anorexigènes (236). Le TLR-5 serait aussi concerné car la transplantation de flore fécale de souris dépourvues de TLR-5 à des souris axéniques entraîne dans cette dernière population des caractéristiques similaires comme l'hyperphagie (237). D'autre part, certains produits bactériens, comme les AGCC, sont capables de moduler la sécrétion de peptides de la satiété et l'expression de leurs gènes, notamment le glucagon like peptide-1 (GLP-1) et le peptide YY, soumettant dès lors l'hypothèse que la flore soit capable de moduler la satiété (238). Chez l'Homme, les concentrations fécales d'AGCC chez les personnes obèses sont nettement inférieures (environ 20%) à celles observées chez des personnes non obèses. Cependant, le propionate est retrouvée en grande quantité chez les personnes obèses, soulignant son rôle potentiel dans l'apparition de l'obésité.

Malgré tous ces travaux, il est difficile de rendre pour seul responsable la microflore comme étant la cause majeure d'obésité. Même si certains probiotiques sont efficaces contre le développement de l'obésité, l'identification exacte des populations bactériennes coupables d'entraîner ces différents mécanismes physiopathologiques restent à découvrir.

#### *e. Microflore et diabète :*

Le diabète est une maladie métabolique affectant de plus en plus de personnes dans le monde. En 2014, selon l'OMS, plus de 422 millions de personnes en sont atteintes, contre 108 millions en 1980.

Le diabète de type 1, ou insulino-dépendant, est défini par une production insuffisante d'insuline. En plus de son caractère génétique, de nombreux facteurs participent à l'activation d'une réaction immunitaire contre les cellules  $\beta$  du pancréas et en particulier le facteur environnemental. De plus, les augmentations des cas de diabète de type 1 ne se manifestent pas de la même manière dans toutes les régions mondiales. En Finlande, l'augmentation du diabète se retrouve plus chez les enfants de 1 à 4 ans (239) alors qu'aux Etats-Unis c'est plutôt chez l'adolescent. Pour également appuyer le fait que l'environnement est un facteur majeur du diabète, la maladie se retrouve de plus en plus chez des personnes ne présentant aucun allèle connu de haut risque pour la maladie (240).

Une étude a montré que, sur des souris NOD, un modèle de souris diabétique, l'utilisation de probiotiques stabilise l'évolution de la maladie (241). En dépit de leurs effets délétères sur la flore et leurs mises en causes dans l'apparition du diabète de type 1 s'ils sont utilisés en période prénatale, certains antibiotiques réduisent aussi la fréquence d'apparition de la maladie (242). Ces études mettent en lumière le lien étroit entre un microbiote spécifique et l'apparition et/ou le développement du diabète. Par ailleurs, l'insulite, processus inflammatoire dégradant les cellules  $\beta$  et mécanisme majeur de l'absence de production d'insuline, se voit être accélérée dans un environnement dépourvu de microorganismes chez les souris NOD. Après qu'une espèce bactérienne de la flore d'une souris résistante au diabète, *Lactobacillus johnsonii*, ait été inoculée chez un modèle de souris ayant une forte

probabilité de développer un diabète (diabetes-prone BB), il s'est avéré que la bactérie permettait de protéger les souris de l'apparition de la maladie. D'autres travaux ont mis en évidence que l'auto-immunité vis-à-vis des cellules  $\beta$  est en lien avec des populations spécifiques de bactéries, soulignant l'influence de la flore sur l'organisme. Parmi ces bactéries, une diminution de *Clostridium leptum* ou une prolifération de *Bacteroides* ont été identifiées chez des personnes souffrant du diabète de type 1.

Le diabète de type 2, en particulier sa pathogénèse, est moins connu que celle du type 1. Pourtant, d'ici 2050, plus d'une personne sur trois sera victime de cette maladie. Aux États-Unis, le diabète de type 2 représente 95% des cas de diabètes. Certains facteurs génétiques ont été identifiés dans le diabète de type 2, mais ils ne peuvent à eux seuls provoquer l'apparition de la maladie, en effet les facteurs environnementaux jouent aussi un rôle non négligeable dans le diabète de type 2. Rappelons que certaines habitudes alimentaires comme la consommation de plats industriels ou les fast-foods, qui contiennent trop de sucres, trop de sel et trop de mauvaises graisses, favorisent l'apparition de la maladie. L'alimentation joue un rôle non négligeable dans la survenue du diabète (et d'autres pathologies) et l'obésité est fortement liée à la maladie diabétique. D'ailleurs, la chirurgie bariatrique, qui regroupe un ensemble de techniques, comme le by-pass ou l'anneau gastrique, consiste à diminuer l'apport de nutriments et de calories dans l'organisme dans le but de traiter l'obésité. Les gestes chirurgicaux pratiqués, le remodelage du système intestinal qui en suit et la finalité de la chirurgie bariatrique possèdent des effets complexes sur la microflore intestinale. Ces effets ont été remarqués suite à l'observation d'une diminution voire d'une élimination totale du diabète de type 2 et des risques cardio-vasculaires l'accompagnant chez les personnes obèses diabétiques traités par chirurgie bariatrique, avant même qu'une perte de poids significative due à l'opération ne soit constatée. Pour finir, chez la souris gnotobiotique, l'inoculation d'une microflore provenant d'un individu non-obèse non-diabétique permettait de prévenir les effets indésirables de la microflore provenant de personnes obèses.

#### f. Microflore et pathologies cardiaques :

##### L'athérosclérose :

L'athérosclérose est définie comme étant une conséquence du dépôt de plaques d'athérome dans les artères. Ces plaques sont le fruit d'un remaniement de l'intima des artères suite à une accumulation de lipides (cholestérol), glucides ou minéraux et sont responsables de la majorité des affections cardio-vasculaires. Bien qu'étant un processus normal de vieillissement des artères, des facteurs de risque tels que le tabac ou l'obésité favorisent l'apparition des plaques d'athérome.

Une équipe de chercheurs a récemment fait le lien entre la consommation certains nutriments alimentaires contenant de la choline/phosphatidylcholine ou de la L-carnitine, comme la viande rouge, le foie ou le jaune d'œuf, et l'apparition de la maladie (243). De plus, ils ont montré que la microflore produit de la triméthylamine (TMA) suite à la métabolisation de ces groupements contenus dans ces aliments. Ainsi, les bactéries du genre *Erysipelotrichia* sont capables de métaboliser la choline en TMA (Figure 42). Une fois absorbée par l'intestin, la TMA arrive dans le foie où la flavine monooxygénase 3, une enzyme hépatique, transformera la TMA en TMA-n-Oxyde (TMAO), un métabolite dont les taux élevés sont signes de pathologies cardiovasculaires. En effet, le TMAO facilite le développement et la propagation de l'athérosclérose. Chez la souris, une supplémentation en TMAO entraîne une accumulation de cellules spumeuses, des macrophages gonflées de graisse, responsables de l'apparition des

plaques d'athérome (244). D'autre part, le TMAO, ou ses précurseurs (choline, L-carnitine...), provoque une diminution du « reverse » transport du cholestérol, favorisant dès lors son dépôt dans les artères ou les intestins (245). De nos jours, le TMAO constitue un marqueur de choix des accidents cardiaques. Le TMAO provient essentiellement du métabolisme des bactéries, car les gènes humains identifiés dans la production de TMAO ne jouent qu'un rôle très minoritaire.

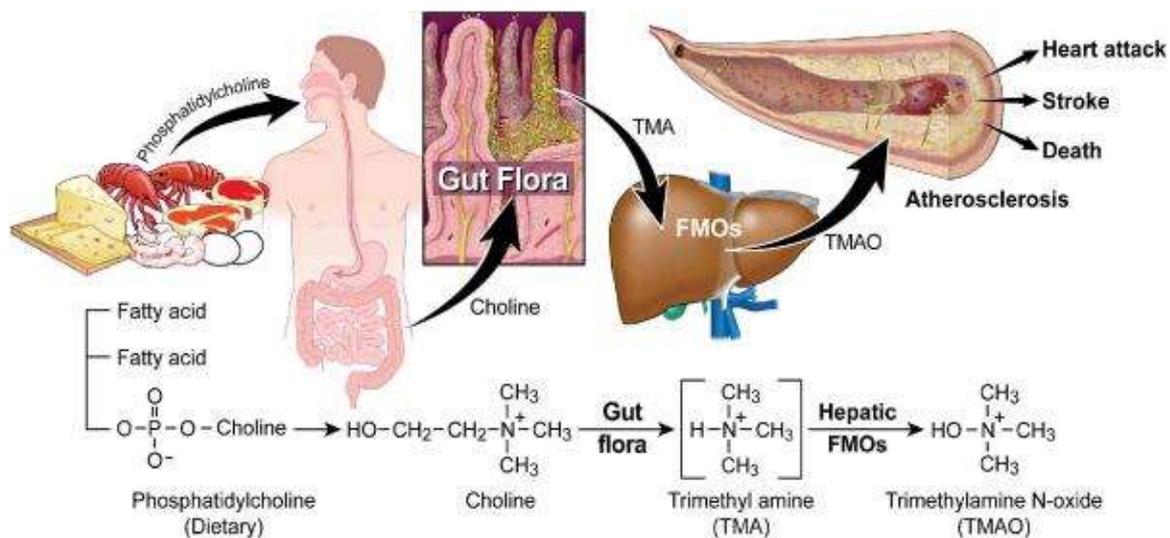


Figure 42 Relations entre la phosphatidylcholine alimentaire et la microflore intestinale (244)

TMA : triméthylamine  
TMAO : triméthylamine N-oxyde  
FMOs : flavin-containing monooxygénases

Peu d'études portant sur les différences de composition de la microflore intestinale entre des personnes saines et des personnes malades cardiaques, ont été effectuées. Cependant le genre *Collinsella* s'est vu retrouvé en grande quantité chez les personnes atteintes d'athérosclérose symptomatique, définie comme la présence de plaques d'athérome au niveau de l'artère carotide, pouvant alors mener à des accidents vasculaires cérébraux (246). Inversement, chez les personnes saines, des bactéries comme *Eubacterium* et *Roseburia* ont été retrouvées en plus grande quantité. Ces travaux soulignent que la présence anormalement abondante de certaines bactéries puisse être un facteur de risque de maladies cardiovasculaires.

Les conséquences de l'athérosclérose sont nombreuses et souvent graves, citons parmi elles l'insuffisance coronarienne, l'insuffisance cardiaque ou encore les AVC. Différents travaux basés sur un apport de probiotiques chez l'Homme ont permis de montrer qu'ils diminuent le risque d'accident vasculaire. Par exemple, dans une étude, *Lactobacillus plantarum* réduit le taux de cholestérol et diminue de 29% le risque d'infarctus du myocarde (247). D'ailleurs, durant ces mêmes travaux sur *L. plantarum*, les chercheurs ont montré que la microflore jouait un rôle non négligeable dans la sévérité de l'infarctus du myocarde. En effet, en utilisant la vancomycine, un antibiotique peu absorbable, pour moduler la flore, ils ont remarqué une diminution de 27% du risque d'infarctus et amélioré de 35% la fonction mécanique post-ischémique.

Les affections cardiaques causées par la flore ne se limite pas à l'adulte. Les cardiopathies congénitales font partis des premiers facteurs responsables de la mort prématuré d'enfants durant leur première année de vie. De plus, ces atteintes cardiaques néonatales constituent l'un des facteurs de risque d'entérocolite nécrosante, une urgence chirurgicale car elle provoque des ulcérations et des nécroses tout le long de l'intestin. Chez les enfants atteints de cardiopathies, la flore intestinale est différente en composition de celle d'enfants sains (248). Par exemple, une diminution des *Bacteroidetes* et des bifidobactéries est constatée dans la population malade. L'utilisation de probiotique, principalement *Bifidobacterium longum*, permet de diminuer l'inflammation dans l'entérocolite nécrosante, mais ne provoque sensiblement aucun effet sur l'ensemble des populations bactériennes présentes.

Les liens entre les mécanismes physiologiques et physiopathologiques intervenant dans les affections cardiovasculaires et la microflore intestinale devraient être visualisés comme un ensemble de conditions métaboliques spécifiques, plutôt que de généraliser par une étiologie commune.

### L'hypertension :

L'hypertension touche environ un quart de la population mondiale et serait la cause de plus de la moitié des accidents vasculaires cérébraux et cardiaques. L'hypertension artérielle est souvent multifactorielle et les différentes actions exercées par la microflore intestinales ne peuvent à elles seules expliquer l'apparition de la maladie. Cependant, des changements de populations bactériennes sont constatés entre des populations de patients atteints d'hypertension ou non. En effet, le ratio de population *Firmicutes/Bacteroidetes* se voit augmenté chez les rats atteints d'hypertension ou chez lesquels l'hypertension est angiotensine-II induite, mais c'est aussi vérifiable chez l'Homme (249). Le ratio augmente soit parce que les *Firmicutes* se développent beaucoup plus, soit parce que les *Bacteroidetes* diminuent en nombre. De plus, chez les personnes hypertendues, une diminution de la production d'AGCC, principalement le butyrate et l'acétate, a été constaté, et ces AGCC sont capables de moduler la tension artérielle liée aux nerfs sensoriels rénaux (250). En effet, les AGCC peuvent activer trois récepteurs, le GPR41, le GPR43 et le Olfr78. Une augmentation de la tension artérielle fait suite à une activation du récepteur Olfr78 ou de GPR41, augmentation pouvant être contrée par l'activation du récepteur GPR43 qui possède une action vasodilatatrice (251). En revanche, une hausse de la production de lactate bactérien est retrouvée chez les individus hypertendus. L'utilisation d'un antibiotique tétracyclique, la minocycline, qui normalise le ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* dans les populations de rats étudiées, entraîne une diminution de l'hypertension, soulignant la susceptibilité de certaines bactéries à provoquer celle-ci.

Pour appuyer un peu plus le rôle de la microflore comme étant un des facteurs de risque d'hypertension, le fait de traiter des populations atteintes avec des probiotiques (à une concentration de  $10^9$  UFC, notamment des *Lactobacillus*) permet de diminuer de manière significative la pression systolique mais également la pression diastolique. Un des mécanismes de l'effet hypertenseur engendré par les bactéries est la capacité d'inhibition de l'ACE-1 (Angiotensin converting enzyme type 1) par la microflore, en particulier les lactobacilles qui produisent des peptides doués de ce pouvoir d'inhibition. L'ACE-1 produit de l'angiotensine II, responsable de l'effet hypertenseur (252). D'autre part, la microflore stimule l'ACE II, productrice d'angiotensine 1-7, responsable quant à elle d'un effet antihypertenseur car c'est une molécule vasodilatatrice.

### g. Dysbiose intestinale et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin :

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), comprenant la rectocolite hémorragique (RCH) et la maladie de Crohn (MC), sont caractérisées par une inflammation du système digestif en réponse à une stimulation exagérée du système immunitaire. Pouvant être localisée tout le long du système digestif dans la maladie de Crohn, l'inflammation est exclusive au rectum et côlon dans la rectocolite. Ces maladies évoluent par poussées de durées, fréquences et intensités variables en fonction des patients. Les principaux symptômes durant ces poussées sont des douleurs abdominales, des diarrhées pouvant être sanglantes et des manifestations extra-intestinales peuvent se faire ressentir. Les complications sont nombreuses, par exemple il existe un risque d'occlusion ou bien un risque accru de développer un cancer colorectal. L'étiologie de ces maladies n'est pas connue, mais plusieurs facteurs favorisent son apparition, comme l'hérédité ou l'alimentation.

Beaucoup de preuves solides supportent la mise en cause du microbiote dans les MICI. Pour appuyer cette hypothèse, des travaux ont montrés que les colites ne peuvent être induites chez des animaux axéniques (253). De plus, si l'on isole des segments intestinaux d'individus atteints de la MC en détournant le flux fécal, on empêche la réapparition de la maladie. Cependant, la réinjection du contenu intestinal dans les parties isolées entraîne rapidement le retour des symptômes (254). Chez les patients atteints, on remarque une diminution de la biodiversité bactérienne (255), provoquant dès lors un déséquilibre dans la production de métabolites, en particulier le butyrate, désordre qui est impliqué dans la pathogenèse des MICI (256). L'utilisation de probiotiques spécifiques permet d'atténuer les symptômes et de prévenir les rechutes de la RCH (257). Inversement, certains antibiotiques non absorbables, comme la rifaximine ou le metronidazole, peuvent induire et/ou maintenir la rémission des MICI (258). Pour finir, les gènes de susceptibilité liés aux MICI sont principalement associés aux interactions immunitaires hôte-bactéries (259).

On l'a vu, chez la personne saine, la microflore, malgré quelques variations mineures, est stable. Inversement, chez une personne atteinte de MICI, la microflore est très instable. En effet, la composition du microbiote diffère entre les phases actives et les phases quiescentes de la maladie et il est même instable lors des phases de rémission de la RCH (260). Avant une rechute de RCH, la majorité des bactéries anaérobies (*Bacteroides*, *Escherichia*, *Lactobacillus*...) sont diminuées en nombre et en diversité (261). Une dysbiose est aussi observée chez les patients en rémission de MC. Il existe aussi les changements de population imputables aux médicaments utilisés dans le traitement des MICI car la mésalazine par exemple réduit jusqu'à moitié le nombre total de bactéries (262). Chez une même personne, il existe des différences de composition bactérienne entre un site touché par la maladie et un site sain.

Il est difficile de savoir si la dysbiose est une cause ou une conséquence des MICI. Des chercheurs ont étudié la flore de jumeaux dont l'un est touché par la maladie et l'autre non. Dans la RCH, il n'a pas été observé de différence significative entre jumeaux sain et jumeaux affectés (263), mais étrangement une diminution de *Faecalibacterium prausnitzii*, une espèce possédant une action anti-inflammatoire et qui est retrouvée en quantité amoindrie chez les patients atteints de MICI (264) est constaté chez les deux jumeaux (265). Les jumeaux non atteints souffrent également de dysbiose mais pas aussi marquée que leurs jumeaux touchés par la maladie. Pour aller plus loin, le statut génétique de *NOD2* et *ATG18L*, gènes majeurs susceptibles de développer la MC sont associés à un désordre du microbiote (266), suggérant

que la dysbiose soit la conséquence de facteurs génétiques et environnementaux plutôt que la conséquence de l'inflammation.

Plusieurs études suggèrent d'utiliser la dysbiose comme biomarqueur des MICI. Par exemple, chez les patients souffrant de RCH répondant bien à la mésalazine, la population de *Firmicutes* est augmentée (262). Chez les patients atteints de MC ayant eu recours à la chirurgie, le taux de rechute est significativement diminué chez ceux qui présentaient une composition de microflore plus proche de celle de personnes saines, contrairement à celle avec dysbiose, qui présentaient un fort taux de rechutes (267). Une étude portant sur le microbiote a été réalisée en comparant 447 enfants nouvellement diagnostiqués MC et 221 enfants sains (268). Ainsi, un index dysbiotique a pu être établi, accompagnant le PCDI (Pediatric Crohn Disease Index), index classant la maladie en fonction de sa gravité. Les chercheurs ont aussi remarqué que le profil général du microbiote pouvait être utilisé comme marqueur diagnostique de la MC, et il est aussi utile pour prédire la sévérité de la maladie chez les enfants.

Même si beaucoup d'études se sont intéressées aux bactéries susceptibles de provoquer les MICI, aucune n'a réellement permis de faire ressortir une espèce spécifique (269). Les principales modifications de populations bactériennes durant les MICI sont une diminution des *Firmicutes* et une augmentation des *Protéobactéries* (270) (Figure 40). De plus, la diversité microbienne est diminuée. Par manque d'études, il existe moins de données concernant les *Enterobacteriaceae*

Sample source	Sample no.			Diversity	Bacterial no.	Firmicutes	Bacteroidetes	Actinobacteria	Proteobacteria
	CD	UC	HC						
Stool	6	-	6	↓ in CD	↓ in CD	→ in IBD			
Biopsy	6	5	5		↓ in CD	↑ in CD	↑ in IBD		↑ in CD
Surgical tissue	35	55	34		↓ in IBD	↓ Lachnospiraceae ↑ <i>Bacillus</i>	↓ in IBD	↑ Bifidobacteriaceae in cCD ↑ Coriobacteriaceae in cCD	↑ in IBD
Stool	29	16	35	↓ in CD	↓ in CD	↑ in cCD, ↓ in iCD ↑ Ruminococcaceae in cCD ↓ Ruminococcaceae in iCD			↑ Enterobacteriaceae in CD
Biopsy	6	6	5	↓ in IBD	↓ in CD	↓ in IBD → <i>F. prausnitzii</i> in IBD	↑ in IBD		↑ Enterobacteriaceae in CD
Biopsy	121	75	27		↓ in CD		↑ in IBD		↑ Enterobacteriaceae in CD
Stool									
Endoscopic lavage	16	16	32	↓ in IBD	↓ in IBD	↓ <i>F. prausnitzii</i> in IBD			↑ in IBD
Stool	21	34	21	→		↓ <i>C. coccoides</i> and <i>C. leptum</i> in IBD ↑ <i>Lactobacillus</i> in CD ↓ <i>F. prausnitzii</i> in IBD	↑ <i>Bifidobacterium</i> in UC		↑ <i>E. coli</i> in CD

Figure 43 Visualisation des variations de composition bactérienne lors des MICI (271)

CD : Maladie de Crohn  
IBD : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

*Escherichia coli* a été retrouvée en grande quantité dans des lésions d'iléons de patients souffrant de MC, mais aussi dans la muqueuse intestinale de patients atteints de RCH (272). Cependant les mécanismes précis d'interactions restent à éclaircir. Une infection par *C. difficile* est souvent retrouvée chez les patients atteints, mais elle est difficile à diagnostiquer car la symptomatologie est proche de celle des MICI. L'infection peut activer les réponses pro-inflammatoires dans l'intestin et contribuer dès lors à l'apparition ou à l'exacerbation des MICI. A l'inverse, les MICI contribuent également à l'apparition de l'infection. Une autre espèce, *Fusobacterium varium*, colonise les régions inflammatoires de patients atteints de RCH et envahit les lésions (273). Chez ces patients, les titres sérologiques d'anticorps anti-*Fusobacterium varium* sont plus élevés que ceux retrouvés chez la personne saine (274). *F. varium* est producteur de butyrate, cependant, l'administration intrarectale de butyrate entraîne des dommages sur la muqueuse intestinale de souris malades (275). Les mécanismes pathologiques de cette production de butyrate restent à déterminer. L'utilisation durant deux semaines de trois antibiotiques, l'amoxicilline, le métronidazole et la tétracycline, pour lesquels *F. varium* est sensible, s'est montrée efficace chez les patients RCH, suggérant le potentiel rôle pathogène de *F. varium* (276).

Aujourd'hui, on estime à plus de 160 le nombre de gènes de susceptibilité aux MICI. Ils possèdent chacun des fonctions physiologiques variées, comme dans l'acquisition de l'immunité (*IL23R*, *JAK2*, *STAT3*), la reconnaissance bactérienne (*NOD2/CARD15*), dans l'autophagie (*ATG16L*, *ATG5*) ou encore dans la fonction de barrière de la muqueuse (*ECM1*, *LAMB1*). Concernant la MC, la plupart des gènes impliqués sont associés aux fonctions de reconnaissance bactérienne, alors que pour la recto-colite hémorragique, les gènes concernés sont associés aux fonctions de barrière. Le gène *NOD2/CARD15* présente une forte association avec la MC. La protéine NOD2 est un récepteur intracellulaire reconnaissant le muramyl dipeptide (MDP), un composant de la paroi cellulaire des bactéries Gram-positif. Il est exprimé au niveau des cellules de l'épithélium intestinal et dans les monocytes/macrophages. Les souris dépourvues du gène *NOD2* ne développent pas de colite spontanée, cependant la quantité de bactérie présente dans leur système intestinal est augmentée (271). Les patients atteints de la MC présentant une mutation de *NOD2* produisent moins de peptides antimicrobiens, en particulier des  $\alpha$ -défensines, dans les cellules de Paneth (277). Une diminution de production d'IL-10, cytokine anti-inflammatoire, par les cellules immunitaires est également constatée (278). La stimulation de NOD2 par le MDP entraîne l'autophagie (279), qui va permettre de réguler la multiplication de bactéries intracellulaires mais aussi de présenter les antigènes bactériens dans les cellules infectées. L'autophagie est un processus cellulaire qui consiste en une dégradation et un recyclage des protéines lorsque les cellules sont en manque de nutriments, mais elle est aussi impliquée dans la prise en charge de pathogènes intracellulaires. Le gène *ATG16L* est également un gène de susceptibilité de la MC, il s'agit d'un gène essentiel à la formation d'autophagosomes, des structures nécessaires au processus d'autophagie. Il existe des liens étroits entre *NOD2* et *ATG16L*, lorsque NOD2 détecte une invasion bactérienne, il recrute la protéine ATG16L sur le site d'entrée bactérienne pour enclencher l'autophagie (279).

Bien qu'elle n'explique pas à elle seule toute la physiopathologie des MICI, la microflore et les mécanismes qu'elle engendre nécessite d'être élucidés, afin de rendre disponible l'apparition d'un traitement.

#### *h. Dysbiose intestinale et cancer colorectal :*

Le cancer colorectal (CCR), touchant le colon ou le rectum, est le troisième cancer le plus fréquent chez l'homme et le deuxième chez la femme. Chaque année, plus de 40 000 nouveaux cas de CCR sont diagnostiqués. Les nouvelles méthodes de dépistage et l'amélioration continue des traitements permettent de réduire la mortalité de celui-ci, car plus le diagnostic est précoce, plus la prise en charge sera efficace. De nombreux facteurs favorisent l'apparition du cancer, tels qu'une alimentation riche en viande rouge, une consommation exagérée d'alcool ou une inflammation chronique du système intestinal. La majorité des facteurs de risques sont étroitement associés à la microflore. De plus, les bactéries, sont capable de promouvoir certaines fonctions physiologiques associées au cancer, comme la prolifération cellulaire, l'angiogenèse ou l'apoptose.

Une différence significative de composition du microbiote est constatée entre des patients atteints de CCR et des patients sains (280). La dysbiose est retrouvée à la fois dans les échantillons de selles et dans les échantillons de tumeur, mais aucune espèce spécifique à l'apparition du CCR n'a été identifiée. Malgré tout, certaines souches de *Bacteroides fragilis* ou d'*E. coli* peuvent agir directement sur le développement de la tumeur colique, par l'intermédiaire de facteurs de virulence comme des toxines (281). D'autres espèces, à l'inverse, possèdent un effet antitumoral suite à la production d'AGCC comme le butyrate qui, on l'a vu, favorisent l'apoptose des cellules cancéreuses.

Le microbiote peut contribuer à l'apparition du CCR car il peut enclencher des phénomènes inflammatoires et l'inflammation chronique de l'intestin amène à la production de cytokine inflammatoires, pouvant être associés à certains dérivés réactifs de l'oxygène et formant ensemble un microenvironnement tumoral favorisant l'apparition du cancer (282). Afin d'étudier les relations entre la microflore et le CCR, une équipe de chercheurs a utilisé des souris chez lesquelles un cancer a été provoqué suite à l'injection d'azoxyméthane (AOM), un composé cancérigène, et de trois injections de sulfate de dextran (DSS) (283). Au terme du protocole d'injection, le nombre moyen de tumeurs présentes chez les souris était de 14,5. Ensuite, toujours dans le but de savoir si la microflore agit sur l'incidence et le degré de sévérité des tumeurs, cette équipe a injecté chez les souris trois antibiotiques (métronidazole, vancomycine et streptomycine) durant deux semaines. Les souris traitées ont présenté significativement moins de tumeurs et de moindre taille comparés à celles de souris non traitées par antibiothérapie (Figure 41), suggérant que certaines populations bactériennes soient intimement liées à la tumorigenèse.



Figure 44 Visualisation de la présence des tumeurs dans l'intestin de souris traitées ou non par antibiotiques

Cependant, l'analyse bactérienne de selles de souris traitées par antibiotiques n'ont pas montrés de différence majeure en termes de nombre total de bactéries présentes comparés aux selles de souris non traitées, soulignant alors que le changement de composition bactérienne est le principal lien avec le cancer. Chez les souris atteintes, l'analyse d'échantillons de selles

a montré une augmentation des genres *Bacteroides*, *Odoribacter* et ainsi qu'une diminution significative du genre *Prevotella* et de la famille *Porphyromonadaceae*. D'ailleurs, une espèce non classifiée de cette famille a été mise en lien avec l'incidence mais aussi avec la prévalence des tumeurs. En effet, l'abondance de cette souche décroît après chaque injection de DSS, qui est d'autant plus marquée chez les souris ayant une charge tumorale plus élevée (Figure 45).

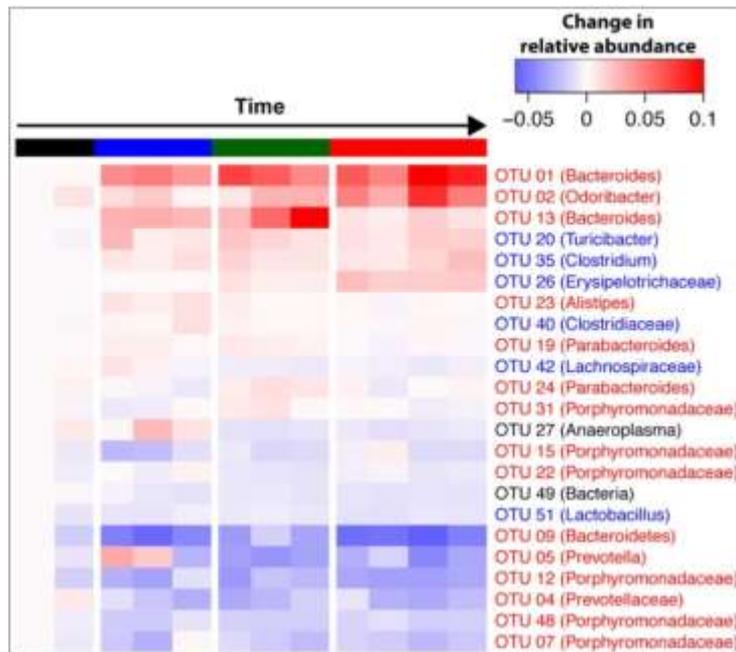


Figure 45 Abondance relative des différentes bactéries suivant les injections de DSS

Pour aller plus loin dans la compréhension des mécanismes liant la microflore et la tumorigenèse, cette même équipe de chercheurs a inoculé chez des souris axéniques soit une microflore provenant de souris saines (souris A), soit une microflore de souris atteintes du cancer (souris B) et ont ensuite appliqués chez les souris axéniques le protocole AOM/DSS. Les souris B, hébergeant la microflore de souris atteintes, présentes deux fois plus de tumeurs, comparés aux souris A. Les tumeurs des souris B sont également bien plus larges que celles des souris A (Figure 46). Ces résultats confirment que le microbiote est capable d'exacerber la tumorigenèse.

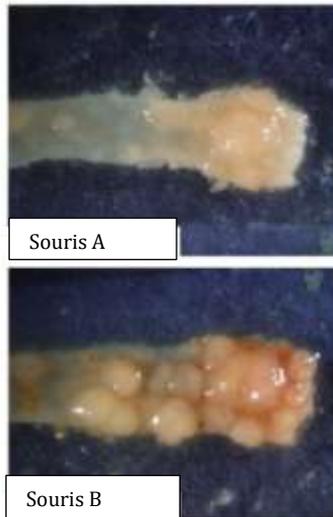


Figure 46 Visualisation de la présence des tumeurs intestinales chez des souris axéniques

De plus, les souris B hébergent une moindre diversité bactérienne et les différents changements de composition rejoignent ceux des souris conventionnelles, c'est-à-dire une augmentation du genre *Bacteroides*, de la famille des *Erysipelotrichaceae* et moins de *Porphyromonadaceae*. Beaucoup d'études ont relevés des différences majeures entre les populations bactériennes hébergées par des individus sains et des individus atteints de CCR mais aucune n'est d'accord quant à la présence d'une espèce spécifique responsable du processus de tumorigenèse. Cette incapacité à définir une espèce étiologique précise est probablement due à la grande diversité inter-individus du microbiote et à l'impossibilité d'établir un profil de communauté bactérienne associé à l'ensemble des CCR, en effet dans les différentes expériences, le CCR a été induit expérimentalement et donc chaque microbiote identifié correspond à un profil type de CCR. Il est aussi difficile de savoir si c'est la dysbiose entraîne l'inflammation puis le cancer, ou si c'est la maladie qui engrange les différents changements de composition, car plusieurs travaux soutiennent l'une ou l'autre de ces deux hypothèses.

#### *i. Les diarrhées :*

Les maladies diarrhéiques, que l'on peut prévenir et guérir, sont principalement dues à différentes contaminations par des microorganismes. Elles représentent un problème de santé publique mondial car on dénombre par an 1,7 milliards de cas infantiles et plus de 520 000 décès d'enfants de moins de 5 ans. On verra seulement dans ce chapitre, de par leurs relations avec la flore, les diarrhées aiguës et les diarrhées associées aux antibiotiques.

#### **Les diarrhées aiguës infectieuses :**

Les diarrhées aiguës infectieuses sont définies comme étant une émission d'au moins trois selles molles/liquides par 24 heures ou par fréquence anormal pour un individu. Elles ont majoritairement une origine virale, surtout en hiver, ou bactérienne, avec dans ce cas un pic en été. Les observations effectuées sur des échantillons de selles mettent en évidence de profondes modifications de la flore.

Dans le cas des infections bactériennes, on peut penser intuitivement que les bactéries commensales se font au moins en partie « remplacer » par une bactérie pathogène. De fait, chez des personnes atteintes du choléra, il a été trouvé des concentrations de *Vibrio cholerae* dans les selles atteignant  $3.10^7$  UFC/mL parallèlement à une baisse de concentration de *Bacteroides*, diminuant à  $10^5$  UFC/mL (284). Globalement, en cas de diarrhée infectieuse, on observe une diminution des bactéries anaérobies et une augmentation des bactéries aérobies au moment de la diarrhée, puis, au cours de la guérison, les populations bactériennes évoluent à nouveau et l'état pré-diarrhée est restauré. Les propriétés chimiques des selles étudiées ont également fait l'objet de recherches et, quel que soit le pathogène responsable de la diarrhée, le pH s'est avéré plus élevé et les acides gras diminués (24). Par ailleurs, aucune différence qualitative de la flore n'a été constatée entre une diarrhée d'origine virale et une d'origine bactérienne. Certaines modifications quantitatives de la microflore sont similaires, que le pathogène soit connu ou non. Ces différentes perturbations sont sous la dépendance des facteurs environnementaux, qui sont perturbés durant la maladie, citons par exemple le changement du pH ou la variation du potentiel d'oxydo-réduction.

Une diarrhée infectieuse a été induite chez le porc pour montrer la déstabilisation de la microflore au cours de la maladie. Pour se faire, *Brachyspira hyodysenteriae* (responsable de la dysenterie porcine) a été inoculé chez des porcs (285). Chez les porcs inoculés, d'importantes fluctuations des profils d'ARNr ont été constatés, montrant dès lors le déséquilibre entre les populations microbiennes, alors que dans un groupe témoin (porcs non infectés), ces profils d'ARNr sont stables, signifiant la constance des différentes populations bactériennes chez ces porcs. Inversement, chez le souriceau, une diarrhée infectieuse expérimentale induite par des rotavirus ne modifiait pas l'implantation de *Lactobacillus spp* ou d'*Escherichia coli* (286), soulignant la nécessité d'une meilleure caractérisation des phénomènes de déstabilisation de la flore lors de diarrhées aiguës infectieuses chez l'Homme.

### Les diarrhées associées aux antibiotiques :

Les diarrhées associées aux antibiotiques sont définies comme étant des diarrhées inexplicables accompagnant l'utilisation d'antibiotiques. Globalement, il est possible de classer ces diarrhées en trois grandes classes : les diarrhées simples, les colites hémorragiques et la colite pseudomembraneuse. L'administration d'antibiotiques engendre un déséquilibre de l'environnement bactérien et des populations bactériennes. En sélectionnant les bactéries, les antibiotiques vont avoir plusieurs actions comme l'abolition de l'effet barrière, et de surcroît son rôle protecteur vis-à-vis des pathogènes, ou encore de provoquer un désordre du métabolisme bactérien, responsable de diarrhée « métabolique ». Les principaux antibiotiques avec lesquels une diarrhée est associée sont les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (15 à 20% de patients victimes de diarrhée), l'amoxicilline et l'association amoxicilline-acide clavulanique (10 à 25% de patients) (287). Généralement les troubles diarrhéiques s'estompent à l'arrêt du traitement, soulignant que les bactéries ne sont pas totalement supprimées par l'antibiotique. Des travaux portés sur des centaines de patients traités ont estimé à 17,5% les cas de diarrhées associées aux antibiotiques (DAA) et la durée de celles-ci à un jour seulement pour 66% des patients. Les principaux facteurs de risques quant à développer une DAA sont l'âge extrême de la vie (moins de 6 ans et plus de 65 ans), le terrain (immunodépression, affection digestive chronique...) mais aussi l'hospitalisation en longs séjours ou la chirurgie (288).

## **Les diarrhées simples :**

Les diarrhées simples sont les plus fréquentes et sont le plus souvent modérées. Aqueuses, elles ne sont que rarement responsables de fièvre ou de fortes douleurs abdominales. Elles apparaissent peu de temps après l'utilisation de l'antibiotique, mais elles peuvent survenir jusqu'à quelques semaines après l'arrêt de celui-ci. En général, la maladie diarrhéique s'estompe à l'arrêt du traitement ou si l'on diminue la dose d'antibiotique. Plusieurs causes de diarrhées simples sont observées : les causes infectieuses, les causes métaboliques et les causes diverses.

### *Les causes infectieuses :*

La cause majeure de DAA est une infection par un microorganisme pathogène. Des travaux ont estimé que *Clostridium difficile* est responsable de 10 à 20% des DAA (289). Cependant, certaines personnes saines portent *C. difficile* avant, pendant et après les traitements antibiotiques sans déclencher de DAA. Cela souligne le fait que *C. difficile* ne peut être le seul responsable de DAA et qu'un antibiotique donné n'entraîne pas toujours la même DAA en fonction d'une ou plusieurs espèces qu'il favoriserait malgré lui. D'autres pathogènes responsables de DAA sont *Salmonella* (surtout si l'antibiotique utilisé est l'amoxicilline), *Staphylococcus aureus* ou *Clostridium perfringens* type A (290).

### *Les causes métaboliques :*

Certains antibiotiques inhibent les bactéries anaérobies et de ce fait, vont inhiber les réactions de fermentations. Ainsi, les glucides vont transiter plus longtemps dans le tube digestif et par phénomène osmotique ils vont entraîner une diarrhée osmotique, prouvée chez l'Homme suite à la prise d'amoxicilline (291). Parallèlement à ce phénomène, on observe une diminution de la production d'AGCC, molécules, on l'a vu, essentielles à l'organisme et aux bactéries (292). Pour terminer, en présence d'antibiotiques, les acides biliaires primaires sont moins convertis en acides biliaires secondaires et donc l'apparition d'une diarrhée cholérétique est possible.

### *Les causes diverses :*

Plusieurs autres effets des antibiotiques sont responsables de DAA, par exemple l'érythromycine agit comme un « motiline-like » ce qui signifie qu'elle accélère le transit. L'association amoxicilline-acide clavulanique semble aussi accélérer la motilité de l'intestin grêle (293). Il ne faut pas non plus oublier que certains médicaments, souvent utilisés en association aux traitements antibiotiques, peuvent également faire office d'agent engendrant des diarrhées. Citons par exemple les médicaments antiacides, des A.I.N.S ou même des laxatifs qui entraînent des changements de composition bactérienne à cause de leurs modes d'actions.

## **La colite hémorragique post-antibiotique :**

Cette pathologie survient après la prise d'antibiotiques (vancomycine, fluoroquinolones...) et se traduit par de violentes douleurs abdominales survenant brutalement, accompagnée par une diarrhée caractérisée par une émission de plus de 15 selles par jour devenant rapidement sanglantes (294). On retrouve également un syndrome inflammatoire dans plusieurs cas. Les lésions sont souvent regroupées au niveau du colon droit (36%), contre 15% dans le colon

gauche, cependant il existe un caractère mixte de la maladie où elle va toucher ces deux parties de l'intestin (48%). Les symptômes régressent environ 3-4 jours après l'arrêt de l'antibiotique (chez 80% des personnes) et il est conseillé de ne plus utiliser cet antibiotique par la suite (295).

Une bactérie susceptible de provoquer la colite hémorragique est *Klebsiella oxytoca* (Figure 47), un bacille anaérobie facultatif retrouvé fréquemment dans les selles. Néanmoins, cette bactérie est plus souvent retrouvée dans les selles de patients traités par des antibiotiques classiques comme les pénicillines, car *Klebsiella oxytoca* possède une résistance naturelle à ces molécules. La seule détection de *Klebsiella oxytoca* dans les selles ne peut suffire à incriminer seule cette bactérie dans les mécanismes physiopathologiques de la maladie mais *Klebsiella oxytoca* a été retrouvée sur des échantillons de biopsie colique, pouvant témoigner dès lors des propriétés d'adhésion/invasion de la bactérie et de son pouvoir pathogène. D'autre part, *Klebsiella oxytoca* est productrice d'une toxine qui est capable de provoquer une hémorragie intense de la muqueuse intestinale, appuyant fortement sa responsabilité dans la colite hémorragique pseudomembraneuse.

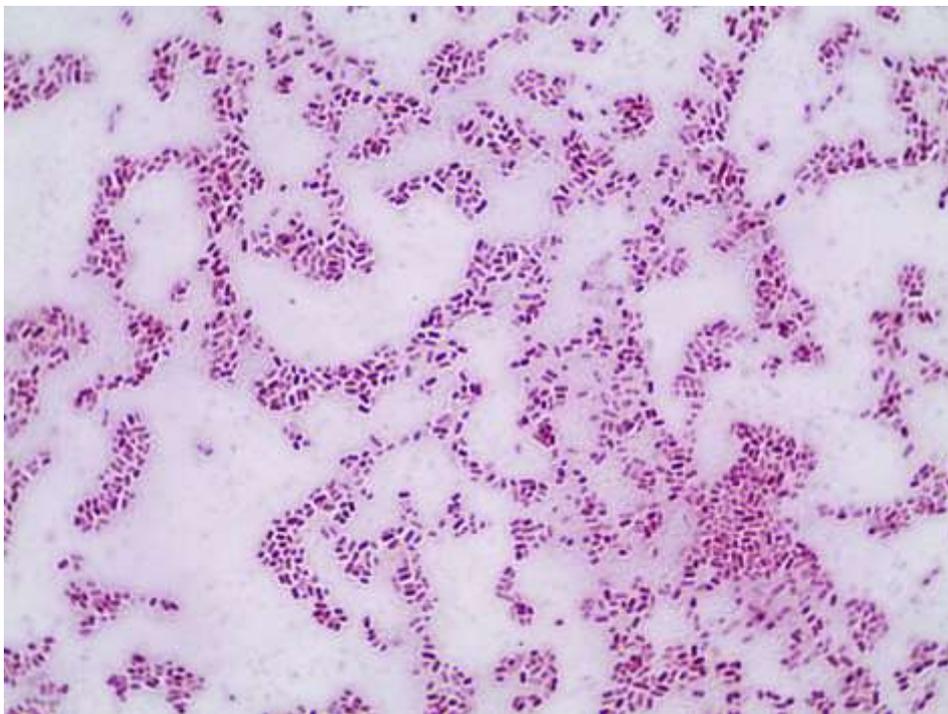


Figure 47 Visualisation de *Klebsiella oxytoca* au microscope suite à une coloration de Gram

Des analyses approfondies menées chez des patients atteints de colite hémorragique ont permis de montrer que *Klebsiella oxytoca* est retrouvée dans les selles d'un tiers des patients et dans deux tiers échantillons de biopsie (296). De plus, chez 1 personne sur 10, *Klebsiella oxytoca* est associée à *Clostridium difficile* dont l'implication dans plusieurs pathologies a été démontrée. Les auteurs d'autres travaux ont retrouvé *Klebsiella oxytoca* seulement dans les biopsies et pas dans les selles. De plus, les souches de *Klebsiella oxytoca* détectées chez les personnes traitées sont beaucoup plus toxiques sur les lignées cellulaires Hep-2 que les souches retrouvées chez les personnes saines (297).

### La colite pseudomembraneuse :

Cette pathologie se caractérise par une diarrhée abondante (environ 4 à 10 par jour) avec des selles liquides, crémeuses voire verdâtres. Des épreintes sont constatées dans la majorité des cas, ainsi qu'une fièvre supérieure à 38,5 degrés dans une moindre mesure. On ne retrouve jamais de sang dans les selles, les hémocultures reviennent toujours négatives. La déshydratation est à craindre et elle arrive dans environ un tiers des cas. De plus, un amaigrissement important est constaté chez plus de deux personnes sur dix. L'aspect caractéristique de la maladie est l'apparition des fausses membranes sur la muqueuse intestinale (Figure 48). Dans 95% des cas, la colite pseudomembraneuse est associée à une prise d'antibiotique et l'apparition de celle-ci survient généralement après une semaine d'antibiothérapie, mais elle peut très bien survenir après plusieurs semaines suivant l'arrêt de l'antibiotique.



Figure 48 : Aspect typique de la colite pseudomembraneuse, visualisation endoscopique des fausses membranes

L'espèce bactérienne mise en cause dans cette maladie est *Clostridium difficile*, dont les taux de colonisation chez les sujets affectés sont retrouvés entre 20 et 30%, contre 3% chez les personnes saines (298). Plusieurs antibiotiques sont responsables de l'apparition de cette pathologie (en particulier ceux à large spectre), tels que les pénicillines ou les céphalosporines, cependant tous les antibiotiques sont susceptibles de la provoquer, qu'importe la durée du traitement ou la dose utilisée (299).

La majorité des individus touchés sont des personnes âgées, chez qui *Clostridium difficile* se trouve fréquemment en proportion plus abondante dans le système digestif. D'ailleurs, les toxines produites par *C. difficile* sont bien plus souvent retrouvées chez des sujets âgés que chez des sujets jeunes (300). Deux toxines responsables de la pathologie, la toxine A et la toxine B, provoquent des lésions épithéliales, l'inflammation et la diarrhée. Ces toxines ne sont pas produites par toutes les souches de *Clostridium difficile*, certaines ne produisent que la toxine B. Quoiqu'il en soit, les dégâts causés par ces toxines sont nombreux. En effet, à la biopsie, on observe une nécrose superficielle de la muqueuse, des débris cellulaires/tissulaires et un exsudat abondant. On retrouve aussi des cryptes dilatées à la suite d'une accumulation de mucus accompagnant une inflammation de la *lamina propria*.

## IV. Moyens diagnostiques et thérapeutiques :

La révélation de la dysbiose est très complexe à mettre en œuvre. En effet, il est difficile de diagnostiquer, par ses conditions exigeantes de culture, un déséquilibre de la microflore. De plus, la quantité et la diversité des bactéries présentes dans chaque être humain ne permettent pas de définir de manière exacte un profil type de microflore pouvant servir de témoin. D'autre part, il existe une multitude de symptômes susceptibles d'être le signe d'une dysbiose, rendant très compliqué le diagnostic clinique. Parmi ceux-ci, des symptômes digestifs classiques comme des diarrhées, une constipation ou des ballonnements. Mais on retrouve aussi des symptômes dermatologiques comme des prurits, des symptômes neurologiques tels que l'anxiété, des phénomènes allergiques sont également identifiés et d'autres symptômes ne se retrouvent que dans certaines populations, comme les sportifs, souvent victime de leaky gut syndrom. Malgré tout, il existe différents moyens permettant de tirer des conclusions sur la présence ou non d'une dysbiose. Les traitements disponibles à ce jour sont les antibiotiques mais il ne faudrait les utiliser qu'en dernière intention à cause de leurs effets secondaires et de leur pouvoir suppresseur de nombreuses espèces bactériennes. C'est pourquoi, l'utilisation de moyens thérapeutiques naturels comme les plantes ou les huiles essentielles sont à privilégier, d'autant que leur efficacité est de plus en plus démontrée.

### a) *La coprologie fonctionnelle :*

La coprologie fonctionnelle est une méthode non invasive permettant d'évaluer le fonctionnement de la sphère digestive. Elle consiste en une série d'explorations, de l'examen macroscopique des selles à l'analyse de marqueurs métaboliques, dans le but de déterminer de manière indirecte ou non la présence d'une dysbiose.

#### **L'examen macroscopique des selles :**

La première caractéristique des selles à prendre en compte est leur couleur. D'ailleurs, par le passé, la couleur des selles était un des éléments clefs dans les diagnostics cliniques, pour perdre peu à peu son statut de reflet de la santé d'une personne. La couleur normale des selles, brune, correspond à la stercobiline produite par la transformation des pigments biliaires par la flore intestinale. Cependant, elle peut virer au jaune, signifiant la présence de bilirubine résultant d'un transit intestinal trop rapide ou d'un déséquilibre de la flore intestinale. Un transit intestinal trop rapide peut aussi amener une couleur ocre, correspondant au stercobilinogène. Une couleur mastic peut apparaître sous l'influence de réactions de putréfactions abondantes, transformant la stercobiline en leucostercobiline. La présence de sang dans les selles peut les colorer en rouge, plus ou moins violacé mais aussi en noir.

Ensuite, il faut évaluer la consistance des selles. La consistance normale des selles est une forme moulée ferme. La consistance devient généralement pâteuse lors d'une dysbiose intestinale. Elle peut devenir dure et/ou fragmentée lors d'un transit digestif ralenti ou d'une diminution des apports hydriques. Au contraire, s'il est accéléré, les selles seront en bouse. Lors de phénomènes diarrhéiques, les selles sont liquides. Si la fermentation est augmentée, on peut retrouver une consistance spongieuse des selles.

Les éléments surajoutés dans les selles sont également à prendre en compte. Parmi eux, la présence de glaire est à observer. Dans les conditions normales, on ne constate pas de mucus dans les selles. Néanmoins, lors d'irritations hautes (intestin grêle ou partie initiale du côlon), le mucus se trouve dispersé dans les selles, contrairement à une irritation basse qui entraîne

une présence de mucus à l'extérieur des selles. Deuxièmement, la présence de sang rouge dans les selles doit être étudiée. Si le sang est dispersé dans les selles, il peut être la résultante d'une hémorragie basse ou haute mais seulement si le transit intestinal est accéléré, les bactéries n'ayant pas le temps de dégrader le sang. Si le sang est retrouvé à l'extérieur des selles, il s'agit d'une lésion anale ou d'hémorroïdes.

Des résidus alimentaires peuvent aussi être retrouvés dans les selles, seulement dans des situations anormales. Qu'ils soient d'origine animale ou végétale, la présence de ces résidus peut résulter de plusieurs causes, telles qu'une accélération du transit ou un défaut de mastication.

### **L'examen microscopique des selles :**

L'analyse microscopique des échantillons de selles cherche à identifier la présence de certains éléments plaçant en faveur d'une anomalie du système digestif. Le mucus sera étudié, de même que la présence de leucocytes ou d'hématies témoignant d'une irritation, d'une inflammation voire d'une ulcération de la muqueuse. Les cellules intestinales, qui ne sont normalement pas ou très peu présentes dans les selles, sont aussi recherchées car elles impliquent un renouvellement rapide de la muqueuse, illustrant une irritation ou une inflammation. Les principaux résidus alimentaires comme les protides, glucides et les lipides peuvent aussi être utilisés comme témoins d'un déséquilibre de la microflore. Un autre élément recherché est la présence de bactéries de fermentation dans les selles. Une prolifération exagérée de cette flore et/ou une accélération du transit peut amener ces bactéries résidant habituellement dans le côlon droit, vers la partie terminale du tube digestif.

### **L'analyse chimique des selles :**

Le premier point à étudier est le pH des selles. Un pH compris entre 6,5 et 7,5 correspond à une situation normale. Cependant, un pH inférieur à 6,5, donc des selles trop acides, peut être la cause d'une production accrue d'acides organiques par la flore de fermentation ou une diminution de la production d'ammoniaque et d'amines par la flore de putréfaction. Des selles trop alcalines, ayant un pH supérieur à 7,5, peuvent provenir des situations inverses. Les pigments biliaires, comme le stercobilinogène, la stercobiline ou la bilirubine sont recherchés. En effet, la présence de bilirubine dans les selles peut avoir comme cause un déséquilibre de la flore intestinale. Un dosage des acides organiques (AGCC) peut également être pratiqué. Une situation normale est définie par une concentration de 15mmol/100g d'AGCC. Des concentrations inférieures à 13 correspondent à une insuffisance de production d'acides organiques, soulignant une diminution de la population bactérienne fermentante. A l'inverse, des concentrations supérieures à 17 implique une production accrue d'acides organiques, témoignant d'une prolifération exagérée de la flore de fermentation (40). L'ammoniac peut aussi être utilisé comme marqueur des changements de populations bactériennes. La concentration normale d'ammoniac dans les selles correspond à 3 mmol/100g. Une concentration inférieure à 2 souligne une insuffisance d'ammoniac suite à une diminution de la flore putréfiante, là où une concentration supérieure à 4 témoigne d'un excès de cette flore. Pour aller plus loin, les recherches vont également s'orienter sur la recherche des produits du métabolisme bactérien dans les selles, dans les urines et les métabolites seront également étudiés dans le sang.

### *b) Les différents tests :*

De nombreux tests ayant pour but d'identifier la dysbiose sont disponibles. Parmi eux, les tests aux gaz ou tests respiratoires, consistent en une analyse des gaz produits par la microflore, ont été validés et sont souvent utilisés dans de nombreux cas cliniques de gastro-entérologie. D'autres tests basés sur l'analyse biomoléculaire apparaissent afin d'aider au diagnostic de la dysbiose.

#### Les tests aux gaz :

Les tests aux gaz consistent à évaluer dans l'air expiré la présence de gaz issus du métabolisme bactérien. Un des tests les plus utilisés est celui correspondant à la recherche de l'hydrogène. Ce test est basé sur le fait que la majeure partie de l'hydrogène produit par les bactéries de fermentation se diffuse dans le sang et est rapidement excrété dans l'air expiré. L'hydrogène est également éliminé dans les flatulences et dans la production d'autres composés chimiques, en particulier le méthane, un autre gaz mesurable et utilisé dans les tests respiratoires. La microflore est la seule source de production de l'hydrogène retrouvé dans l'air expiré, de même que le méthane mais qui n'est identifié que chez certaines populations. La mesure des quantités d'hydrogène et de méthane s'effectue à partir d'expirations par chromatographie en phase gazeuse.

Généralement, ces tests sont utilisés dans la recherche de trois phénomènes. Premièrement, en cas de SIBO, état où les bactéries prolifèrent de manière exagérée dans l'intestin grêle. Deuxièmement, les phénomènes d'intolérance aux sucres provenant de l'alimentation, notamment le lactose. Les individus qui ne sont pas capables de digérer efficacement le lactose sont dits intolérants. D'autres sucres comme le fructose, le sorbitol ou le saccharose peuvent faire l'objet de recherche. Pour finir, les tests respiratoires sont utilisés pour identifier la vitesse de passage des aliments à travers la muqueuse intestinale.

Plusieurs conditions préparatoires sont nécessaires au bon fonctionnement des tests. Tout d'abord, les patients ne doivent pas avoir pris d'antibiotiques quatre semaines avant la réalisation du test (301). D'autre part, des mesures hygiéno-diététiques doivent être prises, comme un régime pauvre en fibre 24 heures avant la procédure ou ne pas fumer deux heures avant l'examen.

#### **Les tests disponibles :**

Il existe cinq tests principalement utilisés dans le diagnostic de troubles gastroentérologiques, dont le principe consiste en l'ingestion de sucre afin de déterminer la quantité d'hydrogène expiré :

- 1) Le test au glucose (302): normalement, celui-ci est facilement absorbé dans l'intestin grêle. Néanmoins, si les bactéries présentes dans l'intestin prolifèrent anormalement, l'utilisation du glucose par ces bactéries va augmenter parallèlement à la production d'hydrogène. La quantité relevée d'hydrogène à la suite de l'ingestion de glucose permet de déterminer la présence exagérée de bactéries. Généralement, des valeurs d'hydrogène de plus de 10ppm au-dessus de la normale retrouvée deux fois de suite sont susceptibles d'indiquer la présence d'un SIBO.

- 2) Le test au lactose : ce test permet de déterminer si une personne présente un souci de digestion du lactose provenant de l'alimentation (lait, fromage etc). Les différents symptômes rencontrés chez un individu intolérant au lactose sont des diarrhées, des crampes abdominales et/ou des ballonnements. Cette intolérance intervient généralement lorsque le lactose n'est pas hydrolysé en galactose et glucose due à une déficience voire une absence d'une enzyme, la lactase. Une élévation de l'hydrogène de plus de 20ppm par rapport aux valeurs normales qui serait retrouvé deux fois chez une même personne est susceptible d'indiquer la présence d'un SIBO.
- 3) Le test au fructose : De même que le test au lactose, cet examen permet de déterminer si une personne présente des troubles de la digestion vis-à-vis du fructose, un sucre se retrouvant naturellement dans les fruits, les légumes, le miel ou les graines. La malabsorption de fructose est un trouble digestif dans lequel le fructose ne se trouve pas normalement absorbé dans l'intestin grêle. Le fructose non absorbé se retrouve alors dans le côlon où la fermentation des bactéries produira principalement des gaz, responsables de ballonnements voire d'autres symptômes digestifs.
- 4) Le test au sorbitol : Le sorbitol est un sucre-alcool couramment utilisé comme édulcorant dans les friandises sans sucres ou les aliments diététiques/adaptés aux diabétiques. Le corps humain produit du sorbitol et on en retrouve également dans la bière, les baies, les fruits et certains médicaments, notamment des sirops pour la toux, en contiennent. Le sorbitol est moins calorique et cause moins de caries qu'un autre sucre bien connu, le saccharose. L'absorption du sorbitol dans l'intestin grêle s'effectue de manière passive et plus lentement que les autres sucres. De ce fait, de petites doses de sorbitol peuvent arriver au côlon pour la fermentation, surtout chez les personnes présentant un transit intestinal rapide. De nombreuses personnes présentent des ballonnements, des crampes abdominales et même des diarrhées à des doses supérieures ou égales à 5g.
- 5) Le test au lactulose : Précédemment, on a vu que le lactulose est un disaccharide composé de galactose et de fructose. Le corps humain ne possède pas d'enzyme permettant d'hydrolyser cette molécule qui arrive donc intact dans le côlon où les bactéries effectueront sa fermentation. Un des produits de ce métabolisme est l'hydrogène. L'intervalle de temps entre l'ingestion de lactulose et la mesure de plus de 20ppm par rapport à la normale d'hydrogène est une mesure du temps de transit oro-caecal.

Ces méthodes présentent de nombreux avantages, en effet ce sont des techniques non invasives, ne provoquant aucune douleur et peu chères. Les échantillons respiratoires obtenus sont généralement source de nombreuses informations détectant plusieurs anomalies ou des marqueurs de certaines maladies. Le domaine des tests respiratoires a énormément progressé ces dernières années et avec l'évolution des technologies d'échantillonnage, des capteurs, des méthodes analytiques, l'analyse des gaz pourra devenir un outil de diagnostic non négligeable en gastro-entérologie. Un des points principaux sur lequel intervenir est l'établissement de procédures générales permettant une standardisation des méthodes entre les différents établissements proposant les tests, car de nombreux facteurs influencent la finalité des résultats, notamment les équipements utilisés, ou la collection des échantillons expiratoires.

## Les tests biomoléculaires :

Les tests biomoléculaires sont des outils basés sur l'analyse d'échantillons fécaux provenant d'individus atteints de dysbioses dans le but de caractériser le profil bactérien lui étant associé, contribuant alors au diagnostic clinique et à l'amélioration des schémas thérapeutiques. En outre, l'établissement d'un profilage détaillé du microbiote au cours d'un régime thérapeutique peut permettre le suivi de la progression de pathologies comme la RCH ou peut également prédire les phénomènes de rechute, principalement dans la MC. La capacité à caractériser les profils bactériens de patients dysbiotiques et « eubiotiques » (ou « normobiotiques ») permettrait d'aider dans l'évaluation de l'efficacité et le développement d'approches thérapeutiques, telles que la transplantation fécale, l'ingestion de probiotiques ou encore les régimes spécialisés. Ces examens reposent sur les techniques d'analyse vues au début de mon travail, notamment l'utilisation de sondes identifiant des régions variables d'ADN 16S. Cependant, des faits que l'on a déjà cités, comme la présence de bactéries non cultivables ou la diversité bactérienne inter-individus, existent et constituent les limites de ces tests. Plusieurs de ces tests sont déjà disponibles et mis à disposition, notamment par des laboratoires privés, mais de grandes différences dans leurs moyens techniques ou leurs résultats existent d'un laboratoire à l'autre, rendant difficile leurs interprétations. Néanmoins, récemment, le GA-map Dysbiosis Test est ressorti comme une avancée non négligeable dans la recherche de dysbioses.

### Le GA-map Dysbiosis Test (GADT) :

Le GADT est un test diagnostic permettant de réaliser une cartographie du microbiote pour un ensemble de bactéries donné et peut être utilisé pour caractériser les dysbioses, notamment dans les MICI (303). Ce test est basé sur l'utilisation de sondes ciblant les régions variables (V3 à V7) (Figure 49) du gène codant l'ARN16S bactérien dans le but d'identifier les espèces présentes.

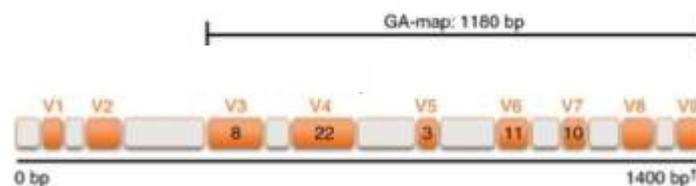


Figure 49 Domaines d'actions des sondes utilisées dans le GADT

Les sondes, au nombre de 54, sont hautement sélectives et spécifiques des bactéries et elles sont couplées à un algorithme déterminé par l'équipe qui a créé ce test, pour faciliter la détermination du degré de dysbiose (Figure 50). De plus, cette méthode fournit une analyse rapide, sur un grand nombre d'échantillons fécaux. Le test a pour finalité de caractériser un état dysbiotique dans un cadre clinique, tout en éliminant les états eubiotiques. D'ailleurs, l'examen est conforme aux exigences de l'U.E. pour obtenir le statut d'outil diagnostic *in vitro* « destiné à être utilisé comme outil d'analyse de l'ADN du microbiote intestinal pour identifier et caractériser la dysbiose ».



Figure 50 Méthode technique du GADT

DI : Indice de dysbiose IBS : Syndrome de l'intestin irritable IBD : Maladie inflammatoires chroniques de l'intestin

Afin de développer des modèles de profils bactériens, 211 personnes en bonne santé ont été sélectionnées au hasard dans le but de faire ressortir un état eubiotique. Suite à cela, plusieurs centaines de sujets souffrant de MICI ou du syndrome de l'intestin irritable ont été inclus à l'étude dans le but de vérifier la pertinence du test (Figure 51).

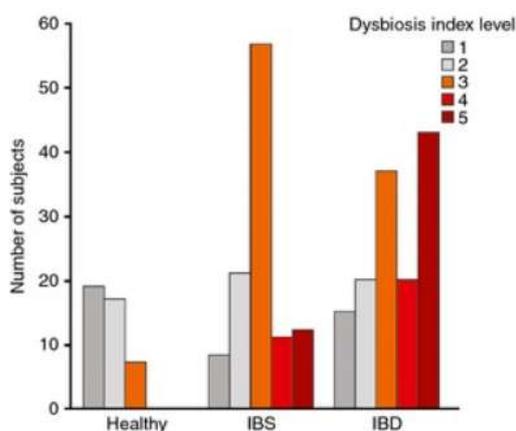


Figure 51 Visualisation de différentes populations et de leur indice de dysbiose

IBS : Syndrome de l'intestin irritable IBD : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

L'indice de dysbiose comprend cinq niveaux et est calculé grâce à l'algorithme établi, allant de 1 à 5 en fonction de la sévérité de la dysbiose. Un état dysbiotique est établi si l'indice est supérieur à 2. Chez les patients présentant un syndrome de l'intestin irritable, 73% des sujets ont été détectés comme dysbiotiques. Parmi les personnes souffrantes de MICI, 74% d'entre elles ont été classées comme dysbiotiques. Autre constat, les personnes atteintes de MICI sont plus souvent victimes d'une dysbiose sévère. Cependant, la dysbiose peut aussi être retrouvée chez des personnes en bonne santé. En effet, environ 30% des personnes saines présentent un état dysbiotique, néanmoins plus léger que celui des malades. Il est également intéressant de constater qu'en fonction des spécificités des sondes, il est possible d'établir un profil bactérien caractéristique d'une dysbiose selon la pathologie associée (Figure 52).

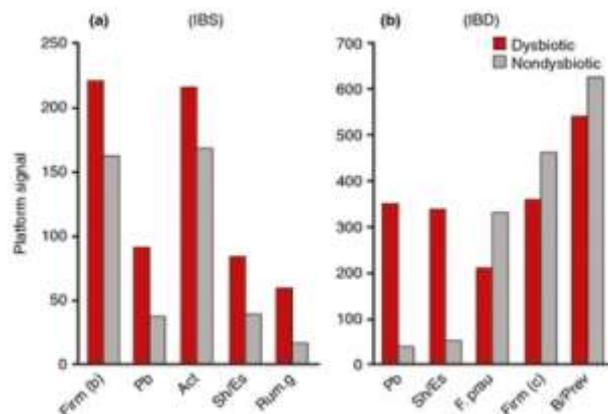


Figure 52 Lignées bactériennes retrouvées chez les individus dysbiotiques ou non

Firm : Firmicutes ; Pb : Protéobactéries ; Act : Actinobacter ; Sh/Es : Shigella/Escherichia ; B/Prev : Bacteroides/Prevotella

En conclusion, il s'agit du premier test clinique visant à identifier et caractériser les dysbioses à partir de prélèvements fécaux. Son applicabilité diagnostique devra cependant attendre d'autres études cliniques internationales, car certains biais liés à l'appartenance ethnique de telle ou telle personne sont à prévoir. Néanmoins, cette méthode standardisée et reproductible représente un pas en avant dans l'utilisation de tests pour identifier les dysbioses. Elle permettra d'acquérir encore plus de connaissances sur la composante microbienne des troubles intestinaux ou non, dans le but de comprendre les processus physiopathologiques exercés par celle-ci.

#### c) Recherche des métabolites bactériens :

Les bactéries intestinales produisent différents métabolites qui peuvent être absorbés dans la muqueuse intestinale et passer dans la circulation systémique. Dès lors, une augmentation des populations bactériennes engendrera une hausse ou une diminution de certains métabolites, que l'on peut identifier à la suite d'une prise de sang. Ensuite, les métabolites du sang vont se retrouver dans les urines, avec ou sans transformation par le foie ou les reins et il sera également possible de les caractériser. Néanmoins, l'interprétation de ces résultats reste délicate sur certains points, notamment sur la détection précise de métabolites produits par de faible quantité de bactéries et l'identification des métabolites ne peut à elle seule affirmer la présence d'une dysbiose.

#### Les marqueurs urinaires de dysbiose :

##### Les produits des composés phénoliques alimentaires :

##### Le benzoate et l'hippurate :

Le benzoate est le premier composé qui se retrouve de façon élevée dans les urines lors de dysbioses et de pathologies associées (304). Le catabolisme des polyphénols alimentaires est le processus majoritaire de formation du benzoate, puis celui-ci est associé dans le foie à la glycine pour former l'hippurate (305). Les polyphénols se retrouvent principalement dans les fruits, les légumes ou encore le thé. L'acide quinique, qui se trouve dans le thé ou le café, est largement métabolisé en acide benzoïque par les bactéries intestinales et est excrété sous

forme d'acide hippurique. La glycine et l'acide pantothénique, par leur faible disponibilité, sont les facteurs limitants dans la réaction de liaison de la glycine au benzoate.

Des taux élevés de benzoate sont des marqueurs validés de disponibilité inadéquate de la glycine et/ou de l'acide pantothénique dans les réactions de conjugaisons de phase II de détoxification (306). Des taux urinaires anormaux de benzoate et d'hippurate sont susceptibles d'être révélateurs d'un problème de détoxification ou de dysbiose. Les autres cas de changements de concentrations de ces deux acides sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 4 Interprétation des concentrations de benzoate et d'hippurate

Benzoate	Hippurate	Other Bacterial Markers	Interpretation
Low	Low	No elevations	Low intake of benzoate and precursors, plus normal or low dietary polyphenol conversion by intestinal microbes
		Multiple elevations	Low intake of benzoate and precursors with intestinal microbial overgrowth of species that do not metabolize dietary polyphenols (very rare)
High	Low	No elevations	Glycine conjugation deficit (possibly genetic polymorphic phenotype if hippurate is very low); dietary benzoate or precursor intake
		Multiple elevations	Glycine conjugation deficit; presume benzoate is at least partially from intestinal microbial action on dietary polyphenols
Low	High	No elevations	Normal hippurate production via active glycine conjugation; No indication of microbial overgrowth
		Multiple elevations	Normal hippurate production via active glycine conjugation; Presume hippurate is at least partially derived from intestinal microbial action on dietary polyphenols
High	High	No elevations	Very high dietary benzoate or precursor intake with partial conversion to hippurate
		Multiple elevations	Very high benzoate load, some, or all, of which is contributed by intestinal microbial action on dietary polyphenols

#### Le phénylacétate et le phénylpropionate :

L'acide phénylacétique (AP) urinaire est un métabolite provenant d'espèces bactériennes spécifiques partiellement identifiées et sont témoins d'une croissance exagérée de populations bactériennes quand ils sont retrouvés en excès dans les urines. L'origine microbienne de l'AP a été démontrée suite à une hausse d'excrétion chez des souris axéniques dont le système intestinal a été inoculé avec des micro-organismes provenant d'animaux conventionnels. Chez les individus sains, les AP ne sont retrouvés que sous simple trace et leur absorption par la muqueuse intestinale n'est que partielle. Cependant, le phénylacétate peut être un marqueur du catabolisme de la phénylalanine endogène pouvant s'accumuler dans des états de phénylcétonurie. L'acide phénylpropionique (APP), structurellement proche du phénylacétate, est également produit par la flore anaérobie (307). Dans les conditions normales, l'APP n'apparaît pas dans les urines car il est métabolisé par la medium-chain acyl-CoA déshydrogenase (MCAD) mitochondriale. Avec la glycine, l'APP forme le 3-phenylpropionylglycine, utilisé comme marqueur pour diagnostiquer la déficience en MCAD. Ce test de polymorphisme dépend de la production d'APP, notamment par *Peptostreptococcus anaerobius*. Différentes souches identifiées de *Clostridium sporogenes* et une seule de *Clostridium difficile* sont également capables de produire de l'APP (308).

### Le crésol :

Le *p*-crésol, le *p*-hydroxybenzoate et le *p*-hydroxyphénylacétate sont formés à partir des polyphénols alimentaires ou de la tyrosine. Le crésol est une molécule toxique pour l'organisme. L'apport alimentaire de protéines ne modifie pas l'excrétion du crésol, suggérant que les bactéries responsables résident dans les parties inférieures de l'intestin grêle, là où les acides aminés des protéines alimentaires pénètrent rarement (309). Ces bactéries produiraient le crésol à partir des sécrétions intestinales et des aliments. Les mammifères ont une faible activité métabolique envers le crésol absorbé. En effet, 95% du crésol injecté dans le système digestif de moutons est retrouvé dans les urines. Chez l'Homme, cette valeur est estimée entre 70 et 87%. Cette production de crésol serait dépendante de petites populations de bactéries aérobies ou microaérophiles car, chez le mouton, la production est presque exclusivement retrouvée dans le rumen (310). Cependant, des souches de *Clostridium difficile* et des Lactobacilles sont capables de produire ce composé à partir d'hydroxyphénylacétate.

Une grande proportion de patients atteints de troubles cœliaques excrète une quantité anormalement haute de *p*-crésol. Le crésol est d'autant plus toxique chez une personne en insuffisance rénale, il s'accumule suite à la diminution des fonctions d'épurations des reins, contribuant dès lors à l'apparition d'effets toxiques comme des céphalées ou des lésions hépatiques, pancréatiques et rénales. Des absorbants comme le charbon actif en poudre peuvent être utilisés pour diminuer la concentration de crésol dans le sérum, démontrant son origine intestinale. L'excrétion de crésol est aussi diminuée suite à l'administration de prébiotiques et de probiotiques comme *Lactobacillus casei* ou *Bifidobacterium breve*.

### L'hydroxyphénylacétate :

Le *p*-hydroxyphénylacétate (HPA) provient majoritairement d'une réaction de transamination catalysée par une espèce bactérienne, *Proteus vulgaris*. Si *P.vulgaris* se multiplie de façon exagérée, les concentrations urinaires d'HPA augmentent. De plus, l'HPA est très lié au crésol car *Clostridium difficile* convertit l'HPA en ce composé toxique (309). L'acidurie *p*-hydroxyphénylacétique s'est montrée utile dans la détection de certaines maladies touchant la sphère digestive et associées à une prolifération anormale de populations bactériennes anaérobies. L'utilisation d'antibiotiques sélectionnant ces espèces bactériennes peut être responsable de la hausse des concentrations de ce composé, mais aussi d'autres marqueurs urinaires (311).

Des patients atteints de troubles d'absorption des acides aminés sont la preuve du potentiel de conversion des bactéries intestinales. Chez ces patients, les bactéries transforment la phénylalanine ou la tyrosine en dérivés, notamment en HPA, qui se retrouveront finalement dans les urines (312). Les autres isomères de l'HPA, le *o*- et *m*-hydroxyphénylacétate sont des dérivés de polyphénols alimentaires qui ne sont pas affectés par les enzymes digestives et sont naturellement trouvés dans certains aliments. Parmi les trois isomères, le *m*-hydroxyphénylacétate est celui le plus apprécié comme marqueur d'une dysbiose potentielle, il n'est retrouvé chez les souris axéniques seulement après avoir inoculé une flore bactérienne chez ces animaux (313).

Les concentrations d'HPA sont élevées dans plusieurs pathologies, intestinales ou non, pouvant être liée à une dysbiose (Figure 53). Bien que les traitements varient entre ces maladies, la diminution des concentrations urinaires d'HPA est le signe d'une normalisation des populations bactériennes.

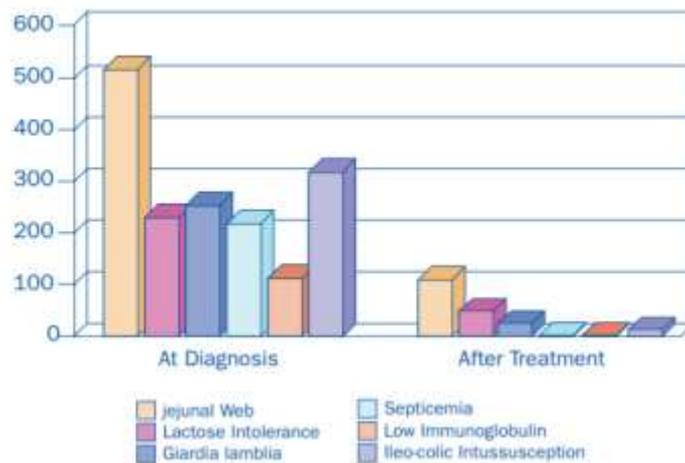


Figure 53 Concentrations urinaires d'HPA avant et après traitement

### L'hydroxyphénylpropionate :

Les *o*-, ou *m*-hydroxyphénylpropionate (HPP) notamment, peuvent révéler certaines activités bactériennes spécifiques. Lorsque des souris axéniques sont inoculées avec les bactéries fécales de souris conventionnelles, elles commencent à sécréter le *m*-HPP. Chez les souris axéniques, le *m*-HPP n'est jamais détecté dans les urines, là où, à l'inverse, il est retrouvé chez les animaux conventionnels lorsque de l'acide caféique, par exemple, leur est administré (314). De même, l'excrétion d'HPP est augmentée chez les personnes saines qui ont consommé 1000 mg de polyphénols issus d'extraits de pépins de raisins (315). Ainsi, le *m*-HPP peut être utilisé comme témoin d'une hausse du métabolisme bactérien vis-à-vis de ces substrats. D'autre part, la concentration de *m*-HPP se voit diminuée (de 200 µg à 10µg) suite à l'administration de deux antibiotiques, le sulfathiazole et l'auroéomycine soulignant l'implication de la microflore dans la production de ce composé (316).

Les bactéries convertissent le *p*-HPP en de nombreux composés comme le *p*-hydroxybenzoate, le *p*-hydroxyphénylacétate ou encore le phénylpropionate, pouvant être utilisés par d'autres espèces bactériennes, montrant de nouveau les différents liens existants entre les microorganismes *via* leurs métabolites respectifs (317). Lorsque le *p*-HPP voit sa concentration augmentée sans élévation concomitante de la tyrosine, la possibilité d'une production accrue de la part d'espèces de clostridies à partir de tyrosine alimentaire doit être envisagée. En effet, dans des conditions *in vitro* où la L-tyrosine est utilisé comme substrat de croissance, le *p*-HPP est un produit majeur d'espèces comme *Clostridium sporogenes*, *Clostridium botulinum* A et B ainsi que *Clostridium caloritolerians* (318).

### Les produits du tryptophane :

#### L'indican :

Certaines bactéries de l'intestin grêle produisent l'enzyme catalysant la réaction de conversion du tryptophane en indole. L'indole sera absorbé puis transformé dans le foie en indoxyl, sur lequel sera greffé un groupement sulfate pour permettre son excrétion urinaire. L'indoxyl sulfate ou indican, n'est retrouvé qu'en faible quantité dans les urines de personnes saines. Au contraire, une élévation de ses concentrations est indicatrice d'une prolifération exagérée de ces populations bactériennes comme c'est le cas dans certains troubles cœliaques.

Les antibiotiques oraux qui ne sont pas absorbés par l'organisme réduisent l'excrétion d'indican (319). De même, l'excrétion d'indican est diminuée lorsque le système intestinal est colonisé par des espèces de lactobacilles à des concentrations supérieures à  $10^5$  UFC/g. Parmi elles, *Lactobacillus salivaris*, *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus plantarum* sont les plus efficaces dans ces réactions liées à l'indican. Chez les patients atteints de cirrhose du foie, le tryptophane peut s'accumuler et produire des désordres neurologiques à cause de la production intestinale de métabolites bactériens (320). Ces symptômes peuvent être diminués suite à une antibiothérapie. Des concentrations élevées d'indican sont corrélées avec une perte de protéines entériques pouvant être à l'origine de troubles intestinaux.

L'interprétation des résultats concernant l'indican est compliquée s'il existe une altération de la digestion des protéines pouvant augmenter la disponibilité du tryptophane pour les bactéries. Ainsi, même des patients avec une composition bactérienne intestinale eubiotique peuvent avoir une excrétion plus élevée d'indican si une maldigestion des protéines est sous-jacente.

### **Les produits des glucides alimentaires :**

#### **Le D-lactate :**

Même s'il est également produit en petite quantité par l'organisme, le D-lactate est un métabolite majeur de certaines espèces bactériennes colonisant l'intestin (321). Généralement, c'est une malabsorption des glucides qui entraîne l'accumulation de D-lactate bactérien qui est ensuite retrouvé en grande quantité dans le sang et les urines. Ainsi, chez un enfant qui présentait un syndrome encéphalopathique a été diagnostiqué une acidose au D-lactate due à une prolifération exagérée de *Lactobacillus plantarum* et ayant eut pour conséquences des effets neurotoxiques (322). La majorité des espèces productrices de D-lactate sont des lactobacilles. La spécificité et la sensibilité du D-lactate urinaire a amené à l'utiliser comme marqueur courant d'infections bactériennes et notamment de l'appendicite (323), mais peut il peut également servir à prédire des proliférations anormales bactériennes dans les cas d'insuffisance pancréatique, d'intestin ischémique ou à la suite de certaines chirurgies. Les concentrations de référence sont comprises entre 5,9 et 13,7  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de créatinine (324).

#### **Le tricarballoylate :**

Ce composé est produit par certaines espèces bactériennes aérobies. Sa particularité d'être une molécule possédant trois charges négatives lui conférant une structure très proche d'un puissant chélateur de cations divalents, l'EDTA. Par cette structure, le tricarballoylate est capable de capter le magnésium et d'induire une carence en celui-ci. Il peut aussi être accompagné par une diminution en calcium et en zinc, mais cette situation pathologique n'a été retrouvée que chez les ruminants et porte le nom de tétanie d'herbage (325).

### **Conclusion :**

Des concentrations élevées de métabolites bactériens dans les urines peuvent être la preuve d'une croissance anormale de certaines populations bactériennes. Les recherches menées sur les mécanismes et les liens entre ces composés et les microorganismes pourraient à terme améliorer la prise en charge des patients, en parvenant à normaliser les diverses populations de bactéries. Néanmoins, de nombreux facteurs comme l'alimentation influence également la

présence ou non des métabolites bactériens, pouvant contribuer à l'élévation des colonies bactériennes.

#### Les indices biologiques sanguins :

Il n'existe pas de marqueur sanguin idéal et direct de dysbiose car il est difficile de déterminer si une bactérie est la seule responsable de l'apparition ou non d'un désordre sanguin. Néanmoins, il est possible de rechercher certains métabolites bactériens, tels quelques-uns précédemment cités, dont la perturbation serait le témoin d'une prolifération (ou déplétion) bactérienne. Cependant, de très rares études permettent de mettre en lumière un lien entre des dosages sanguins anormaux et une dysbiose. Toutefois, plusieurs indices biologiques semblent être de bons indicateurs de l'existence d'une dysbiose et sont retrouvés chez certains patients souffrant de ce trouble.

L'inflammation digestive, par ses perturbations au niveau de la muqueuse intestinale, peut être en lien avec l'apparition d'un état dysbiotique. L'inflammation est constatée à la suite d'une hausse de la concentration sanguine en ferritine et/ou urée, accompagnée ou non par une diminution de celle d'haptoglobine et de d'hémoglobine. S'il existe un problème infectieux, une augmentation en CRP, en IgA et en IgE peut se retrouver et, inversement, une diminution de LH/testostérone peut apparaître. Chez les patients dysbiotiques, un trouble de l'assimilation des nutriments peut être retrouvée, car il s'agit d'un défaut d'absorption ou d'une consommation excessive de ces nutriments par les bactéries. En effet, chez certains patients dysbiotiques, un déficit en vitamines (E, A, D et B<sub>12</sub> notamment), en oligoéléments (fer, cuivre et zinc) ainsi qu'en  $\beta$ -carotène peuvent être découverts. Une activation de l'immunité intestinale, identifiable par une diminution de la myeloperoxydase, peut signifier la présence d'espèces bactériennes néfastes pour l'organisme. D'autre part, une réduction de l'immunité générale chez les patients dysbiotiques est parfois retrouvée, comme le confirme des taux diminués de LT4, de cellules NK, d'IgA ou encore une diminution des fonctions surrénaliennes.

#### d) Les traitements disponibles :

Plusieurs moyens thérapeutiques sont disponibles à ce jour pour traiter les états dysbiotiques comme les antibiotiques ou des méthodes non conventionnelles comme l'usage de plantes ou d'huiles essentielles.

#### i) Les traitements médicamenteux :

L'utilisation de médicaments antibiotiques vient premièrement à l'esprit lorsqu'il s'agit de discuter du traitement des dysbioses. Afin qu'ils puissent exercer leur capacité bactériostatique ou bactéricide sur la totalité du système digestif, il faudra sélectionner des antibiotiques qui soient absorbés le moins possible par l'organisme, dont l'activité prévaut au niveau de la lumière intestinale et qui sélectionneront des bactéries ré-équilibrant l'environnement intestinal. Cependant, leur utilisation ne doit être envisagée qu'en dernier lieu car, même s'ils sont capables d'éliminer certaines bactéries en excès, ce sont de grands perturbateurs de l'environnement microbien et l'efficacité attendue au niveau des dysbioses est parfois décevante. Ici, nous verrons principalement les antibiotiques cités dans les chapitres précédent et ayant été utilisés dans différentes études du microbiote. La plupart sont répertoriés dans le tableau ci-dessous (Figure 54).

Tableau 5 Antibiotiques testés dans les cas de dysbioses et pathologies associées

Agent	Dose	Frequency
Amoxicillin-clavulanate	500 mg PO	3 times/day
Cephalexin	250 mg PO	4 times/day
Chloramphenicol	250 mg PO	4 times/day
Ciprofloxacin	500 mg PO	twice daily
Doxycycline	100 mg PO	twice daily
Metronidazole	250 mg PO	3 times/day
Neomycin	500 mg PO	twice daily
Norfloxacin	400 mg PO	twice daily
Rifaximin	400 mg PO	3 times/day
Tetracycline	250 mg PO	4 times/day
Trimethoprim- sulfamethoxazole	1 double-strength tablet PO	twice daily

### La rifaximine :

La rifaximine est un antibiotique oral semi-synthétique dérivé de la rifamycine et possédant un large spectre antibactérien car efficace sur la plupart des bactéries aérobies et anaérobies, Gram positif ou négatif. C'est l'antibiotique privilégié pour traiter les proliférations bactériennes anormales dans le système digestif car il n'est que peu absorbé (326). Aux concentrations minimales inhibitrices, la rifaximine élimine 85% des espèces d'*Escherichia coli*, 44% des *Klebsiella* et environ 82% des autres espèces bactériennes gram négative. Concernant certaines bactéries gram positive, la rifaximine élimine 100% des *Enterococcus faecalis*, 100% des *Enterococcus faecium* et 100% des *Staphylococcus aureus* (327). Le mécanisme d'action de la rifaximine consiste en une liaison à la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase bactérienne, ce qui inhibera la transcription et la synthèse d'ARN. Cet antibiotique n'est que très peu absorbé par l'organisme après une administration orale (moins de 0,01% des doses sont retrouvées dans le plasma) (328). La biodisponibilité de la rifaximine varie tout le long du système intestinal, suivant ses propriétés hydrophobes et son insolubilité dans l'eau. En effet, la solubilité de la rifaximine augmente d'un facteur 100 en présence d'acides biliaires, suggérant que son effet antimicrobien est surtout plus important au niveau de l'intestin grêle plutôt que dans le colon.

La rifaximine a été utilisée dans le traitement du SIBO et une amélioration symptomatologique a été constatée. Tout d'abord, pris oralement, l'antibiotique diminue de façon générale la quantité de bactéries présentes, mais il sélectionne positivement les espèces de lactobacilles, qui sont retrouvées en quantité bien plus importante (329). De plus, grâce au dosage de l'interleukines et du TNF- $\alpha$ , il a été montré que la rifaximine possède un effet anti-inflammatoire au niveau de la muqueuse (330). La production de gaz est diminuée, principalement à cause de la réduction de la charge bactérienne dans le colon, réduisant alors les flatulences, les ballonnements et l'inconfort abdominal. La rifaximine semble également empêcher l'adhésion des pathogènes entériques aux cellules épithéliales et à leur internalisation dans les cellules de l'hôte (331). Ces cellules épithéliales traitées par l'antibiotique présentaient une adhérence réduite d'espèces entéro-agrégant d'*E. coli* ainsi

qu'une diminution de l'attachement et de la translocation d'espèces comme *Bacillus anthracis* ou *Shigella sonnei*. Enfin, la rifaximine présente un effet anti-inflammatoire en interagissant de façon agoniste avec le récepteur PXR des cellules intestinales ce qui régule l'expression des cytokines et chimiokines par l'intermédiaire des voies TLR-4 et NF-κB (332). Elle supprime également la liaison de NF-κB déclenchée par l'endotoxine bactérienne à travers l'activation de PXR qui induira le TGF-β, contribuant ainsi à maintenir l'homéostasie immunitaire.

La rifaximine a aussi été testée dans plusieurs pathologies gastro-intestinales comme les diarrhées infectieuses, l'encéphalopathie hépatique, les MICI ou dans la diverticulose. Néanmoins, l'efficacité de l'antibiotique dans ces cas n'a pas répondu aux attentes espérées, hormis dans l'encéphalopathie hépatique car il réduit la prolifération de bactéries productrices d'ammoniaque et la FDA n'autorise son utilisation que dans les cas de diarrhées du voyageur et dans la prévention de l'encéphalopathie hépatique. Néanmoins, compte tenu de ses propriétés physico-chimiques, l'utilisation de la rifaximine hors contexte digestif tel qu'une utilisation par voie topique pour traiter des infections cutanées, parodontales ou dans les vaginoses est actuellement à l'étude (333).

D'un point de vue pharmacologique, la rifaximine n'est pas connue pour avoir des interactions médicamenteuses significatives. La plupart des effets indésirables rencontrés sont des nausées, des douleurs abdominales, des diarrhées, des maux de têtes ou encore des assèchements de peau (334). Globalement, la rifaximine est un médicament bien toléré. Les doses usuelles d'utilisation de cet antibiotique sont de 400 à 550mg trois fois par jour. Il peut être couplé à d'autres antibiotiques comme la néomycine.

### **La néomycine :**

La néomycine est un antibiotique de la classe des aminosides surtout utilisé par voie locale car, prise oralement, la néomycine n'est pratiquement pas absorbée. Elle est particulièrement efficace contre un large spectre de bactéries aérobies Gram négatif comme les entérobactéries. En revanche, les bactéries anaérobies et la plupart des bactéries Gram positif sont résistantes vis-à-vis de cet antibiotique. La néomycine est souvent utilisée en association avec d'autres antibiotiques comme la rifaximine dans le but de diminuer les quantités bactériennes présentes. D'autres aminosides comme la streptomycine sont également utilisés en recherche.

### **La vancomycine :**

La vancomycine est un antibiotique faisant parti de la famille des glycopeptides. Sa biodisponibilité par voie orale est très faible, c'est pourquoi on préfère classiquement son administration par voie veineuse. Elle inhibe la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne et son spectre d'action est surtout dirigé contre les bactéries Gram positifs car, étant une molécule avec un poids élevée, elle ne peut passer à travers les pores de la membrane externe des bactéries Gram négatifs. La vancomycine peut s'utiliser dans le cas de colites pseudomembraneuses à *Clostridium difficile*. Il existe plusieurs effets indésirables imputables à la vancomycine, notamment une ototoxicité, une néphrotoxicité ou le « syndrome de " l'homme rouge " », se caractérisant par une libération massive d'histamine. De plus, la toxicité cochléaire et rénale est accrue si elle est associée aux aminosides. Or, on retrouve souvent ce cocktail d'antibiotique pour traiter les surpopulations bactériennes.

## **Le métronidazole :**

Le métronidazole est un antibiotique (et antiparasitaire) appartenant au groupe des nitroimidazolés. Son mécanisme d'action repose sur sa capacité à inhiber la synthèse des acides nucléiques. Bien qu'il soit bien absorbé par l'organisme, donc moins disponible au niveau intestinal, le métronidazole est particulièrement efficace contre les bactéries anaérobies du genre *Clostridium* mais aussi contre certains *Bacteroides* et *Fusobacterium*. Le métronidazole peut être utilisé dans le traitement de colites pseudo-membraneuses. Plusieurs effets indésirables ont été signalés, notamment des troubles digestifs, des neuropathies périphériques et il peut provoquer un effet antabuse s'il y a une consommation concomitante d'alcool.

## **L'association sulfaméthoxazole/triméthoprime :**

Le sulfaméthoxazole est un antibiotique sulfamide et le triméthoprime est un antibiotique faisant parti des diaminopyrimidines. L'association des deux (cotrimoxazole) leur permet d'agir en synergie et est utilisée dans certaines infections digestives. Le cotrimoxazole possède un large spectre d'activité antimicrobienne, éliminant alors les bactéries néfastes mais également les bactéries bénéfiques pour l'organisme. De plus, de nombreux effets indésirables sont constatés avec cette association d'antibiotiques, notamment des troubles hématologiques et cutanés.

### *ii. Les traitements naturels ou non-conventionnels :*

Une autre option permettant de maîtriser les dysbioses concerne l'utilisation de méthodes naturelles comme les huiles essentielles ou les plantes sous plusieurs formes. Ces méthodes représentent généralement la base des médecines traditionnelles, comme la médecine traditionnelle chinoise ou ayurvédique. De nombreuses études ont confirmé leurs intérêts dans les cas de dysbioses et en médecine en générale. De plus, ce sont de bonnes alternatives aux traitements antibiotiques car il n'y a pas de risque d'apparition de résistance bactérienne et que bien moins d'effets secondaires sont constatés.

## **Les huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont des liquides hydrophobes extrait de plantes aromatiques. Ce sont des produits odorants de composition très complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, par entraînement à la vapeur d'eau, par distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Les effets et les mécanismes d'actions de ces composés chimiques divers et variés sont multiples. Les effets principaux sont des effets anti-infectieux, anti-inflammatoires ou anti-histaminiques. Dans une étude comparant l'efficacité de différentes huiles essentielles pouvant potentiellement traiter la dysbiose, des chercheurs en ont choisis huit connues pour avoir une action sur le système intestinal (335). Les huiles essentielles de *Carum carvi*, *Citrus aurantium*, *Foeniculum vulgare dulce*, *Illicium verum*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha arvensis*, *Mentha x piperita* et *Trachyspermum copticum* ont été comparés pour leur capacité à éliminer les bactéries mais aussi à contre-sélectionner les bactéries néfastes. Ainsi, ces huiles essentielles ont été mises en présence de 14 espèces bactériennes, telles *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium longum* ou *Clostridium difficile*, afin de représenter au maximum les différents genres bactériens présents dans le système intestinal.

Les résultats obtenus ont permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (concentration minimale d'huile essentielle active sur les bactéries) et d'observer si certaines huiles essentielles avaient majoritairement un effet sur les bactéries bénéfiques ou les bactéries néfastes (Figure 55).

Botanical Name	Common Name	<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Eubacterium limosum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Carum carvi</i>	Caraway	0.55	2.2	2.2	0.55	0.275	0.275	1.1	4.5	4.5	4.5	4.5	2.2
<i>Citrus aurantium</i> var. <i>amara</i>	Bitter orange	1.1	>4.5	4.5	4.5	-	1.1	>4.5	>4.5	>4.5	>4.5	>4.5	4.5
<i>Foeniculum vulgare</i> dulce	Sweet fennel	1.1	1.1	0.275	2.2	0.275	0.55	>4.5	>4.5	>4.5	4.5	>4.5	4.5
<i>Illicium verum</i>	Star anise	2.2	2.2	0.55	1.1	0.55	0.275	4.5	>4.5	>4.5	4.5	>4.5	4.5
<i>Lavandula angustifolia</i>	Lavender	0.55	2.2	1.1	0.55	2.2	1.1	>4.5	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2
<i>Mentha arvensis</i>	Japanese peppermint	0.55	0.55	0.55	0.55	-	0.55	4.5	0.55	1.1	0.55	1.1	1.1
<i>Mentha x piperita</i>	Peppermint	0.55	0.55	0.275	0.55	0.275	0.275	0.55	2.2	1.1	0.55	1.1	1.1
<i>Trachyspermum copticum</i>	Ajowan	0.13	0.275	0.275	0.13	0.13	0.13	0.275	0.55	0.55	2.2	2.2	0.275

Figure 54 Huiles essentielles de plantes et visualisation de leur CMI en % v/v (335)

L'huile essentielle de *Trychospermum copticum* s'avère la plus efficace car elle permet l'inhibition de la croissance de tous les organismes bactériens à une concentration inférieure à 2,2% v/v. Les huiles de *Carum carvi*, *Lavandula angustifolia* et de *Trychospermum copticum* sont les plus sélectives car elles inhibent la croissance de bactéries potentiellement pathogènes comme *Bacteroides fragilis* ou *Clostridium spp* à des concentrations qui n'ont aucun impact sur les espèces de lactobacilles ou de bifidobactéries. L'huile essentielle de *Citrus aurantium* possède moins d'effets antimicrobiens mais est également doté d'un pouvoir de sélection. Les autres huiles sont efficaces contre les bactéries, mais ne sont pas sélectives. La généralisation de ces résultats dans une situation *in vivo* est compliqué car les processus de digestion et d'absorption des huiles essentielles peuvent être susceptible de réduire leur activité et c'est pourquoi il serait nécessaire de compléter ces résultats *in vitro* par des études *in vivo*.

Une des huiles essentielles les plus étudiée dans ce domaine est celle de *Mentha x piperita*, antimicrobienne et antispasmodique, dont l'efficacité dans le traitement du syndrome de l'intestin irritable a été démontrée. L'huile essentielle permet notamment une amélioration nette de la symptomatologie. En effet, les douleurs, la distension abdominale, les borborygmes et la fréquence des selles ont été diminués chez environ 80% des patients traités par celle huile (336). D'autres huiles essentielles sont utilisées pour traiter les troubles digestifs, comme l'huile essentielle de mélisse à visée antispasmodique et antiinflammatoires, l'huile essentielle de coriandre qui améliore la digestion, réduit les crampes intestinales et les ballonnements, ou de celle de tea tree, antibactérien, fongique et parasitaire. L'avantage des huiles essentielles est la très faible probabilité de voir apparaître une résistance bactérienne. En effet, les huiles essentielles possèdent une composition très complexe et certaines, comme celle de citronnelle, présentent jusqu'à 60 composés actifs sur les bactéries.

Les huiles essentielles sont des composés très puissants qu'il ne faut pas utiliser de façon inappropriée. En effet, des contre-indications à leur utilisation existent, notamment chez les femmes enceintes, les enfants ou les personnes épileptiques et leur utilisation ne peut se faire sans avis spécialisés.

### **La phytothérapie :**

La phytothérapie désigne la médecine fondée sur l'action d'extraits de plantes et de principes actifs naturels. Les méthodes d'utilisation des plantes sont nombreuses, comme les tisanes ou les extraits hydroalcooliques. La phytothérapie est considérée par l'OMS comme étant une médecine traditionnelle et elle représente souvent une médecine non conventionnelle du fait de manque d'études. Néanmoins, la recherche scientifique a permis l'identification d'extraits actifs et de nombreux composés présents dans les plantes font l'objet d'investigations afin d'en comprendre l'impact sur l'organisme. Par exemple, les polyphénols, qui sont contenus dans de nombreuses herbes, sont capables de moduler les populations bactériennes intestinales. L'utilisation de plantes présente le gros avantage d'engendrer bien moins d'effets indésirables, cependant naturel ne veut pas toujours dire bénéfique car certaines plantes sont toxiques et leur mésusage peut entraîner la mort. Des plantes aux propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires ou antispasmodiques sont utilisées afin d'essayer de rétablir un écosystème intestinal normal. Beaucoup de plantes exercent une action au niveau de la sphère intestinale, mais là encore, très peu d'études permettent de confirmer l'efficacité qui leur est attribuée.

### **Le curcuma :**

Il existe plusieurs espèces de *Curcuma*, mais celle principalement utilisée est *Curcuma longa*. C'est une plante herbacée vivace qui possède de nombreux rhizomes aromatiques de couleurs orangées. Les rhizomes sont généralement réduits en poudre afin de rendre son utilisation plus pratique. *Curcuma longa* est connu pour ses propriétés anti-inflammatoires sur la muqueuse intestinale et permet, par exemple, une amélioration symptomatologique dans le syndrome de l'intestin irritable en diminuant les douleurs abdominales (337). De plus, le curcuma possède une activité bactéricide (il peut notamment être utilisé contre *Helicobacter pylori*) (338), spasmolytique (339) et anti-stress, favorisant dès lors une réorganisation positive de la flore intestinale.

### **L'artichaut :**

L'artichaut, *Cynara scolymus*, est une plante vivace dont les extraits alcooliques de feuilles sont utilisés en médecine traditionnelle, à la fois en curatif et en préventif. L'efficacité de l'artichaut dans les troubles intestinaux a été démontré chez des sujets souffrant du syndrome de l'intestin irritable (SII) (340). En effet, pris durant 6 semaines, les extraits d'artichaut diminuent de manière significative la sévérité des symptômes du SII. De plus, 96% des patients ayant reçus les extraits de feuilles comme traitement ont estimé qu'il était bien plus efficace que les traitements reçus auparavant. L'artichaut, très bien toléré par les patients, possède une activité modulatrice sur le microbiote en agissant comme un « bifidogène » (341) et exerce également une activité antispasmodique (342).

### La marante :

La marante ou herbe aux flèches, de son nom latin *Maranta arundinacea*, est principalement cultivée pour ses rhizomes très riches en fécule. Une fois réduit en poudre, les féculs peuvent être utilisés pour soigner les diarrhées ou pour réduire les douleurs abdominales dans les cas de dysbioses (343).

### Le psyllium :

Le psyllium, *Plantago psyllium*, est une plante herbacée vivace dont les graines sont utilisées traditionnellement comme laxatif. Néanmoins, des propriétés antiinflammatoires au niveau intestinal lui ont été attribuées et il permet de réduire la sévérité des symptômes abdominaux après trois mois de traitement (344).

### Le carmint :

Le carmint est un mélange de trois parties de plantes : des feuilles de mélisse officinale (*Melissa officinalis*), des feuilles de menthe poivrée (*Mentha piperita*) et du fruit de la coriandre (*Coriandrum sativum*). Ce mélange est traditionnellement utilisé dans la médecine iranienne comme antispasmodique, sédatif et carminatif. Utilisé durant huit semaines chez des patients souffrant de troubles intestinaux, il permet de diminuer la sévérité et la fréquence des douleurs, de l'inconfort abdominal ainsi qu'une diminution des ballonnements (345).

### Le padma lax :

Le padma lax est un mélange de plantes utilisées dans la médecine traditionnelle tibétaine. L'écorce de la liane du condor (*Marsdenia condurango*) possède des vertus digestives car elle favorise les sécrétions, ouvre l'appétit et est sédatif. Dans le mélange se retrouve également des rhizomes de grande aune (*Inula helenium*), qui facilite la digestion, ou de vomiquier (*Strychnos nux-vomica*) qui permet notamment de calmer les douleurs abdominales et/ou la constipation. Après trois mois de traitement, des patients souffrant de troubles du système intestinal ont vu leurs douleurs abdominales, leurs ballonnements ou leurs constipations nettement diminués (340).

### L'Ibérogest® :

Il s'agit d'une formule composée d'extraits hydroalcooliques de neuf plantes. On utilise la plante entière d'ibéris amère (*Iberis amara*) qui diminue les ballonnements, les racines de grande chélidoine (*Chelidonium majus*) et les feuilles de menthe poivrée (*Mentha piperita*) qui sont antispasmodiques, les feuilles de mélisse officinale (*Melissa officinalis*) qui réduit les spasmes du côlon, ou encore les fruits de Chardon-Marie (*Silybum marianum*) qui permettent de traiter la dyspepsie. L'ibérogest est un composé largement prescrit en Allemagne, plus d'un million d'ordonnances ont ainsi été rédigées depuis sa mise en circulation (346).

C'est un mélange spécialement préparé pour traiter les troubles intestinaux. L'ibérogest permet de diminuer les douleurs abdominales. Il agit aussi comme sécrétagogue en interagissant directement avec les cellules intestinales et les neurones entériques. Cet effet prosécrétoire de mucus est dû à l'augmentation du flux d'ions chlorure à travers les membranes cellulaires. *In vitro*, l'ibérogest se lie fortement avec le récepteur sérotoninergique 5-HT<sub>4</sub> et le récepteur muscarinique M<sub>3</sub>, récepteurs pouvant être à l'origine du syndrome de l'intestin irritable. L'ibérogest module également l'hypersensibilité viscérale en réduisant la

sensibilité afférente intestinale. En effet, différentes doses de sérotonine et de bradykinine, entraînent un pic dans les nerfs afférents. Celui pic se voit être toujours réduit si un traitement à base d'ibérogast a eu lieu. De plus, l'ibérogast réduit l'inflammation intestinale en restaurant les contractions induites par l'acétylcholine, en exerçant une protection histologique et en inhibant le TNF- $\alpha$ .

#### Le CHM (chinese herbal medicine) :

Cette formulation provient de la médecine traditionnelle chinoise et est composé de vingt plantes différentes, dont les racines de *Codonopsis pilosula* dénommé également « ginseng du pauvre », l'Hysope géante entière (*Agastaches seu pogostem*) ou encore les rhizomes de gingembre (*Zingiber officinale*). Ce mélange a permis d'améliorer les symptômes intestinaux et la qualité de vie des patients, selon les avis des patients eux-mêmes et ceux de gastro-entérologues (347).

#### Le Tong-xie-ning (TXN) :

Le TXN est une formulation composée de quatre plantes utilisées dans la médecine traditionnelle chinoise. Les racines de Pivoine de Chine (*Paeonia lactiflora*), les rhizomes de Bai Zhu (*Atractylodes macrocephala*), le mandarinier (*Citrus reticulata*) et l'*Allium macrostemon* entrent dans sa composition. Utilisé chez des patients souffrant de désordres intestinaux, le TXN a permis de réduire significativement la durée et la fréquence des douleurs abdominales et a également permis d'améliorer la consistance et la fréquence des selles (348)

#### *Sasa quelpartensis* :

*Sasa quelpartensis* (SQ) est un bambou nain originaire de Corée. Des chercheurs se sont intéressés à son utilisation dans les MICI, notamment son action sur le microbiote, car cette espèce végétale a montré qu'elle possédait un pouvoir antiinflammatoire et anticancéreux (349). Les extraits de feuilles de SQ contiennent des polysaccharides, des acides aminés et, des polyphénols, en particulier l'acide *p*-coumarique et la tricine. En plus d'avoir un effet anti-obésité (350), le SQ module les effets antiinflammatoires en régulant les médiateurs inflammatoires comme l'oxyde nitrique, le TNF- $\alpha$  ou encore COX-2, à la fois *in vitro* et *in vivo* (351).

Afin d'étudier les effets potentiels de SQ sur la microflore intestinale, des extraits de feuilles de SQ ont été utilisés pour traiter des souris atteintes de colite induite par le DSS. Dans cette population de souris, le ratio *Bacteroidetes/Firmicutes* balance en faveur des *Bacteroidetes*, tandis que chez les souris non atteintes, les *Firmicutes* prédominent. À la suite d'une supplémentation de SQ, les populations bactériennes chez les souris atteintes se sont normalisées (Figure 56). De plus, chez les souris traitées par SQ, les populations de *Bacteroidaceae*, de *Ruminococcaceae* et de *Lachnospiraceae* retrouvent une composition similaire aux souris de contrôle, de même que les clostridies ou les bacteroides (Figure 57) (352).

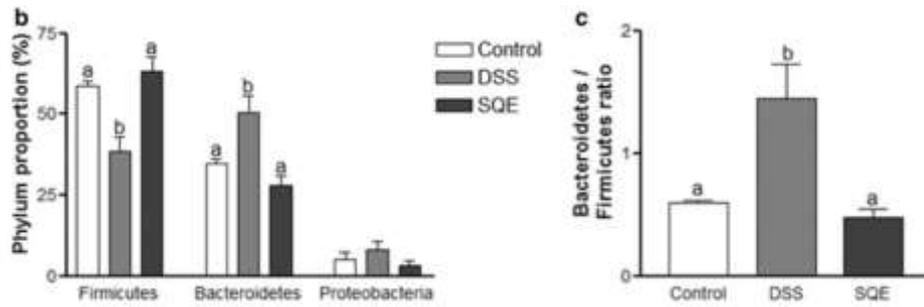


Figure 55 Composition bactérienne dans les différentes populations de souris

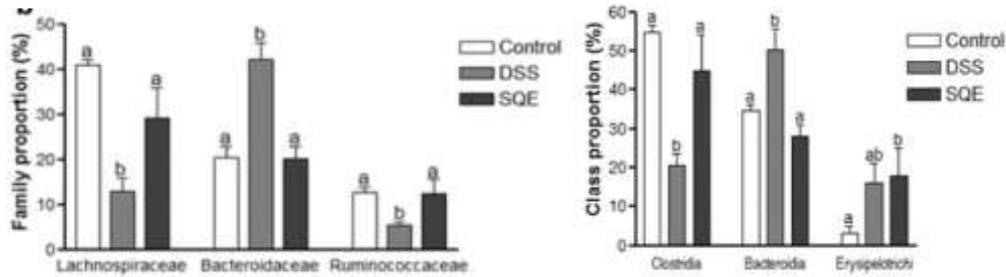


Figure 56 Populations bactériennes présentes dans les différentes souris

La colite induite engendre un changement de composition bactérienne qui amène l'état inflammatoire retrouvé au niveau du colon. Les extraits de feuilles de SQ permettent de maîtriser les variations de populations bactériennes intestinales et de les normaliser et de diminuer l'inflammation présente. Ces résultats confirment le potentiel naturel thérapeutique de SQ dans la modulation des dysbioses retrouvées dans les MICI.

### iii. Conclusion :

Les méthodes naturelles, quelles qu'elles soient, représentent une très bonne alternative aux traitements médicamenteux classiques, notamment grâce à une tolérabilité bien meilleure et bien moins d'effets indésirables. Parmi les antibiotiques, la rifaxymine est celui à privilégier car cette molécule possède une activité se rapprochant des effets bénéfiques espérés. L'utilisation de plantes ou de mélanges de plantes se révèle comme une très bonne alternative aux traitements allopathiques classiques. Cependant, plusieurs points freinent le développement de leur utilisation, notamment le manque d'études sur les composés actifs des plantes et leurs mécanismes d'actions. D'autre part, certaines précautions sont à prendre car les plantes ne sont pas totalement dénuées de dangers, certaines présentent une toxicité avérée et leur utilisation nécessite l'avis d'experts.

### e) Les probiotiques et prébiotiques :

Les probiotiques sont, selon l'OMS, des microorganismes vivants qui, administrés en quantité adéquate, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte. Depuis plusieurs années, le domaine des probiotiques est en plein essor. En effet, plus de 6000 publications traitent de ce sujet. Les principaux microorganismes utilisés comme probiotiques sont les bifidobactéries et les bactéries lactiques, mais d'autres bactéries le sont également. Il est important de souligner que les effets biologiques des probiotiques sont spécifiques à la souche utilisée, et le succès ou

l'échec d'une souche ne peuvent être extrapolés à une autre. Il existe trois mécanismes d'actions des probiotiques grâce auxquels ils exercent leurs actions bénéfiques (Figure 58).

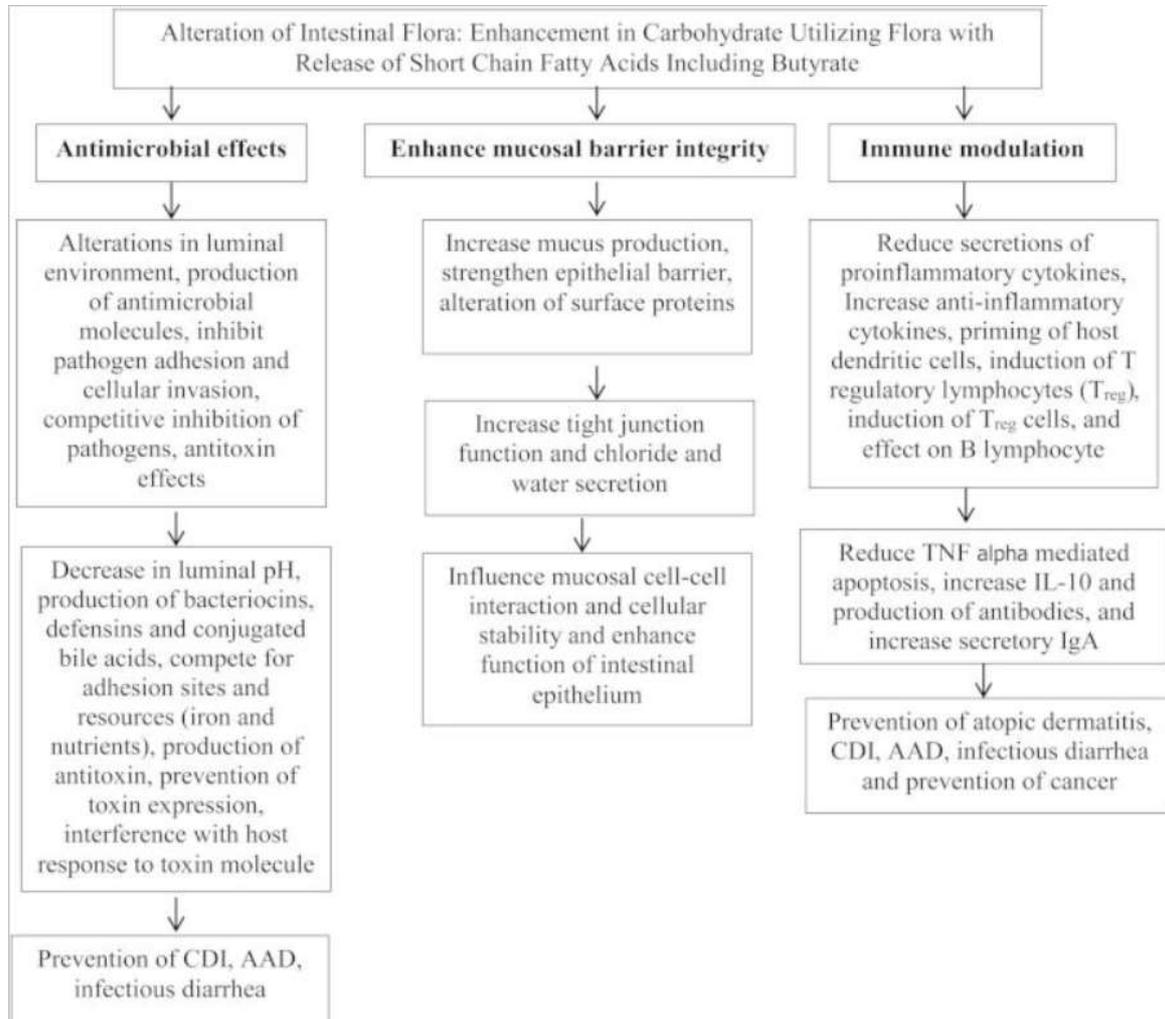


Figure 57 Mécanismes d'actions et effets biologiques des probiotiques, prébiotiques et synbiotiques (353)

D'abord, ils peuvent posséder une activité antimicrobienne, par le biais d'une production de bactériocine, de peroxyde d'hydrogène ou d'acides organiques (354). Les spectres d'actions de ces molécules est très large, par exemple, le probiotique *Lactobacillus salivarius* UCC118 produit une bactériocine qui inhibe de nombreux pathogènes comme des espèces d'*Enteroccus*, *Bacillus*, *Staphylococcus* et *Salmonella*. D'autres probiotiques vont produire des enzymes hydrolytiques qui vont augmenter les concentrations des AGCC, réduisant alors le pH luminal. Le fait de maintenir un pH bas crée un environnement restrictif pouvant inhiber la prolifération de bactéries pathogènes. Cela a été démontré dans une étude sur des souris porteuses d'une bactérie létale, une *Escherichia coli* productrice de shiga toxine. L'administration à ces souris du probiotique *Bifidobacterium breve* a provoqué une diminution du pH luminal suite à l'augmentation de production des AGCC, permettant d'augmenter la survie des animaux (355). Ces découvertes ont été confirmées chez l'Homme, sur des patients souffrant de RCH (356).

Deuxièmement, les probiotiques favorisent l'intégrité de la muqueuse et son pouvoir défensif. En effet, en adhérant à l'épithélium et au mucus, ils rentrent en compétition avec les pathogènes et préviennent leur invasion. Les probiotiques inhibent directement les fonctions d'adhérence des pathogènes dans le système intestinal (357). Les bactéries probiotiques rentrent aussi en compétition avec les autres microorganismes vis-à-vis des ressources disponibles qui sont limitées. Le fer, par exemple, est un élément indispensable pour la majorité des espèces bactériennes. Le probiotique *Escherichia coli* Nissle 1917 possède plusieurs mécanismes de captation du fer, permettant d'utiliser cette ressource limitée et donc d'inhiber la prolifération d'autres microorganismes (358). La perturbation de la barrière épithéliale est retrouvée dans plusieurs pathologies comme les diarrhées infectieuses, les MICI ou certaines maladies auto-immunes. Le renforcement de cette barrière par les probiotiques est un point clé dans l'amélioration de l'état de santé de l'hôte dans ces maladies. En effet, chez des souris déficiente en IL-10, l'addition d'espèces de *Lactobacillus* améliore l'intégrité de la barrière intestinale et des jonctions serrées, permettant alors de prévenir le développement de la colite (359).

Le dernier mécanisme d'action des probiotiques est leur capacité à moduler l'immunité de l'hôte. Les probiotiques interagissent avec les cellules épithéliales intestinales à travers certains récepteurs cellulaires, comme les TLR. Ces interactions vont engager la production de plusieurs cytokines défensives, comme l'IL-10 ou le TGF- $\beta$ , pouvant inhiber l'apoptose et mener à la régénération cellulaire. Cet effet a été démontré avec le probiotique *Lactobacillus rhamnosus* GG qui prévient l'apoptose cytokine-induite des cellules épithéliales intestinales (360). Les probiotiques modulent également les cellules dendritiques, qui présenteront alors les antigènes aux cellules immunitaires. Les cellules dendritiques reconnaissent et répondent aux différentes bactéries en faisant un lien du système immunitaire inné au système immunitaire acquis et en développant les réponses cellulaires B et T. Les cellules Treg peuvent être elles aussi induites par les probiotiques, pouvant être à l'origine de l'effet anti-inflammatoire qu'ils exercent dans certaines maladies inflammatoires comme la dermatite atopique ou la maladie de Crohn (361). Pour finir, les probiotiques peuvent moduler les réponses immunes nécessaires pour se défendre vis-à-vis d'antigènes potentiellement néfastes via les lymphocytes B et la production d'anticorps. En effet, les enfants présentant une diarrhée aiguë aux rotavirus, chez qui les probiotiques *Lactobacillus rhamnosus* GG a été administré, étaient mieux capables de potentialiser une réponse immunitaire humorale non spécifique, révélée par une augmentation de la sécrétion d'IgG, d'IgA et d'IgM par les lymphocytes circulants, entraînant alors une durée de diarrhée significativement plus courte (362).

Les probiotiques peuvent être utilisées pour de nombreuses raisons, comme le traitement de simples désordres intestinaux tels que la diarrhée, mais entraînent également des effets bénéfiques sur plusieurs maladies extra-digestives comme la réduction du cholestérol total. Certains travaux montrent également que les probiotiques sont capables de diminuer la taille des tumeurs ou de moduler les activités cérébrales (en particulier dans les troubles autistiques), mais il est nécessaire de confirmer ces études par des essais randomisés en double aveugle avant de recommander les probiotiques dans ces cas de figure.

*Lactobacillus rhamnosus* est un des probiotiques les mieux connus et possède diverses actions bénéfiques sur l'organisme. Cette espèce bactérienne est capable de prévenir et de réduire la sévérité de la dermatite atopique, peut prévenir l'entérocolite nécrosante du nourrisson, réduit le risque de développer des maladies allergiques ou encore, peut être utilisé dans le traitement des gastro-entérites chez l'enfant. *Lactobacillus reuteri* est capable, quant à lui, de réduire le

LDL cholestérol ou la fréquence des sepsis et de l'intolérance alimentaire chez les prématurés. Une autre espèce qui a été bien étudiée est *Saccharomyces boulardii*, une levure, qui est utilisée majoritairement en prévention des diarrhées associées ou non aux antibiotiques. Les espèces appartenant au genre *Bifidobacterium*, comme *B. infantis*, *B. animalis* ou *B. breve*, ont prouvé leur efficacité dans les constipations (363), les diarrhées du voyageur et associée aux antibiotiques (364) et elles sont capables de maintenir la rémission de l'activité inflammatoire de la RCH (365). La majorité des espèces utilisées comme probiotique et leurs potentiels rôles thérapeutiques sont regroupés dans les Annexes 1 et 2. Même si une vingtaine de souches ont démontré leurs actions bénéfiques sur la santé, la plupart des probiotiques mis sur le marché dans le but de traiter ou de prévenir certaines pathologies sont limités aux souches de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium*. Cependant, une autre génération de probiotiques va apparaître et sont à l'étude, comme *Faecalibacterium prausnitzii* qui est anti-inflammatoire ou *Akkermansia muciniphila* qui peut moduler le phénomène d'obésité (366). Les probiotiques peuvent être des éléments majeurs dans le traitement des états dysbiotiques, néanmoins, la plupart des probiotiques commercialisés ne sont pas retrouvés dans des concentrations suffisantes dans les produits thérapeutiques mis sur le marché et un manque de données quant à leur utilisation est souvent constaté.

Les prébiotiques sont des oligosaccharides non digestibles comme les fructooligosaccharides (FOS), les galactooligosaccharides (GOS), la lactulose, la pectine ou l'inuline. Ces composés sont retrouvés naturellement dans les fruits, les légumes ou le miel. Les prébiotiques ont la capacité de stimuler la croissance de bactéries bénéfiques pour la santé, comme les lactobacilles ou les bifidobactéries (367). A cause de leur structure, les prébiotiques échappent à leur digestion dans l'intestin grêle pour arriver dans le côlon où ils seront fermentés par des bactéries spécifiques en AGCC et lactate. Des études ont démontré que les prébiotiques étaient capables d'augmenter la production d'AGCC qui vont moduler la production de cytokine dans la muqueuse intestinale en modifiant la composition bactérienne intestinale. En effet, chez l'Homme, l'administration de 10 g de GOS a permis l'augmentation du nombre de bifidobactéries et modifie le métabolisme de fermentation de la microflore (368).

Lorsque de l'inuline est administré à des souris, le nombre de bifidobactéries augmente de façon significative, avec une corrélation inverse avec les taux de LPS, le développement de la tolérance au glucose et la masse grasseuse (369). De plus, l'administration de ce prébiotique a montré des résultats positifs sur la perte de poids des personnes en situation d'obésité (370). Les prébiotiques peuvent aussi se montrer utiles dans les cas d'hypercholestérolémie. Chez des hamsters complémentés en inuline pendant cinq semaines, le cholestérol total a diminué de 29% et les triglycérides de 63% (371). Une autre étude portée sur le prébiotique xylooligosaccharide a montré une réduction de 27% des triglycérides (372). Chez l'Homme, l'administration d'inuline chez des patients atteints d'hypercholestérolémie a permis de réduire les triglycérides d'environ 400mg/L (valeur usuelle <1,5g/L) (373).

Les prébiotiques ont également démontré qu'ils étaient capables de réduire l'incidence des cancers chez l'animal. Les rats et souris nourris avec de l'inuline et/ou des FOS possèdent un nombre réduit de lésions précancéreuses chimiquement induite (374). D'autres études portant sur les FOS et l'inuline ont mis en évidence une diminution des cancers du sein (375) et une réduction de l'incidence des tumeurs intestinales chez les souris dont l'alimentation a été complétée avec ces prébiotiques (5 à 15% d'apport journalier) (376). Ces résultats sont encore meilleurs si des probiotiques (*Lactobacillus rhamnosus* et *Bifidobacterium lactis*) sont ajoutés en combinaison aux prébiotiques (377).

La récurrence des diarrhées associées à *Clostridium difficile* peut aussi être diminuée en utilisant des prébiotiques. Dans une étude portée sur 142 patients souffrant de ces troubles diarrhéiques, il a été administré, dans deux groupes de patients, des FOS ou un placebo durant trente jours en plus du traitement antibiotique approprié. Dans la population ayant reçu le placebo le taux de récurrence des diarrhées était de 34,3% contre 8,3% chez les patients ayant reçus les FOS (378).

Enfin, les prébiotiques sont efficaces dans certaines situations allergiques. Ils permettent notamment de réduire de 32% l'incidence de la dermatite atopique du nourrisson (379). Dans l'eczéma, l'utilisation d'une combinaison de FOS et de GOS permet de réduire significativement le phénomène allergique. Une étude chez les nourrissons atteints d'eczéma atopique et traités par cette association de prébiotiques a permis de mettre en évidence une réduction de l'incidence de l'eczéma à 9,8% (380).

Les synbiotiques sont une association de probiotiques et de prébiotiques afin de faciliter la survie et l'activité des probiotiques *in vivo*, tout en stimulant les autres espèces bactériennes intestinales. Les prébiotiques et probiotiques agissent en synergie pour procurer un effet bénéfique sur la santé. L'efficacité des synbiotiques a été démontré dans plusieurs études. Par exemple, l'utilisation de *Bifidobacterium longum* et d'inuline/FOS durant six mois, a permis d'améliorer la symptomatologie de la maladie de Crohn, de réduire l'activité de la maladie, d'améliorer le score histologique des patients, de réduire significativement l'expression du TNF- $\alpha$  et de permettre la prolifération des bifidobactéries attachées à la muqueuse (381). Dans la recto-colite hémorragique, l'utilisation de *Bifidobacterium longum* et de psyllium et/ou des GOS a permis d'améliorer la qualité de vie des patients et d'obtenir un meilleur score endoscopique (classification de Matts) vis-à-vis de la pathologie (382).

#### *La transplantation de microbiote fécal :*

La transplantation de microbiote fécal est une technique dans laquelle un microbiote de donneur sain est transféré dans un patient receveur, afin de pouvoir restaurer une communauté microbienne stable. La TMF fait aujourd'hui l'objet de nombreuses études prouvant son efficacité dans de nombreuses pathologies extra-digestives liées à la dysbiose telles que les désordres allergiques, les désordres psychiatriques ou encore les tumeurs. La première utilisation de fèces pour traiter des patients date de plus de 1700 ans (vers 300 après JC) et était pratiquée par un scientifique chinois dénommé Ge Hong (383). Ce n'est qu'en 1978 que la TMF fut reconnue en occident, suite à des travaux montrant son potentiel thérapeutique dans le traitement de la colite pseudomembraneuse associée aux antibiotiques (384). De nos jours, la pratique est en pleine expansion même s'il persiste de nombreuses incertitudes, concernant notamment les risques de rejets immunitaires. L'avantage de cette technique par rapport aux probiotiques est qu'elle contient de nombreuses espèces bactériennes mais aussi plusieurs substances comme des vitamines ou des acides biliaires, pouvant contribuer à la restauration de l'intégrité colique par mimétisme de l'environnement optimal. Lors d'une TMF, le microbiote intestinal change constamment dans le temps, passant d'abord d'un état moins diversifié à un écosystème digestif ressemblant à celui d'un donneur. Ces changements dynamiques de populations permettent d'identifier les groupes bactériens représentant au mieux l'environnement digestif et les mécanismes de normalisation des fonctions intestinales.

L'utilisation de la TMF dans le traitement des colites à *Clostridium difficile* a démontré qu'il s'agissait d'une technique à très haute efficacité. En effet, sur 583 patients, le taux de traitement réussi atteint plus de 90% d'efficacité (385). Ces infections à *Clostridium* sont

liées à une dysbiose intestinale, c'est pourquoi la TMF a été envisagé dans le traitement des MICI. Dans une étude portée sur 5 personnes souffrant de RCH, une TMF a été instaurée et un patient a répondu positivement à la technique, suite à l'augmentation du microbiote dérivé du donneur, notamment *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia faecis* et *Bacteroides ovatus* (386). La maladie de Crohn répond moins bien à la TMF que la RCH, cependant des travaux chez des patients atteints de sévère MC ont montrés que la TMF pouvait agir en tant que thérapie de secours en modulant la colite (387). Les principaux effets indésirables rencontrés dans ces utilisations sont peu nombreux et se limitent à de la fièvre, des douleurs abdominales, des diarrhées ou encore à de la fatigue (388).

L'utilisation de la TMF ne se limite pas aux pathologies intestinales. En effet, dans des essais effectués chez des patients présentant un syndrome métabolique, la TMF a permis d'améliorer la sensibilité à l'insuline et d'augmenter la production bactérienne intestinale d'AGCC suite à un traitement de six semaines (389). Hormis les maladies métaboliques, la TMF a été testée dans la maladie de Parkinson suite à la constatation de la disparition des symptômes neurologiques d'un patient ayant reçu des antibiotiques pendant dix mois. En utilisant la FMT chez des patients souffrants de la maladie de Parkinson, des améliorations symptomatologiques ont été constatés (390), indiquant dès lors une toute nouvelle façon de penser quant au traitement de la maladie. D'autre part, des patients atteints de scléroses multiples, dont la pathogenèse est liée aux microbiote intestinale, recevant une TMF pour des soucis de constipation ont vu se voir rétablir leur défécation et une amélioration des symptômes neurologique a été constatée, améliorant dès lors leur qualité de vie (391). Les TMF peuvent également avoir un intérêt dans certaines pathologies auto-immunes. Un patient présentant une RCH a été traité par une TMF et celui-ci présentait également un purpura thrombocytopenique immunologique, maladie dans laquelle des anticorps sont dirigés contre les plaquettes. A la suite de l'intervention, une inversion profonde du purpura et la normalisation des plaquettes ont été retrouvées (392).

La TMF s'est avérée être une technique très efficace contre les infections récurrentes à *Clostridium*. Des études de cas ont également soulevé l'implication de la TMF dans le traitement d'un large éventail de conditions pathologiques associées à une dysbiose intestinale. Cependant, des données supplémentaires concernant le développement de cette méthode et la compréhension de ses mécanismes d'actions pourraient, à l'avenir, permettre d'apporter une thérapeutique adéquate dans de nombreuses pathologies digestives ou non, associées aux dysbioses intestinales.

#### *f) Importance de l'alimentation :*

L'alimentation joue un rôle capital dans la prévention et dans l'aide au traitement des dysbioses. La nourriture que l'on ingère ne permet pas seulement de suffire à nos propres besoins, elle est également utilisée par les milliards de bactéries résidant dans notre système intestinal. La qualité, la quantité et la diversité des aliments sont primordiaux pour l'organisme et pour ces espèces bactériennes. Une mauvaise alimentation entrainera divers troubles, pouvant gravement nuire aux individus, comme le diabète, les phénomènes d'obésité, ou encore l'hypertension et favorisera la prolifération de certains microorganismes pouvant être responsable d'une dysbiose. Dans ce mini-chapitre, les différentes mesureshygiéno-diététiques et les comportements alimentaires à adopter seront présentés.

## La digestion :

La digestion est un phénomène capital dans l'assimilation par l'organisme des différents nutriments ingérés. Si un défaut de la digestion se présente, une malabsorption voire des déficits en molécules essentielles pourront apparaître. Chez les patients dysbiotiques, différentes phases de la digestion sont altérées, ce qui peut être la cause ou une des conséquences d'une dysbiose. Par exemple, une hypochlorhydrie gastrique est parfois retrouvée chez les personnes atteintes de dysbiose. L'acide chlorhydrique (HCl), en quantité insuffisante, n'effectuera plus de manière adéquate son action antibiotique et certaines souches bactériennes normalement tuées par l'HCl pourront survivre et proliférer (40). D'ailleurs, les patients sous IPP présentent plus facilement un état dysbiotique par rapport à une personne sans traitement. Un manque d'enzymes digestives peut aussi être constaté, comme un déficit en lactase ou en saccharase, ce qui sélectionnera également des espèces bactériennes et entraînera l'apparition de symptômes cliniques. L'insuffisance biliaire peut entraîner des déficits en AGPI ou en vitamine liposolubles, favorisant là encore la survenue d'une dysbiose. Afin de soutenir la digestion et de corriger les troubles ci-dessus, hormis les médicaments classiques (bétaine HCL pour l'hypochlorhydrie, de la lactase pour l'insuffisance d'enzymes etc) certaines plantes digestives sont utilisées de manière traditionnelle dans de nombreux pays. Les plantes sont globalement les mêmes que celles utilisées pour leur huile essentielle, comme le cumin (*Cuminum cyminum*), le fenouil (*Foeniculum vulgare*) ou l'anis vert (*Pimpinella anisum*).

## La muqueuse intestinale :

L'intégrité de la muqueuse intestinale est essentielle pour éviter les états dysbiotiques. Afin de préserver ou restaurer ses fonctionnalités, la supplémentation de nutriments essentiels pour les cellules intestinales peut s'avérer être un choix judicieux. La glutamine, vu dans les chapitres précédents, s'utilise par voie orale à des doses avoisinant les trois grammes par jour et permet d'améliorer la perméabilité intestinale (393). La glutamine est retrouvée dans de nombreux aliments comme les viandes ou les légumineuses. Autre élément, le zinc, qui est indispensable pour la muqueuse intestinale. En effet, un déficit en celui-ci entraîne une altération de la digestion, de l'absorption et de la croissance de l'intestin grêle (394). Le zinc est aussi immunostimulant et maintient l'intégrité du système immunitaire. On le retrouve dans des aliments comme les poissons blancs ou les œufs.

Les AGPI sont retrouvés dans la composition des membranes cellulaires et permettent de renforcer l'intégrité de la muqueuse. D'autre part, les AGPI agissent en synergie avec les probiotiques. En effet, ils favorisent l'adhésion des probiotiques (notamment des *Lactobacillus*) pour accroître leur efficacité (395). Les AGPI se retrouvent dans les poissons gras, comme le saumon, et dans différentes huiles végétales, comme l'huile de graines de lin. Rappelons aussi l'utilité du butyrate, dont les bienfaits ont été rapportés dans les chapitres précédents et qui est la source de carbone préférentielle des colonocytes. Les anti-oxydants ainsi que différentes plantes comme l'aloès (*Aloe vera*) ou le thé vert (*Camellia sinensis*) sont utilisés pour protéger les cellules intestinales et maintenir l'intégrité de la muqueuse intestinale.

## Les mesures alimentaires :

Une des premières mesures alimentaires à adopter est de limiter (voire supprimer) la consommation des sucres rapides, qui sont les nutriments préférentiels des bactéries de fermentation pouvant dès lors mener à une dysbiose par fermentation excessive. Tous les sucres simples surajoutés dans notre alimentation doivent être bannis. Parmi eux, il y a le glucose, le saccharose ou encore le fructose, dont on pense à tort qu'il est bien meilleur que le saccharose. Les sucres simples que l'on peut consommer se trouvent dans le miel naturel, dans les fruits frais ou dans les jus de fruits préparés soi-même. Même si certains patients répondent très bien à cette mesure diététique, son application de manière stricte et prolongée reste difficile à mettre en œuvre, car l'industrie agro-alimentaire surajoute ces sucres dans une très large majorité d'aliments.

Une alimentation trop riche en glucides, y compris en glucides complexes, représente une cause majeure de dysbiose de fermentation. D'ailleurs, chez ces patients, l'amélioration de la dysbiose est facilitée par une augmentation de la ration protéique. Il est conseillé de ne pas suivre un régime qui comporte plus de 50% de glucides pour prévenir la dysbiose. Adopter une alimentation équilibrée est essentiel et la répartition des quantités de macronutriments devrait être de 40% de glucides, 30% de lipides et 30% de protéines. Lorsqu'il existe un excès de glucides, ceux-ci ne sont plus métabolisés car les capacités enzymatiques se retrouvent vite dépassées. C'est ce reste de nutriments qui profitera aux bactéries et il leur permettra de proliférer. Dans ce cas, une anamnèse alimentaire doit être effectuée pour rechercher les consommations supplémentaires de glucides complexes, fréquemment retrouvées et à distinguer des sucres rapides.

L'opinion générale ne possède pas une bonne estime des lipides, car il leur a été imputé d'être la cause de nombreux désordres métaboliques comme l'obésité ou l'hypercholestérolémie. Certes, une consommation excessive de graisses peut avoir un rôle néfaste sur l'organisme, mais l'importance des lipides pour le corps humain est capitale. Il faut limiter les acides gras saturés, les mauvaises graisses, contenues notamment dans les graisses animales, l'huile de coco ou l'huile de palme, et il faut éviter de consommer plus de 20g d'acides gras saturés par jour pour les femmes et 30g par jour pour les hommes. Les acides gras poly-insaturés sont à privilégier, notamment les oméga-3 et -6 (acide  $\alpha$ -linoléique et acide linoléique, par exemple) qui sont des acides gras indispensables pour l'organisme que l'on retrouve dans la plupart des huiles végétales (colza, olive ou maïs) et dans les poissons gras comme le saumon ou les sardines. Une faible ration de ces lipides déprime l'immunité, empêche l'utilisation des vitamines liposolubles, ne permet pas de nourrir suffisamment la muqueuse intestinale et peut contribuer à l'apparition d'une dysbiose.

Les perturbateurs de l'environnement intestinal sont à éviter, notamment les aliments allergisants qui par leur interaction avec l'organisme peuvent être la cause d'une dysbiose chez ces patients, ou l'alcool, qui provoque des dégâts considérables sur la muqueuse intestinale, en désagrégeant les filaments d'actine présent dans le cytosquelette des entérocytes, et est un grand perturbateur de la microflore. Certaines épices comme les poivres, les piments ou l'ail peuvent également aggraver la muqueuse intestinale et sont donc à limiter, voire à supprimer totalement dans certains cas.

## V. Conclusion :

Le microbiote intestinal est composé de milliards de bactéries appartenant à une grande diversité de phyla bactériens. Loin d'être là comme de simples colonisateurs et à l'aide de l'environnement intestinal leur fournissant toutes les conditions optimales et les nutriments nécessaires à leur survie, les bactéries s'établissent efficacement dans le tractus intestinal et y exercent de nombreux rôles physiologiques indispensables pour la bonne santé de l'hôte. Ces microorganismes agissent en symbiose avec la muqueuse intestinale et favorisent son intégrité en lui apportant des ressources nutritives et en la protégeant des pathogènes. L'équilibre entre les différentes populations bactériennes est essentiel et est sous la dépendance de nombreux facteurs de contrôle. Si cet équilibre est rompu, on parle de dysbiose, une espèce sélectionnée proliférera de manière exagérée en dépit d'une autre et sera susceptible de déclencher des pathologies digestives ou extra-digestives, comme des diarrhées ou des phénomènes d'hypertension. Le maintien de l'équilibre entre les bactéries est essentiel pour prévenir ou guérir de certaines maladies associées aux dysbioses. Afin de restaurer l'équilibre, nous disposons d'un arsenal thérapeutique limité à la fois par manque de molécules disponibles et par un manque évident de données sur leur mécanisme d'action, ne favorisant pas leur intégration dans le traitement de la dysbiose.

Les antibiotiques comme la rifaximine constituent le traitement de référence mais ils sont dotés de nombreux effets indésirables et l'efficacité attendue est souvent décevante. La plupart des autres traitements antibactériens allopathiques ne présentent pas les bénéfices attendus et espérés. Les méthodes curatives naturelles comme l'utilisation d'huiles essentielles ou l'usage de la phytothérapie souvent issues de médecines traditionnelles ont confirmé qu'elles pouvaient être un traitement bénéfique tant sur le plan curatif que sur le plan préventif. D'autres thérapeutiques comme les probiotiques ou la transplantation de microbiote fécale sont envisageables et ces moyens semblent être une des options les plus efficaces dans la restauration de l'équilibre intestinal. Néanmoins, une amélioration des connaissances pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de ces précédents procédés doit être entreprise dans l'espoir de voir naître un jour un traitement adaptable et applicable pour chaque personne présentant un état dysbiotique.

Une des plus grandes avancées restant à effectuer concerne l'alimentation. De nos jours, elle est souvent négligée, soit par manque de temps (fast-food, plats industriels préparés etc) ou bien par manque d'argent. L'idée que l'alimentation soit la base de notre santé à du mal à se faire une place dans la pensée collective, pourtant la majorité des maladies de notre génération provient de la pauvreté nutritionnelle, voire la toxicité, des aliments que nous ingérons. L'hypertension, le diabète, l'hypercholestérolémie et d'autres encore ont toutes un lien avec notre alimentation et notre microbiote. L'un des principaux responsables de ce désastre est l'industrie agro-alimentaire, en utilisant de nombreux perturbateurs de l'environnement intestinal, comme les pesticides ou certains additifs, mais aussi en surchargeant les plats en sel, en mauvaises graisses et en sucre qu'ils mettent à disposition du public. Il ne faut pas oublier que le but principal de cette industrie est de prospérer et donc de faire passer le profit et la baisse des coûts avant la santé des consommateurs. Une très grande majorité de la nourriture retrouvée dans les grandes surfaces est absolument à éviter car néfaste sur la santé, démontrant la passivité de la législation quant à l'autorisation de mettre sur le marché des aliments aussi dénués d'effets bénéfiques. De tous temps, l'Homme n'a jamais si peu manqué de nourriture. Et pourtant, il n'a jamais si mal mangé.

Annexe 1 :

Genus	Species	Recently published health claims with references (strain specific date is noted where available)
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. rhamnosus</i>	Reduction of viral-associated pulmonary damage ( <i>L. rhamnosus</i> CRL1505) ; prevention and reduction of severity of atopic dermatitis in children ( <i>L. rhamnosus</i> GG) ; reduction of risk for developing allergic disease ( <i>L. rhamnosus</i> GG) ; ( <i>L. rhamnosus</i> HN001) ; anti-diabetic potential (various strains from human infant faecal samples) ; prevention of necrotizing enterocolitis in newborns ( <i>L. rhamnosus</i> GG) ; prevention or treatment of bacterial vaginosis ( <i>L. rhamnosus</i> GR-1) ; aid in weight loss of obese women ( <i>L. rhamnosus</i> CGMCC1.3724) ; treatment of acute gastroenteritis in children ( <i>L. rhamnosus</i> GG) ; reduction of risk for norovirus infections in preterm infants ( <i>L. rhamnosus</i> GG and <i>L. rhamnosus</i> ATCC 53103) ; protection of human ocular muscle from lipopolysaccharide-induced damage ( <i>L. rhamnosus</i> GG)
	<i>L. acidophilus</i>	Treatment of travellers' diarrhoea ; reduction of hospital stay of children with acute diarrhoea ; antibiogram activity ( <i>L. acidophilus</i> ATCC-4495) ; prevention or treatment of bacterial vaginosis ; treatment of <i>C. difficile</i> -associated diarrhoea ; reduction of incidence of feline urinary tract infections in children ; reduction of irritable bowel syndrome symptoms
	<i>L. plantarum</i>	Prevention of endotoxin production ; antibiogram activity ( <i>L. plantarum</i> NRRL B-4496) ; reduction of irritable bowel syndrome symptoms
	<i>L. casei</i>	Treatment of functional constipation in adults ( <i>L. casei</i> Lcr35 and <i>L. casei</i> Shirota) ; treatment of <i>C. difficile</i> -associated diarrhoea ; restoration of vaginal flora of patient with bacterial vaginosis ( <i>L. casei</i> Lcr35) ; reduction of irritable bowel syndrome symptoms ; reduction of diarrhoea duration of antibiotic-associated diarrhoea in geriatric patients ( <i>L. casei</i> Shirota) ; immunomodulatory mechanisms ( <i>L. casei</i> Shirota) ; improvement of rheumatoid arthritis status ( <i>L. casei</i> 01) ; protection against <i>Salmonella</i> infection ( <i>L. casei</i> CRL-431) ; prevention of <i>Salmonella</i> -induced synovitis ; treatment of intravaginal staphylococcosis ( <i>L. casei</i> IMV B-7280)
	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Antibiotic resistance of yogurt starter culture ; enhancement of systemic immunity in elderly ( <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 8481) ; antibacterial action against <i>E. coli</i> ; modulation of brain activity
	<i>L. brevis</i>	Protective role in bile salt tolerance ( <i>L. brevis</i> KB290) ; reduction in plaque atherogenesis ( <i>L. brevis</i> CD2)
	<i>L. johnsonii</i>	Impact on adaptive immunity for protection against respiratory insults ; reduction of occurrence of gastritis and risk of <i>H. pylori</i> infection ( <i>L. johnsonii</i> MH-68) ; inhibition of <i>S. sonnei</i> activity ( <i>L. johnsonii</i> F0421) ; treatment of perianal allergic rinitis in children together with levocetirizine ( <i>L. johnsonii</i> EM1)
	<i>L. fermentum</i>	Prevention or treatment of bacterial vaginosis ( <i>L. fermentum</i> RC-14) ; blockage of adherence of pathogenic microorganisms on vaginal epithelium ; anti-staphylococcal action ( <i>L. fermentum</i> ATCC 11739) ; potential for reduction of insulin resistance and hypercholesterolemia ( <i>L. fermentum</i> NCIIB 5221)
	<i>L. reuteri</i>	Reduction of low-density lipoprotein cholesterol ( <i>L. reuteri</i> NCIIB 30242) ; treatment of acute gastroenteritis in children ; reduction of diarrhoea duration in children ( <i>L. reuteri</i> ATCC 55730) ; management of infant colic ( <i>L. reuteri</i> ATCC 55730 and <i>L. reuteri</i> DSM 17938) ; reduction of onset of gastrointestinal disorders in infants ( <i>L. reuteri</i> DSM 17938) ; reduction of frequency of provera sepsis, feeding intolerance and duration of hospital stay in preterm infants ( <i>L. reuteri</i> DSM 17938)

Annexe 2 :

	<i>B. infantis</i>	Reduction of irritable bowel syndrome symptoms ; reduction of necrotizing enterocolitis in preterm infants
	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Treatment of functional constipation in adults ( <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> DN-173 010) ; reduction of incidence of febrile urinary tract infections in children ; modulation of brain activity ; reduction of necrotizing enterocolitis in preterm infants ; reduction of total microbial counts in dental plaque ( <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> DN-173 010) ; reduction of total cholesterol ( <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> MB 202/DSMZ 23733) ; reduction of risk of upper respiratory illness ( <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> B1-04)
<b>Bifidobacterium</b>	<i>B. bifidum</i>	Reduction of hospital stay of children with acute diarrhoea ; reduction of necrotizing enterocolitis in preterm infants ; reduction of total cholesterol ( <i>B. bifidum</i> MB 109/DSMZ 23731)
	<i>B. longum</i>	Prevention and treatment of necrotizing enterocolitis in newborns ; reduction of radiation induced diarrhoea ; reduction of necrotizing enterocolitis with Bifidobacteria cocktail ( <i>B. breve</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> ) ; reduction of irritable bowel syndrome symptoms ; treatment of gastrointestinal diseases ( <i>B. longum</i> CMCC P0001) ; perinatal intervention against onset of allergic sensitization ( <i>B. longum</i> CCM 7952)
	<i>B. breve</i>	Prevention and treatment of necrotizing enterocolitis in newborns ; reduction of necrotizing enterocolitis with Bifidobacteria cocktail ( <i>B. breve</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> ) ; reduction of cholesterol ( <i>B. breve</i> MB 113/DSMZ 23732)
<b>Saccharomyces</b>	<i>S. boulardii</i>	Treatment of travellers' diarrhoea ; treatment and reduction of diarrhoea duration regardless of cause ; treatment of irritable bowel syndrome ; treatment of moderate ulcerative colitis and reduction of recurrent pseudomonas colitis infection caused by <i>C. difficile</i> ; treatment of acute gastroenteritis in children ; treatment of necrotizing enterocolitis
<b>Lactococcus</b>	<i>L. lactis</i>	Treatment of antibiotic-associated diarrhoea ; adhesion to vaginal epithelial cells ( <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> KLD54.0325) ; missin production ( <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> CV56) ; modulation of brain activity
	subsp. <i>lactis</i>	antimicrobial activity against <i>C. difficile</i> ; antimicrobial and probiotic properties ( <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 11454)
<b>Enterococcus</b>	<i>E. durans</i>	Antibiotic and antioxidant activity ( <i>E. durans</i> LAB186) ; adherence to colonic tissue and anti-inflammatory activity
	<i>E. faecium</i>	Treatment of antibiotic-associated diarrhoea ; efficient animal probiotic
<b>Streptococcus</b>	<i>S. thermophilus</i>	Reduction of irritable bowel syndrome symptoms ; antibiotic resistance of yogurt starter culture ; reduction of necrotizing enterocolitis in preterm infants
<b>Penicillium</b>	<i>P. acidilactici</i>	Probiotic production with antimicrobial and probiotic properties ( <i>P. acidilactici</i> UL5) ; bactericin production ; elimination of <i>H. pylori</i> infections ( <i>P. acidilactici</i> BA28)
<b>Leuconostoc</b>	<i>L. mesenteroides</i>	Leucanin production, probiotic profile (survival at low pH, in presence of bile salts, in presence of pepsin) ( <i>L. mesenteroides</i> B7)

## Bibliographie :

1. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biol.* 19 août 2016;14(8):e1002533.
2. Savage DC. Gastrointestinal Microflora in Mammalian Nutrition. *Annu Rev Nutr.* 1986;6(1):155-78.
3. Blaser MJ. Probiotics and Prebiotics: Where Are We Going? *Emerg Infect Dis.* mai 2003;9(5):610.
4. Hentges DJ. *Human Intestinal Microflora in Health and Disease.* Academic Press; 2012. 587 p.
5. Gut flora in health and disease - The Lancet [Internet]. [cité 25 oct 2017]. Disponible sur: [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(03\)12489-0/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(03)12489-0/fulltext)
6. Direct Analysis of Genes Encoding 16S rRNA from Complex Communities Reveals Many Novel Molecular Species within the Human Gut [Internet]. [cité 26 oct 2017]. Disponible sur: <http://aem.asm.org/content/65/11/4799.long>
7. Zoetendal EG, Ben-Amor K, Harmsen HJM, Schut F, Akkermans ADL, Vos WM de. Quantification of Uncultured Ruminococcus obeum-Like Bacteria in Human Fecal Samples by Fluorescent In Situ Hybridization and Flow Cytometry Using 16S rRNA-Targeted Probes. *Appl Environ Microbiol.* 9 janv 2002;68(9):4225-32.
8. Mitsuoka T. Intestinal Flora and Aging. *Nutr Rev.* 1 déc 1992;50(12):438-46.
9. Hopkins MJ, Sharp R, Macfarlane GT. Age and disease related changes in intestinal bacterial populations assessed by cell culture, 16S rRNA abundance, and community cellular fatty acid profiles. *Gut.* 1 févr 2001;48(2):198-205.
10. Gastrointestinal tract and the elderly: functional...: Lorraine-clic [Internet]. [cité 26 oct 2017]. Disponible sur: <http://resolver.ebscohost.com/bases-doc.univ-lorraine.fr/openurl?sid=Entrez:PubMed&id=pmid:12408434>
11. Wang ZK, Yang YS, Stefka AT, Sun G, Peng LH. Review article: fungal microbiota and digestive diseases. *Aliment Pharmacol Ther.* 1 avr 2014;39(8):751-66.
12. BEH n°14-15/2013 / 2013 / Archives / BEH - Bulletin épidémiologique hebdomadaire / Publications et outils / Accueil [Internet]. [cité 8 mars 2018]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/BEH-Bulletin-epidemiologique-hebdomadaire/Archives/2013/BEH-n-14-15-2013>
13. Virgin HW. The virome in mammalian physiology and disease. *Cell.* 27 mars 2014;157(1):142-50.
14. Clark CG, Diamond LS. Ribosomal RNA genes of « pathogenic » and « nonpathogenic » *Entamoeba histolytica* are distinct. *Mol Biochem Parasitol.* déc 1991;49(2):297-302.
15. Sodeman WA. Intestinal Protozoa: Amebas. In: Baron S, éditeur. *Medical Microbiology* [Internet]. 4th éd. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996 [cité 5 mai 2018]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7742/>

16. Espinosa-Cantellano M, Gonzáles-Robles A, Chávez B, Castañón G, Argüello C, Lázaro-Haller A, et al. Entamoeba dispar: ultrastructure, surface properties and cytopathic effect. *J Eukaryot Microbiol.* juin 1998;45(3):265-72.
17. Gay JD, Abell TL, Thompson JH, Loth V. Entamoeba polecki infection in Southeast Asian refugees: multiple cases of a rarely reported parasite. *Mayo Clin Proc.* août 1985;60(8):523-30.
18. Issa R. NON-PATHOGENIC PROTOZOA (REVIEW ARTICLE). *Int J Pharm Pharm Sci.* 1 janv 2014;6:30-40.
19. Hungate RE. Chapter IV A Roll Tube Method for Cultivation of Strict Anaerobes. In: Norris JR, Ribbons DW, éditeurs. *Methods in Microbiology* [Internet]. Academic Press; 1969 [cité 26 oct 2017]. p. 117-32. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0580951708705038>
20. Freter R. Interactions between mechanisms controlling the intestinal microflora. *Am J Clin Nutr.* déc 1974;27(12):1409-16.
21. Human Fecal Flora: The Normal Flora of 20 Japanese-Hawaiians [Internet]. [cité 26 oct 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC380185/>
22. Balch WE, Fox GE, Magrum LJ, Woese CR, Wolfe RS. Methanogens: reevaluation of a unique biological group. *Microbiol Rev.* juin 1979;43(2):260-96.
23. Moore WE, Holdeman LV. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Appl Microbiol.* mai 1974;27(5):961-79.
24. Azpiroz F, Bernalier-Donadille A, Blottière H, al. Flore microbienne intestinale. John Libbey Eurotext. Montrouge, France; 2004. 247 p.
25. Wilson KH, Blichington RB. Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. *Appl Environ Microbiol.* juill 1996;62(7):2273-8.
26. Krogius-Kurikka L, Kassinen A, Paulin L, Corander J, Mäkituokko H, Tuimala J, et al. Sequence analysis of percent G+C fraction libraries of human faecal bacterial DNA reveals a high number of Actinobacteria. *BMC Microbiol.* 8 avr 2009;9:68.
27. Tannock GW, Fuller R, Smith SL, Hall MA. Plasmid profiling of members of the family Enterobacteriaceae, lactobacilli, and bifidobacteria to study the transmission of bacteria from mother to infant. *J Clin Microbiol.* juin 1990;28(6):1225-8.
28. Nowrouzian F, Hesselmar B, Saalman R, Strannegård I-L, Åberg N, Wold AE, et al. Escherichia coli in Infants' Intestinal Microflora: Colonization Rate, Strain Turnover, and Virulence Gene Carriage. *Pediatr Res.* juill 2003;54(1):8-14.
29. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr.* 5 janv 1999;69(5):1035s-1045s.
30. Ducluzeau R. [Development, equilibrium and role of microbial flora in the newborn]. *Ann Pediatr (Paris).* janv 1993;40(1):13-22.
31. Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 28(1):19-25.

32. Bezirtzoglou E, Romond C. Occurrence of Bifidobacterium in the feces of newborns delivered by cesarean section. *Biol Neonate*. 1990;58(5):247-51.
33. Sakata H, Yoshioka H, Fujita K. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *Eur J Pediatr*. juill 1985;144(2):186-90.
34. Man P de, Verhoeven B a. N, Verbrugh HA, Vos MC, Anker J van den. An antibiotic policy to prevent emergence of resistant bacilli. *The Lancet*. 18 mars 2000;355(9208):973-8.
35. Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterström R. Fecal bacterial microflora of newborn infants during intensive care management and treatment with five antibiotic regimens. *Pediatr Infect Dis*. oct 1986;5(5):533-9.
36. Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P, et al. Intestinal colonization with Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital-delivered infants. *Acta Paediatr Scand*. juill 1991;80(6-7):602-10.
37. Björkstén B, Sepp E, Julge K, Voor T, Mikelsaar M. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol*. 1 oct 2001;108(4):516-20.
38. Harmsen HJ, Wildeboer-veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 30(1):61-7.
39. Development of 16S rRNA-Based Probes for the Coriobacterium Group and the Atopobium Cluster and Their Application for Enumeration of Coriobacteriaceae in Human Feces from Volunteers of Different Age Groups [Internet]. [cité 8 nov 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC92335/>
40. Mouton G. Ecosystème intestinal et santé optimale. Embourg, Belgique: marco pietteur; 2011. 512 p.
41. Exposition Body Worlds. Intestin grêle. Photographie personnelle; 2017.
42. Cario E. Bacterial Interactions with Cells of the Intestinal Mucosa: Toll-Like Receptors and Nod2. *Gut*. 1 août 2005;54(8):1182-93.
43. Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol*. 1 août 2001;2(8):ni0801\_675.
44. Fagarasan S, Kinoshita K, Muramatsu M, Ikuta K, Honjo T. *In situ* class switching and differentiation to IgA-producing cells in the gut lamina propria. *Nature*. 11 oct 2001;413(6856):35098100.
45. Fagarasan S, Honjo T. Intestinal IgA synthesis: regulation of front-line body defences. *Nat Rev Immunol*. 1 janv 2003;3(1):nri982.
46. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular Analysis of Commensal Host-Microbial Relationships in the Intestine. *Science*. 2 févr 2001;291(5505):881-4.
47. Huttner KM, Bevins CL. Antimicrobial Peptides as Mediators of Epithelial Host Defense. *Pediatr Res*. 1 juin 1999;45(6):pr19992475.

48. Hiemstra PS, Fernie-King BA, McMichael J, Sallenave PJJ and J-M. Antimicrobial Peptides: Mediators of Innate Immunity as Templates for the Development of Novel Anti-Infective and Immune Therapeutics [Internet]. *Current Pharmaceutical Design*. 2004 [cité 11 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.eurekaselect.com/62587/article>
49. Jung HC, Eckmann L, Yang SK, Panja A, Fierer J, Morzycka-Wroblewska E, et al. A distinct array of proinflammatory cytokines is expressed in human colon epithelial cells in response to bacterial invasion. *J Clin Invest*. 1 janv 1995;95(1):55-65.
50. Reinecker HC, Podolsky DK. Human intestinal epithelial cells express functional cytokine receptors sharing the common gamma c chain of the interleukin 2 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 29 août 1995;92(18):8353-7.
51. Fiocchi C. Intestinal inflammation: a complex interplay of immune and nonimmune cell interactions. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 1 oct 1997;273(4):G769-75.
52. Deplancke B, Gaskins HR. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *Am J Clin Nutr*. 6 janv 2001;73(6):1131S-1141S.
53. Epple HJ, Kreusel KM, Hanski C, Schulzke JD, Riecken EO, Fromm M. Differential stimulation of intestinal mucin secretion by cholera toxin and carbachol. *Pflüg Arch*. 1 févr 1997;433(5):638-47.
54. Branka JE, Vallette G, Jarry A, Bou-Hanna C, Lemarre P, Van PN, et al. Early functional effects of *Clostridium difficile* toxin A on human colonocytes. *Gastroenterology*. 1 juin 1997;112(6):1887-94.
55. Histochemical, Lectin-Histochemical and Morphometrical Characteristics of Intestinal Goblet Cells of Germfree and Conventional Mice [Internet]. [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/expanim/45/2/45\\_2\\_155/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/expanim/45/2/45_2_155/_article)
56. Szentkuti L, Enss M-L. Comparative Lectin-histochemistry on the Pre-epithelial Mucus Layer in the Distal Colon of Conventional and Germ-free Rats. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 1 janv 1998;119(1):379-86.
57. Aihara E, Engevik KA, Montrose MH. Trefoil Factor Peptides and Gastrointestinal Function. *Annu Rev Physiol*. 2017;79(1):357-80.
58. Kindon H, Pothoulakis C, Thim L, Lynch-Devaney K, Podolsky DK. Trefoil peptide protection of intestinal epithelial barrier function: cooperative interaction with mucin glycoprotein. *Gastroenterology*. août 1995;109(2):516-23.
59. Gassler N. Paneth cells in intestinal physiology and pathophysiology. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 15 nov 2017;8(4):150-60.
60. Sankaran-Walters S, Hart R, Dills C. Guardians of the Gut: Enteric Defensins. *Front Microbiol* [Internet]. 19 avr 2017 [cité 13 déc 2017];8. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5395650/>
61. Bel S, Pendse M, Wang Y, Li Y, Ruhn KA, Hassell B, et al. Paneth cells secrete lysozyme via secretory autophagy during bacterial infection of the intestine. *Science*. 8 sept 2017;357(6355):1047-52.
62. Ouellette AJ. Paneth cells and innate immunity in the crypt microenvironment. *Gastroenterology*. 1 nov 1997;113(5):1779-84.

63. Cellular and molecular mechanisms underlying NOD2 risk-associated polymorphisms in Crohn's disease - Strober - 2014 - Immunological Reviews - Wiley Online Library [Internet]. [cité 18 déc 2017]. Disponible sur: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/imr.12193/abstract;jsessionid=3359F4BA0F1ADC1EAA7236437BF4CA17.f03t02>
64. POTTEN CS, BOOTH C, PRITCHARD DM. The intestinal epithelial stem cell: the mucosal governor. *Int J Exp Pathol.* août 1997;78(4):219-43.
65. Gómez-López S, Lerner RG, Petritsch C. Asymmetric cell division of stem and progenitor cells during homeostasis and cancer. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71(4):575-97.
66. Wong MH, Hermiston ML, Syder AJ, Gordon JI. Forced expression of the tumor suppressor adenomatous polyposis coli protein induces disordered cell migration in the intestinal epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 3 sept 1996;93(18):9588-93.
67. UMESAKI Y. Use of gnotobiotic mice to identify and characterize key microbes responsible for the development of the intestinal immune system. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 11 nov 2014;90(9):313-32.
68. Sakata T, Adachi M, Hashida M, Sato N, Kojima T. Effect of n-butyric acid on epithelial cell proliferation of pig colonic mucosa in short-term culture. *DTW Dtsch Tierarztl Wochenschr.* avr 1995;102(4):163-4.
69. Cherbuy C, Andrieux C, Honvo-Houeto E, Thomas M, Ide C, Druesne N, et al. Expression of mitochondrial HMGCoA synthase and glutaminase in the colonic mucosa is modulated by bacterial species. *Eur J Biochem.* janv 2004;271(1):87-95.
70. Cherbuy C, Darcy-Vrillon B, Morel MT, Pégurier JP, Duée PH. Effect of germfree state on the capacities of isolated rat colonocytes to metabolize n-butyrate, glucose, and glutamine. *Gastroenterology.* déc 1995;109(6):1890-9.
71. Gordon JI, Hooper LV, McNevin MS, Wong M, Bry L. Epithelial cell growth and differentiation. III. Promoting diversity in the intestine: conversations between the microflora, epithelium, and diffuse GALT. *Am J Physiol.* sept 1997;273(3 Pt 1):G565-570.
72. Bry L, Falk PG, Midtvedt T, Gordon JI. A model of host-microbial interactions in an open mammalian ecosystem. *Science.* 6 sept 1996;273(5280):1380-3.
73. Hooper LV, Xu J, Falk PG, Midtvedt T, Gordon JI. A molecular sensor that allows a gut commensal to control its nutrient foundation in a competitive ecosystem. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 17 août 1999;96(17):9833-8.
74. Stilling RM, van de Wouw M, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. The neuropharmacology of butyrate: The bread and butter of the microbiota-gut-brain axis? *Neurochem Int.* oct 2016;99:110-32.
75. Wostmann BS, Pleasants JR. The germ-free animal fed chemically defined diet: a unique tool. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N.* oct 1991;198(1):539-46.
76. Park J, Kotani T, Konno T, Setiawan J, Kitamura Y, Imada S, et al. Promotion of Intestinal Epithelial Cell Turnover by Commensal Bacteria: Role of Short-Chain Fatty Acids. *PLoS ONE* [Internet]. 27 mai 2016 [cité 18 déc 2017];11(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4883796/>

77. Luceri C, Femia AP, Fazi M, Martino CD, Zolfanelli F, Dolara P, et al. Effect of butyrate enemas on gene expression profiles and endoscopic/histopathological scores of diverted colorectal mucosa: A randomized trial. *Dig Liver Dis.* 1 janv 2016;48(1):27-33.
78. Sakata T. Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation of isolated and denervated jejunal segment of the rat. *Scand J Gastroenterol.* sept 1989;24(7):886-90.
79. Hass R, Busche R, Luciano L, Reale E, Engelhardt WV. Lack of butyrate is associated with induction of Bax and subsequent apoptosis in the proximal colon of guinea pig. *Gastroenterology.* mars 1997;112(3):875-81.
80. Kilner J, Waby JS, Chowdry J, Khan AQ, Noirel J, Wright PC, et al. A proteomic analysis of differential cellular responses to the short-chain fatty acids butyrate, valerate and propionate in colon epithelial cancer cells. *Mol Biosyst.* avr 2012;8(4):1146-56.
81. Mandal M, Olson DJ, Sharma T, Vadlamudi RK, Kumar R. Butyric acid induces apoptosis by up-regulating Bax expression via stimulation of the c-Jun N-terminal kinase/activation protein-1 pathway in human colon cancer cells. *Gastroenterology.* janv 2001;120(1):71-8.
82. Bhattacharya S, Ray RM, Johnson LR. Cyclin-dependent kinases regulate apoptosis of intestinal epithelial cells. *Apoptosis Int J Program Cell Death.* mars 2014;19(3):451-66.
83. Ichikawa H, Sakata T. Stimulation of Epithelial Cell Proliferation of Isolated Distal Colon of Rats by Continuous Colonic Infusion of Ammonia or Short-Chain Fatty Acids Is Nonadditive. *J Nutr.* 5 janv 1998;128(5):843-7.
84. Blachier F, Davila A-M, Mimoun S, Benetti P-H, Atanasiu C, Andriamihaja M, et al. Luminal sulfide and large intestine mucosa: friend or foe? *Amino Acids.* 1 juill 2010;39(2):335-47.
85. Babidge W, Millard S, Roediger W. Sulfides impair short chain fatty acid beta-oxidation at acyl-CoA dehydrogenase level in colonocytes: implications for ulcerative colitis. *Mol Cell Biochem.* avr 1998;181(1-2):117-24.
86. Thomas T, Thomas TJ. Polyamines in cell growth and cell death: molecular mechanisms and therapeutic applications. *Cell Mol Life Sci CMLS.* févr 2001;58(2):244-58.
87. Minois N. Molecular Basis of the 'Anti-Aging' Effect of Spermidine and Other Natural Polyamines - A Mini-Review. *Gerontology.* 2014;60(4):319-26.
88. Jouet P, Coffin B, Lémann M, Gorbachev C, Franchisseur C, Jian R, et al. Tonic and phasic motor activity in the proximal and distal colon of healthy humans. *Am J Physiol.* mars 1998;274(3 Pt 1):G459-464.
89. Narducci F, Bassotti G, Gaburri M, Morelli A. Twenty four hour manometric recording of colonic motor activity in healthy man. *Gut.* janv 1987;28(1):17-25.
90. Lémann M, Flourié B, Picon L, Coffin B, Jian R, Rambaud JC. Motor activity recorded in the unprepared colon of healthy humans. *Gut.* nov 1995;37(5):649-53.
91. Ducrotté P, Gourcerol G. Motricité du côlon et du rectum. *EMC - Hépatogastro-entérologie.* 1 juill 2005;2(3):177-88.
92. Dinning PG. Recording In Vivo Human Colonic Motility: What Have We Learnt Over the Past 100 Years? *Adv Exp Med Biol.* 2016;891:213-22.

93. El Oufir L, Flourié B, Bruley des Varannes S, Barry JL, Cloarec D, Bornet F, et al. Relations between transit time, fermentation products, and hydrogen consuming flora in healthy humans. *Gut*. juin 1996;38(6):870-7.
94. Bartram HP, Scheppach W, Gerlach S, Ruckdeschel G, Kelber E, Kasper H. Does yogurt enriched with *Bifidobacterium longum* affect colonic microbiology and fecal metabolites in health subjects? *Am J Clin Nutr*. févr 1994;59(2):428-32.
95. Bouglé D, Roland N, Lebeurrer F, Arhan P. Effect of propionibacteria supplementation on fecal bifidobacteria and segmental colonic transit time in healthy human subjects. *Scand J Gastroenterol*. févr 1999;34(2):144-8.
96. Marteau P, Cuillerier E, Meance S, Gerhardt MF, Myara A, Bouvier M, et al. *Bifidobacterium animalis* strain DN-173 010 shortens the colonic transit time in healthy women: a double-blind, randomized, controlled study. *Aliment Pharmacol Ther*. 1 mars 2002;16(3):587-93.
97. Gibson GR, Beatty ER, Wang X, Cummings JH. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*. avr 1995;108(4):975-82.
98. Guédon C, Ducrotté P, Antoine JM, Denis P, Colin R, Lerebours E. Does chronic supplementation of the diet with dietary fibre extracted from pea or carrot affect colonic motility in man? *Br J Nutr*. juill 1996;76(1):51-61.
99. Mao B, Li D, Zhao J, Liu X, Gu Z, Chen YQ, et al. In Vitro Fermentation of Lactulose by Human Gut Bacteria. *J Agric Food Chem*. 12 nov 2014;62(45):10970-7.
100. Jouët P, Sabaté J-M, Cuillerier E, Coffin B, Lémann M, Jian R, et al. Low-dose lactulose produces a tonic contraction in the human colon. *Neurogastroenterol Motil Off J Eur Gastrointest Motil Soc*. janv 2006;18(1):45-52.
101. Jouët P, Sabaté J-M, Coffin B, Lémann M, Jian R, Flourié B. Fermentation of starch stimulates propagated contractions in the human colon. *Neurogastroenterol Motil Off J Eur Gastrointest Motil Soc*. mai 2011;23(5):450-6, e176.
102. Jouët P, Moussata D, Duboc H, Boschetti G, Attar A, Gorbachev C, et al. Effect of short-chain fatty acids and acidification on the phasic and tonic motor activity of the human colon. *Neurogastroenterol Motil*. 1 déc 2013;25(12):943-9.
103. Cherbut C, Ferrier L, Rozé C, Anini Y, Blottière H, Lecannu G, et al. Short-chain fatty acids modify colonic motility through nerves and polypeptide YY release in the rat. *Am J Physiol*. déc 1998;275(6 Pt 1):G1415-1422.
104. Coffin B, Lémann M, Flourié B, Jouët P, Rambaud JC, Jian R. Local regulation of ileal tone in healthy humans. *Am J Physiol*. janv 1997;272(1 Pt 1):G147-153.
105. Sudha PN, Rose MH. Beneficial effects of hyaluronic acid. *Adv Food Nutr Res*. 2014;72:137-76.
106. Bernalier-Donadille A. [Fermentative metabolism by the human gut microbiota]. *Gastroenterol Clin Biol*. sept 2010;34 Suppl 1:S16-22.
107. Haydersah J, Chevallier I, Rochette I, Mouquet-Rivier C, Picq C, Marianne-Pépin T, et al. Fermentation by Amyolytic Lactic Acid Bacteria and Consequences for Starch Digestibility of Plantain, Breadfruit, and Sweet Potato Flours. *J Food Sci*. 1 août 2012;77(8):M466-72.

108. Tancula E, Feldhaus MJ, Bedzyk LA, Salyers AA. Location and characterization of genes involved in binding of starch to the surface of *Bacteroides thetaiotaomicron*. *J Bacteriol.* sept 1992;174(17):5609-16.
109. Wedekind KJ, Mansfield HR, Montgomery L. Enumeration and isolation of cellulolytic and hemicellulolytic bacteria from human feces. *Appl Environ Microbiol.* juin 1988;54(6):1530-5.
110. Robert C, Bernalier-Donadille A. The cellulolytic microflora of the human colon: evidence of microcrystalline cellulose-degrading bacteria in methane-excreting subjects. *FEMS Microbiol Ecol.* 1 oct 2003;46(1):81-9.
111. Crost EH, Tailford LE, Monestier M, Swarbreck D, Henrissat B, Crossman LC, et al. The mucin-degradation strategy of *Ruminococcus gnavus*: The importance of intramolecular trans-sialidases. *Gut Microbes.* 25 mai 2016;7(4):302-12.
112. Maczulak AE, Wolin MJ, Miller TL. Increase in colonic methanogens and total anaerobes in aging rats. *Appl Environ Microbiol.* oct 1989;55(10):2468-73.
113. Dridi B, Henry M, El Khéchine A, Raoult D, Drancourt M. High prevalence of *Methanobrevibacter smithii* and *Methanosphaera stadtmanae* detected in the human gut using an improved DNA detection protocol. *PloS One.* 17 sept 2009;4(9):e7063.
114. Dermoumi HL, Ansorg RAM. Isolation and Antimicrobial Susceptibility Testing of Fecal Strains of the Archaeon *Methanobrevibacter smithii*. *Chemotherapy.* 2001;47(3):177-83.
115. Colombel JF, Flourie B, Neut C, Florent C, Leblond A, Rambaud JC. [Methanogenesis in man]. *Gastroenterol Clin Biol.* oct 1987;11(10):694-700.
116. Roediger WE, Duncan A, Kapaniris O, Millard S. Reducing sulfur compounds of the colon impair colonocyte nutrition: implications for ulcerative colitis. *Gastroenterology.* mars 1993;104(3):802-9.
117. Shin J, Song Y, Jeong Y, Cho B-K. Analysis of the Core Genome and Pan-Genome of Autotrophic Acetogenic Bacteria. *Front Microbiol* [Internet]. 28 sept 2016 [cité 20 déc 2017];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5039349/>
118. Leclerc M, Bernalier A, Donadille G, Lelait M. H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> metabolism in acetogenic bacteria isolated from the human colon. *Anaerobe.* oct 1997;3(5):307-15.
119. Kuz'mina VV, Skvortsova EG, Shalygin MV, Kovalenko KE. Role of peptidases of the intestinal microflora and prey in temperature adaptations of the digestive system in planktivorous and benthivorous fish. *Fish Physiol Biochem.* déc 2015;41(6):1359-68.
120. Alam SI, Dube S, Agarwal MK, Singh L. Purification and characterization of an extracellular protease produced by psychrotolerant *Clostridium* sp. LP3 from lake sediment of Leh, India. *Can J Microbiol.* déc 2006;52(12):1238-46.
121. Zhang K, Ni Y. Tyrosine decarboxylase from *Lactobacillus brevis*: soluble expression and characterization. *Protein Expr Purif.* févr 2014;94:33-9.
122. Pedersen G, Brynskov J, Saermark T. Phenol toxicity and conjugation in human colonic epithelial cells. *Scand J Gastroenterol.* janv 2002;37(1):74-9.
123. Ramchand CN, Das I, Gliddon A, Hirsch SR. Role of polyamines in the membrane pathology of schizophrenia. A study using fibroblasts from schizophrenic patients and normal controls. *Schizophr Res.* oct 1994;13(3):249-53.

124. Ren D, Li L, Schwabacher AW, Young JW, Beitz DC. Mechanism of cholesterol reduction to coprostanol by *Eubacterium coprostanoligenes* ATCC 51222. *Steroids*. janv 1996;61(1):33-40.
125. Wilkins TD, Hackman AS. Two patterns of neutral steroid conversion in the feces of normal North Americans. *Cancer Res*. sept 1974;34(9):2250-4.
126. Baron S, Hylemon P. Biotransformation of Bile Acids, Cholesterol, and Steroid Hormones. In 1997. p. 470-510.
127. Stellwag EJ, Hylemon PB. Purification and characterization of bile salt hydrolase from *Bacteroides fragilis* subsp. *fragilis*. *Biochim Biophys Acta*. 8 nov 1976;452(1):165-76.
128. Macdonald IA, Mahony DE, Williams CN, Watson KF. 12 $\alpha$ - and 7 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase activities from *Fusobacterium* spp. *G E N*. déc 1976;31(1-2):49-57.
129. Stellwag EJ, Hylemon PB. 7 $\alpha$ -Dehydroxylation of cholic acid and chenodeoxycholic acid by *Clostridium leptum*. *J Lipid Res*. mars 1979;20(3):325-33.
130. Debabov DV, Kiriukhin MY, Neuhaus FC. Biosynthesis of Lipoteichoic Acid in *Lactobacillus rhamnosus*: Role of DltD in d-Alanylation. *J Bacteriol*. mai 2000;182(10):2855-64.
131. Van Eldere JR, De Pauw G, Eyssen HJ. Steroid sulfatase activity in a *Peptococcus niger* strain from the human intestinal microflora. *Appl Environ Microbiol*. juill 1987;53(7):1655-60.
132. Feighner SD, Hylemon PB. Characterization of a corticosteroid 21-dehydroxylase from the intestinal anaerobic bacterium, *Eubacterium lentum*. *J Lipid Res*. juill 1980;21(5):585-93.
133. Di L. The role of drug metabolizing enzymes in clearance. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. mars 2014;10(3):379-93.
134. Kang MJ, Kim HG, Kim JS, Oh DG, Um YJ, Seo CS, et al. The effect of gut microbiota on drug metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. oct 2013;9(10):1295-308.
135. Haiser HJ, Turnbaugh PJ. Developing a metagenomic view of xenobiotic metabolism. *Pharmacol Res Off J Ital Pharmacol Soc*. mars 2013;69(1):21-31.
136. Li H, He J, Jia W. The influence of gut microbiota on drug metabolism and toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2016;12(1):31-40.
137. Lindenbaum J, Rund DG, Butler VP, Tse-Eng D, Saha JR. Inactivation of digoxin by the gut flora: reversal by antibiotic therapy. *N Engl J Med*. 1 oct 1981;305(14):789-94.
138. Saha JR, Butler VP, Neu HC, Lindenbaum J. Digoxin-inactivating bacteria: identification in human gut flora. *Science*. 15 avr 1983;220(4594):325-7.
139. Stringer AM, Gibson RJ, Logan RM, Bowen JM, Yeoh ASJ, Keefe DMK. Faecal microflora and beta-glucuronidase expression are altered in an irinotecan-induced diarrhea model in rats. *Cancer Biol Ther*. déc 2008;7(12):1919-25.
140. Takasuna K, Hagiwara T, Hirohashi M, Kato M, Nomura M, Nagai E, et al. Involvement of beta-glucuronidase in intestinal microflora in the intestinal toxicity of the antitumor camptothecin derivative irinotecan hydrochloride (CPT-11) in rats. *Cancer Res*. 15 août 1996;56(16):3752-7.

141. Kaddurah-Daouk R, Baillie RA, Zhu H, Zeng Z-B, Wiest MM, Nguyen UT, et al. Enteric Microbiome Metabolites Correlate with Response to Simvastatin Treatment. PLoS ONE [Internet]. 13 oct 2011 [cité 18 janv 2018];6(10). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3192752/>
142. Etayash H, Azmi S, Dangeti R, Kaur K. Peptide Bacteriocins--Structure Activity Relationships. *Curr Top Med Chem*. 2015;16(2):220-41.
143. Zhang Y-J, Li S, Gan R-Y, Zhou T, Xu D-P, Li H-B. Impacts of Gut Bacteria on Human Health and Diseases. *Int J Mol Sci*. 2 avr 2015;16(4):7493-519.
144. Stappenbeck TS, Hooper LV, Gordon JI. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 26 nov 2002;99(24):15451-5.
145. Ashour DS. Toll-like receptor signaling in parasitic infections. *Expert Rev Clin Immunol*. juin 2015;11(6):771-80.
146. Shanmugam A, Rajoria S, George AL, Mittelman A, Suriano R, Tiwari RK. Synthetic Toll Like Receptor-4 (TLR-4) Agonist Peptides as a Novel Class of Adjuvants. PLoS ONE [Internet]. 20 févr 2012 [cité 21 déc 2017];7(2). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3282694/>
147. Mishra AK, Driessen NN, Appelmeik BJ, Besra GS. Lipoarabinomannan and related glycoconjugates: structure, biogenesis and role in Mycobacterium tuberculosis physiology and host-pathogen interaction. *Fems Microbiol Rev*. nov 2011;35(6):1126-57.
148. Zhu J, Duan G, Lang L, Liu Y, Zhu J, Wang H, et al. The Bacterial Component Flagellin Induces Anti-Sepsis Protection Through TLR-5, IL-1RN and VCAN During Polymicrobial Sepsis in Mice. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol*. 2015;36(2):446-56.
149. Leung C-H, Lam W, Ma D-L, Gullen EA, Cheng Y-C. Butyrate mediates nucleotide-binding and oligomerisation domain (NOD) 2-dependent mucosal immune responses against peptidoglycan. *Eur J Immunol*. déc 2009;39(12):3529-37.
150. Miyake S. [MAIT cells in autoimmunity]. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*. 2014;37(1):19-24.
151. Bennett MS, Trivedi S, Iyer AS, Hale JS, Leung DT. Human mucosal-associated invariant T (MAIT) cells possess capacity for B cell help. *J Leukoc Biol*. nov 2017;102(5):1261-9.
152. Berkson JD, Prlic M. The MAIT conundrum - how human MAIT cells distinguish bacterial colonization from infection in mucosal barrier tissues. *Immunol Lett*. déc 2017;192:7-11.
153. Acheson DWK, Luccioli S. Microbial-gut interactions in health and disease. Mucosal immune responses. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. avr 2004;18(2):387-404.
154. Neutra MR. Interactions of viruses and microparticles with apical plasma membranes of M cells: implications for human immunodeficiency virus transmission. *J Infect Dis*. mai 1999;179 Suppl 3:S441-443.
155. Sudo N, Yu X-N, Aiba Y, Oyama N, Sonoda J, Koga Y, et al. An oral introduction of intestinal bacteria prevents the development of a long-term Th2-skewed immunological memory induced by neonatal antibiotic treatment in mice. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. juill 2002;32(7):1112-6.

156. Betsi GI, Papadavid E, Falagas ME. Probiotics for the treatment or prevention of atopic dermatitis: a review of the evidence from randomized controlled trials. *Am J Clin Dermatol.* 2008;9(2):93-103.
157. Freitas AA, Viale AC, Sundblad A, Heusser C, Coutinho A. Normal serum immunoglobulins participate in the selection of peripheral B-cell repertoires. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1 juill 1991;88(13):5640-4.
158. Marie-Christiane Moreau VG-R. Influence of Resident Intestinal Microflora on the Development and Functions of the Gut-Associated Lymphoid Tissue. *Microb Ecol Health Dis.* 1 janv 2001;13(2):65-86.
159. Smith PD, Smythies LE, Mosteller-Barnum M, Sibley DA, Russell MW, Merger M, et al. Intestinal macrophages lack CD14 and CD89 and consequently are down-regulated for LPS- and IgA-mediated activities. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 sept 2001;167(5):2651-6.
160. Moreau MC. effets immunomodulateurs des bactéries intestinales : le rôle des bifidobactéries. /data/revues/09877983/v0014i03/01800542/ [Internet]. [cité 24 déc 2017]; Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/en/article/23417>
161. Kawahara T, Makizaki Y, Oikawa Y, Tanaka Y, Maeda A, Shimakawa M, et al. Oral administration of *Bifidobacterium bifidum* G9-1 alleviates rotavirus gastroenteritis through regulation of intestinal homeostasis by inducing mucosal protective factors. *PloS One.* 2017;12(3):e0173979.
162. Strobel S, Mowat AM. Immune responses to dietary antigens: oral tolerance. *Immunol Today.* avr 1998;19(4):173-81.
163. Moreau MC, Gaboriau-Routhiau V. The absence of gut flora, the doses of antigen ingested and aging affect the long-term peripheral tolerance induced by ovalbumin feeding in mice. *Res Immunol.* janv 1996;147(1):49-59.
164. Gaboriau-Routhiau V, Raibaud P, Dubuquoy C, Moreau M-C. Colonization of gnotobiotic mice with human gut microflora at birth protects against *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin-mediated abrogation of oral tolerance. *Pediatr Res.* nov 2003;54(5):739-46.
165. Neish AS, Gewirtz AT, Zeng H, Young AN, Hobert ME, Karmali V, et al. Prokaryotic regulation of epithelial responses by inhibition of IkappaB-alpha ubiquitination. *Science.* 1 sept 2000;289(5484):1560-3.
166. Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol.* avr 2003;3(4):331-41.
167. Garcia-Lafuente A, Antolin M, Guarner F, Crespo E, Malagelada J. Modulation of colonic barrier function by the composition of the commensal flora in the rat. *Gut.* avr 2001;48(4):503-7.
168. Albert MJ, Mathan VI, Baker SJ. Vitamin B12 synthesis by human small intestinal bacteria. *Nature.* 21 févr 1980;283(5749):781-2.
169. Kapil S, Duseja A, Sharma BK, Singla B, Chakraborti A, Das A, et al. Small intestinal bacterial overgrowth and toll-like receptor signaling in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* janv 2016;31(1):213-21.
170. Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, Förstl M, Rejchrt S, Kvetina J, et al. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol.* 28 juin 2010;16(24):2978-90.

171. Lahner E, Bellisario C, Hassan C, Zullo A, Esposito G, Annibale B. Probiotics in the Treatment of Diverticular Disease. A Systematic Review. *J Gastrointest Liver Dis JGLD*. mars 2016;25(1):79-86.
172. Cummings JH, Macfarlane GT. Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. déc 1997;21(6):357-65.
173. Roediger WE, Duncan A, Kapaniris O, Millard S. Sulphide impairment of substrate oxidation in rat colonocytes: a biochemical basis for ulcerative colitis? *Clin Sci Lond Engl* 1979. nov 1993;85(5):623-7.
174. Duffy M, O'Mahony L, Coffey JC, Collins JK, Shanahan F, Redmond HP, et al. Sulfate-reducing bacteria colonize pouches formed for ulcerative colitis but not for familial adenomatous polyposis. *Dis Colon Rectum*. mars 2002;45(3):384-8.
175. Gill T, Asquith M, Rosenbaum JT, Colbert RA. The intestinal microbiome in spondyloarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. juill 2015;27(4):319-25.
176. Farrokhyar F, Swarbrick ET, Irvine EJ. A critical review of epidemiological studies in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. janv 2001;36(1):2-15.
177. Florin TH, Jabbar IA. A possible role for bile acid in the control of methanogenesis and the accumulation of hydrogen gas in the human colon. *J Gastroenterol Hepatol*. avr 1994;9(2):112-7.
178. Prieto D, Correia I, Pla J, Román E. Adaptation of *Candida albicans* to commensalism in the gut. *Future Microbiol*. 2016;11(4):567-83.
179. Phan QT, Belanger PH, Filler SG. Role of hyphal formation in interactions of *Candida albicans* with endothelial cells. *Infect Immun*. juin 2000;68(6):3485-90.
180. Rossignol JF. Parasitic gut infections. *Curr Opin Infect Dis*. oct 1998;11(5):597-600.
181. Haque R, Huston CD, Hughes M, Hout E, Petri WA. Amebiasis. *N Engl J Med*. 17 avr 2003;348(16):1565-73.
182. Schirmer M, Fischer M, Rossboth DW, Mur E, Dierich MP, Frischhut B. *Entamoeba hartmanni*: a new causative agent in the pathogenesis of reactive arthritis? *Rheumatol Int*. 1998;18(1):37-8.
183. Lane S, Lloyd D. Current trends in research into the waterborne parasite *Giardia*. *Crit Rev Microbiol*. 2002;28(2):123-47.
184. Dickinson EC, Cohen MA, Schlenker MK. *Dientamoeba fragilis*: a significant pathogen. *Am J Emerg Med*. janv 2002;20(1):62-3.
185. Garcia LS. Flagellates and ciliates. *Clin Lab Med*. sept 1999;19(3):621-38, vii.
186. Junod C. [*Blastocystis hominis*: a common commensal in the colon. Study of prevalence in different populations of Paris]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 25 nov 1995;24(36):1684-8.
187. Marcial-Seoane MA, Serrano-Olmo J. Intestinal infection with *Isospora belli*. *P R Health Sci J*. juin 1995;14(2):137-40.
188. Spano F, Crisanti A. *Cryptosporidium parvum*: the many secrets of a small genome. *Int J Parasitol*. 10 avr 2000;30(4):553-65.

189. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res.* oct 2002;53(4):865-71.
190. Morgan MY. The treatment of chronic hepatic encephalopathy. *Hepatogastroenterology.* oct 1991;38(5):377-87.
191. Berrill JW, Gallacher J, Hood K, Green JT, Matthews SB, Campbell AK, et al. An observational study of cognitive function in patients with irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease. *Neurogastroenterol Motil Off J Eur Gastrointest Motil Soc.* nov 2013;25(11):918-e704.
192. Crouzet L, Gaultier E, Del'Homme C, Cartier C, Delmas E, Dapoigny M, et al. The hypersensitivity to colonic distension of IBS patients can be transferred to rats through their fecal microbiota. *Neurogastroenterol Motil Off J Eur Gastrointest Motil Soc.* avr 2013;25(4):e272-282.
193. Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G. Irritable bowel syndrome: a microbiome-gut-brain axis disorder? *World J Gastroenterol.* 21 oct 2014;20(39):14105-25.
194. Stilling RM, Dinan TG, Cryan JF. Microbial genes, brain & behaviour - epigenetic regulation of the gut-brain axis. *Genes Brain Behav.* janv 2014;13(1):69-86.
195. Clarke G, Grenham S, Scully P, Fitzgerald P, Moloney RD, Shanahan F, et al. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol Psychiatry.* juin 2013;18(6):666-73.
196. Husebye E, Hellström PM, Sundler F, Chen J, Midtvedt T. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* mars 2001;280(3):G368-380.
197. Neufeld KM, Kang N, Bienenstock J, Foster JA. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil Off J Eur Gastrointest Motil Soc.* mars 2011;23(3):255-64, e119.
198. Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu X-N, et al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol.* 1 juill 2004;558(Pt 1):263-75.
199. Gareau MG, Wine E, Rodrigues DM, Cho JH, Whary MT, Philpott DJ, et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut.* mars 2011;60(3):307-17.
200. Diaz Heijtz R, Wang S, Anuar F, Qian Y, Björkholm B, Samuelsson A, et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 15 févr 2011;108(7):3047-52.
201. Saulnier DM, Ringel Y, Heyman MB, Foster JA, Bercik P, Shulman RJ, et al. The intestinal microbiome, probiotics and prebiotics in neurogastroenterology. *Gut Microbes.* févr 2013;4(1):17-27.
202. Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 20 sept 2011;108(38):16050-5.
203. Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury J, et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice. *Gastroenterology.* août 2011;141(2):599-609, 609.e1-3.

204. Distrutti E, O'Reilly J-A, McDonald C, Cipriani S, Renga B, Lynch MA, et al. Modulation of intestinal microbiota by the probiotic VSL#3 resets brain gene expression and ameliorates the age-related deficit in LTP. *PloS One*. 2014;9(9):e106503.
205. Distrutti E, Cipriani S, Mencarelli A, Renga B, Fiorucci S. Probiotics VSL#3 protect against development of visceral pain in murine model of irritable bowel syndrome. *PloS One*. 2013;8(5):e63893.
206. Bercik P, Park AJ, Sinclair D, Khoshdel A, Lu J, Huang X, et al. The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroenterol Motil Off J Eur Gastrointest Motil Soc*. déc 2011;23(12):1132-9.
207. Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol Q Publ Hell Soc Gastroenterol*. 2015;28(2):203-9.
208. Kunze WA, Mao Y-K, Wang B, Huizinga JD, Ma X, Forsythe P, et al. *Lactobacillus reuteri* enhances excitability of colonic AH neurons by inhibiting calcium-dependent potassium channel opening. *J Cell Mol Med*. août 2009;13(8B):2261-70.
209. Iyer LM, Aravind L, Coon SL, Klein DC, Koonin EV. Evolution of cell-cell signaling in animals: did late horizontal gene transfer from bacteria have a role? *Trends Genet TIG*. juill 2004;20(7):292-9.
210. Asano Y, Hiramoto T, Nishino R, Aiba Y, Kimura T, Yoshihara K, et al. Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 1 déc 2012;303(11):G1288-1295.
211. Li W, Dowd SE, Scurlock B, Acosta-Martinez V, Lyte M. Memory and learning behavior in mice is temporally associated with diet-induced alterations in gut bacteria. *Physiol Behav*. 23 mars 2009;96(4-5):557-67.
212. Verdú EF, Bercik P, Verma-Gandhu M, Huang X-X, Blennerhassett P, Jackson W, et al. Specific probiotic therapy attenuates antibiotic induced visceral hypersensitivity in mice. *Gut*. févr 2006;55(2):182-90.
213. Galley JD, Nelson MC, Yu Z, Dowd SE, Walter J, Kumar PS, et al. Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota. *BMC Microbiol*. 15 juill 2014;14:189.
214. Guthrie GD, Nicholson-Guthrie CS. gamma-Aminobutyric acid uptake by a bacterial system with neurotransmitter binding characteristics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. oct 1989;86(19):7378-81.
215. Clarke MB, Hughes DT, Zhu C, Boedeker EC, Sperandio V. The QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 5 juill 2006;103(27):10420-5.
216. Berdoy M, Webster JP, Macdonald DW. Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc Biol Sci*. 7 août 2000;267(1452):1591-4.
217. Flegel J, Kodym P, Tolarová V. Correlation of duration of latent *Toxoplasma gondii* infection with personality changes in women. *Biol Psychol*. mai 2000;53(1):57-68.
218. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, et al. Microbiota Modulate Behavioral and Physiological Abnormalities Associated with Neurodevelopmental Disorders. *Cell*. 19 déc 2013;155(7):1451-63.

219. Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, Quig D, Rubin RA. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism--comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol.* 16 mars 2011;11:22.
220. Kang D-W, Park JG, Ilhan ZE, Wallstrom G, Labaer J, Adams JB, et al. Reduced incidence of *Prevotella* and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PloS One.* 2013;8(7):e68322.
221. Williams BL, Hornig M, Parekh T, Lipkin WI. Application of novel PCR-based methods for detection, quantitation, and phylogenetic characterization of *Sutterella* species in intestinal biopsy samples from children with autism and gastrointestinal disturbances. *mBio.* 2012;3(1).
222. Shaw W. Increased urinary excretion of a 3-(3-hydroxyphenyl)-3-hydroxypropionic acid (HPHPA), an abnormal phenylalanine metabolite of *Clostridia* spp. in the gastrointestinal tract, in urine samples from patients with autism and schizophrenia. *Nutr Neurosci.* juin 2010;13(3):135-43.
223. Altieri L, Neri C, Sacco R, Curatolo P, Benvenuto A, Muratori F, et al. Urinary p-cresol is elevated in small children with severe autism spectrum disorder. *Biomark Biochem Indic Expo Response Susceptibility Chem.* mai 2011;16(3):252-60.
224. Gondalia SV, Palombo EA, Knowles SR, Cox SB, Meyer D, Austin DW. Molecular characterisation of gastrointestinal microbiota of children with autism (with and without gastrointestinal dysfunction) and their neurotypical siblings. *Autism Res Off J Int Soc Autism Res.* déc 2012;5(6):419-27.
225. Morita C, Tsuji H, Hata T, Gondo M, Takakura S, Kawai K, et al. Gut Dysbiosis in Patients with Anorexia Nervosa. *PLoS ONE [Internet].* 18 déc 2015 [cité 17 janv 2018];10(12). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4687631/>
226. Arora T, Sharma R, Frost G. Propionate. Anti-obesity and satiety enhancing factor? *Appetite.* avr 2011;56(2):511-5.
227. Armougom F, Henry M, Vialettes B, Raccach D, Raoult D. Monitoring Bacterial Community of Human Gut Microbiota Reveals an Increase in *Lactobacillus* in Obese Patients and Methanogens in Anorexic Patients. *PLoS ONE [Internet].* 23 sept 2009 [cité 17 janv 2018];4(9). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2742902/>
228. Blustein J, Attina T, Liu M, Ryan AM, Cox LM, Blaser MJ, et al. Association of caesarean delivery with child adiposity from age 6 weeks to 15 years. *Int J Obes.* juill 2013;37(7):900-6.
229. Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JI. The Effect of Diet on the Human Gut Microbiome: A Metagenomic Analysis in Humanized Gnotobiotic Mice. *Sci Transl Med.* 11 nov 2009;1(6):6ra14.
230. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 21 déc 2006;444(7122):1022-3.
231. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature.* 22 janv 2009;457(7228):480-4.
232. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Cultured gut microbiota from twins discordant for obesity modulate adiposity and metabolic phenotypes in mice. *Science [Internet].* 6 sept 2013 [cité 17 janv 2018];341(6150). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3829625/>

233. Woting A, Pfeiffer N, Loh G, Klaus S, Blaut M. Clostridium ramosum Promotes High-Fat Diet-Induced Obesity in Gnotobiotic Mouse Models. *mBio* [Internet]. 30 sept 2014 [cité 17 janv 2018];5(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4196224/>
234. Swartz TD, Duca FA, de Wouters T, Sakar Y, Covasa M. Up-regulation of intestinal type 1 taste receptor 3 and sodium glucose luminal transporter-1 expression and increased sucrose intake in mice lacking gut microbiota. *Br J Nutr.* mars 2012;107(5):621-30.
235. Covasa M. Deficits in gastrointestinal responses controlling food intake and body weight. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* déc 2010;299(6):R1423-1439.
236. de Lartigue G, Barbier de la Serre C, Espero E, Lee J, Raybould HE. Diet-induced obesity leads to the development of leptin resistance in vagal afferent neurons. *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* juill 2011;301(1):E187-95.
237. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, Cullender TC, Mwangi S, Srinivasan S, et al. Metabolic Syndrome and Altered Gut Microbiota in Mice Lacking Toll-Like Receptor 5. *Science.* 9 avr 2010;328(5975):228-31.
238. Lin HV, Frassetto A, Kowalik Jr EJ, Nawrocki AR, Lu MM, Kosinski JR, et al. Butyrate and Propionate Protect against Diet-Induced Obesity and Regulate Gut Hormones via Free Fatty Acid Receptor 3-Independent Mechanisms. *PLoS ONE* [Internet]. 10 avr 2012 [cité 17 janv 2018];7(4). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3323649/>
239. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Saydah S, Imperatore G, Linder B, Divers J, et al. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *JAMA.* 7 mai 2014;311(17):1778-86.
240. Steck AK, Armstrong TK, Babu SR, Eisenbarth GS, Type 1 Diabetes Genetics Consortium. Stepwise or linear decrease in penetrance of type 1 diabetes with lower-risk HLA genotypes over the past 40 years. *Diabetes.* mars 2011;60(3):1045-9.
241. Calcinaro F, Dionisi S, Marinaro M, Candeloro P, Bonato V, Marzotti S, et al. Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Diabetologia.* août 2005;48(8):1565-75.
242. Brugman S, Klatter FA, Visser JTJ, Wildeboer-Veloo ACM, Harmsen HJM, Rozing J, et al. 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.* sept 2006;49(9):2105-8.
243. Tang WHW, Hazen SL. The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease. *J Clin Invest.* 1 oct 2014;124(10):4204-11.
244. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, Koeth R, Levison BS, DuGar B, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature.* 7 avr 2011;472(7341):57-63.
245. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med.* mai 2013;19(5):576-85.
246. Karlsson FH, Fåk F, Nookaew I, Tremaroli V, Fagerberg B, Petranovic D, et al. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nat Commun.* 4 déc 2012;3:1245.
247. Lam V, Su J, Koprowski S, Hsu A, Tweddell JS, Rafiee P, et al. Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats. *FASEB J.* avr 2012;26(4):1727-35.

248. Underwood MA, Arriola J, Gerber CW, Kaveti A, Kalanetra KM, Kananurak A, et al. *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* in experimental necrotizing enterocolitis: alterations in inflammation, innate immune response, and the microbiota. *Pediatr Res.* oct 2014;76(4):326-33.
249. Jose PA, Raj D. Gut microbiota in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* sept 2015;24(5):403-9.
250. Pluznick J. A novel SCFA receptor, the microbiota, and blood pressure regulation. *Gut Microbes.* avr 2014;5(2):202-7.
251. Pluznick JL, Protzko RJ, Gevorgyan H, Peterlin Z, Sipos A, Han J, et al. Olfactory receptor responding to gut microbiota-derived signals plays a role in renin secretion and blood pressure regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 12 mars 2013;110(11):4410-5.
252. Nakamura Y, Yamamoto N, Sakai K, Takano T. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to angiotensin I-converting enzyme. *J Dairy Sci.* juin 1995;78(6):1253-7.
253. Saleh M, Elson CO. Experimental inflammatory bowel disease: insights into the host-microbiota dialogue. *Immunity.* 25 mars 2011;34(3):293-302.
254. Fichera A, McCormack R, Rubin MA, Hurst RD, Michelassi F. Long-term outcome of surgically treated Crohn's colitis: a prospective study. *Dis Colon Rectum.* mai 2005;48(5):963-9.
255. Manichanh C, Borrueal N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* oct 2012;9(10):599-608.
256. Thibault R, Blachier F, Darcy-Vrillon B, de Coppet P, Bourreille A, Segain J-P. Butyrate utilization by the colonic mucosa in inflammatory bowel diseases: a transport deficiency. *Inflamm Bowel Dis.* avr 2010;16(4):684-95.
257. Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology.* mai 2004;126(6):1620-33.
258. Brigidi P, Swennen E, Rizzello F, Bozzolasco M, Matteuzzi D. Effects of rifaximin administration on the intestinal microbiota in patients with ulcerative colitis. *J Chemother Florence Italy.* juin 2002;14(3):290-5.
259. Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, Cho JH, Duerr RH, Rioux JD, et al. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet.* août 2008;40(8):955-62.
260. Martinez C, Antolin M, Santos J, Torrejon A, Casellas F, Borrueal N, et al. Unstable composition of the fecal microbiota in ulcerative colitis during clinical remission. *Am J Gastroenterol.* mars 2008;103(3):643-8.
261. Ott SJ, Plamondon S, Hart A, Begun A, Rehman A, Kamm MA, et al. Dynamics of the mucosa-associated flora in ulcerative colitis patients during remission and clinical relapse. *J Clin Microbiol.* oct 2008;46(10):3510-3.
262. Andrews CN, Griffiths TA, Kaufman J, Vergnolle N, Surette MG, Rioux KP. Mesalazine (5-aminosalicylic acid) alters faecal bacterial profiles, but not mucosal proteolytic activity in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.* août 2011;34(3):374-83.

263. Lepage P, Häsler R, Spehlmann ME, Rehman A, Zvirbliene A, Begun A, et al. Twin study indicates loss of interaction between microbiota and mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology*. juill 2011;141(1):227-36.
264. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux J-J, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 28 oct 2008;105(43):16731-6.
265. Varela E, Manichanh C, Gallart M, Torrejón A, Borrueal N, Casellas F, et al. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. juill 2013;38(2):151-61.
266. Frank DN, Robertson CE, Hamm CM, Kpadeh Z, Zhang T, Chen H, et al. Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-associated microbiota in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. janv 2011;17(1):179-84.
267. Dey N, Soergel DAW, Repo S, Brenner SE. Association of gut microbiota with post-operative clinical course in Crohn's disease. *BMC Gastroenterol*. 22 août 2013;13:131.
268. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe*. 12 mars 2014;15(3):382-92.
269. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. févr 2008;134(2):577-94.
270. Peterson DA, Frank DN, Pace NR, Gordon JI. Metagenomic approaches for defining the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Cell Host Microbe*. 12 juin 2008;3(6):417-27.
271. Matsuoka K, Kanai T. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Semin Immunopathol*. 2015;37:47-55.
272. de Souza HL, de Carvalho VR, Romeiro FG, Sasaki LY, Keller R, Rodrigues J. Mucosa-associated but not luminal *Escherichia coli* is augmented in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut Pathog*. 13 déc 2012;4(1):21.
273. Ohkusa T, Okayasu I, Tokoi S, Ozaki Y. Bacterial invasion into the colonic mucosa in ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol*. févr 1993;8(1):116-8.
274. Ohkusa T, Sato N, Ogihara T, Morita K, Ogawa M, Okayasu I. *Fusobacterium varium* localized in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis stimulates species-specific antibody. *J Gastroenterol Hepatol*. août 2002;17(8):849-53.
275. Ohkusa T, Okayasu I, Ogihara T, Morita K, Ogawa M, Sato N. Induction of experimental ulcerative colitis by *Fusobacterium varium* isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gut*. janv 2003;52(1):79-83.
276. Ohkusa T, Nomura T, Terai T, Miwa H, Kobayashi O, Hojo M, et al. Effectiveness of antibiotic combination therapy in patients with active ulcerative colitis: a randomized, controlled pilot trial with long-term follow-up. *Scand J Gastroenterol*. nov 2005;40(11):1334-42.
277. Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Schwab M, Schäffeler E, Schlee M, et al. NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression. *Gut*. nov 2004;53(11):1658-64.

278. Noguchi E, Homma Y, Kang X, Netea MG, Ma X. A Crohn's disease-associated NOD2 mutation suppresses transcription of human IL10 by inhibiting activity of the nuclear ribonucleoprotein hnRNP-A1. *Nat Immunol.* mai 2009;10(5):471-9.
279. Cooney R, Baker J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P, et al. NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nat Med.* janv 2010;16(1):90-7.
280. Wang T, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, et al. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *ISME J.* févr 2012;6(2):320-9.
281. Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan T-J, et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science.* 5 oct 2012;338(6103):120-3.
282. Arthur JC, Jobin C. The complex interplay between inflammation, the microbiota and colorectal cancer. *Gut Microbes.* juin 2013;4(3):253-8.
283. Zackular JP, Baxter NT, Iverson KD, Sadler WD, Petrosino JF, Chen GY, et al. The Gut Microbiome Modulates Colon Tumorigenesis. *mBio* [Internet]. 5 nov 2013 [cité 28 janv 2018];4(6). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3892781/>
284. Gorbach SL, Banwell JG, Jacobs B, Chatterjee BD, Mitra R, Brigham KL, et al. Intestinal microflora in Asiatic cholera. I. « Rice-water » stool. *J Infect Dis.* janv 1970;121(1):32-7.
285. Leser TD, Lindecrone RH, Jensen TK, Jensen BB, Møller K. Changes in bacterial community structure in the colon of pigs fed different experimental diets and after infection with *Brachyspira hyodysenteriae*. *Appl Environ Microbiol.* août 2000;66(8):3290-6.
286. Moreau MC, Corthier G, Muller MC, Dubos F, Raibaud P. Relationships between rotavirus diarrhea and intestinal microflora establishment in conventional and gnotobiotic mice. *J Clin Microbiol.* mai 1986;23(5):863-8.
287. Vogel LC. Antibiotic-induced diarrhea. *Orthop Nurs.* avr 1995;14(2):38-41.
288. McFarland LV. [Risk factor for antibiotic-associated diarrhea. A review of the literature]. *Ann Med Interne (Paris).* sept 1998;149(5):261-6.
289. Wiström J, Norrby SR, Myhre EB, Eriksson S, Granström G, Lagergren L, et al. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients: a prospective study. *J Antimicrob Chemother.* janv 2001;47(1):43-50.
290. Sparks SG, Carman RJ, Sarker MR, McClane BA. Genotyping of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* fecal isolates associated with antibiotic-associated diarrhea and food poisoning in North America. *J Clin Microbiol.* mars 2001;39(3):883-8.
291. Rao SS, Edwards CA, Austen CJ, Bruce C, Read NW. Impaired colonic fermentation of carbohydrate after ampicillin. *Gastroenterology.* avr 1988;94(4):928-32.
292. Clausen MR, Bonnén H, Tvede M, Mortensen PB. Colonic fermentation to short-chain fatty acids is decreased in antibiotic-associated diarrhea. *Gastroenterology.* déc 1991;101(6):1497-504.
293. Chassany O, Michaux A, Bergmann JF. Drug-induced diarrhoea. *Drug Saf.* janv 2000;22(1):53-72.

294. Benoit R, Dorval D, Loulergue J, Bacq Y, Oliver JM, Audurier A, et al. [Post-antibiotic diarrheas: role of *Klebsiella oxytoca*]. *Gastroenterol Clin Biol*. 1992;16(11):860-4.
295. Caron F, Lerebours E. [Antibiotic-induced gastrointestinal side effects]. *Gastroenterol Clin Biol*. 1991;15(8-9):604-12.
296. Bellaïche G, Le Pennec MP, Choudat L, Ley G, Slama JL. [Value of rectosigmoidoscopy with bacteriological culture of colonic biopsies in the diagnosis of post-antibiotic hemorrhagic colitis related to *Klebsiella oxytoca*]. *Gastroenterol Clin Biol*. 1997;21(10):764-7.
297. Beaugerie L, Metz M, Barbut F, Bellaïche G, Bouhnik Y, Raskine L, et al. *Klebsiella oxytoca* as an agent of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. sept 2003;1(5):370-6.
298. Viscidi R, Willey S, Bartlett JG. Isolation rates and toxigenic potential of *Clostridium difficile* isolates from various patient populations. *Gastroenterology*. juill 1981;81(1):5-9.
299. Ward CO. Diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* colitis. *Consult Pharm J Am Soc Consult Pharm*. déc 2003;18(12):1050-4.
300. Karlström O, Fryklund B, Tullus K, Burman LG. A prospective nationwide study of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in Sweden. The Swedish *C. difficile* Study Group. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. janv 1998;26(1):141-5.
301. Rana SV, Malik A. Hydrogen Breath Tests in Gastrointestinal Diseases. *Indian J Clin Biochem*. oct 2014;29(4):398-405.
302. Bond JH, Levitt MD. Use of breath hydrogen (H<sub>2</sub>) to quantitate small bowel transit time following partial gastrectomy. *J Lab Clin Med*. juill 1977;90(1):30-6.
303. Casén C, Vebø HC, Sekelja M, Hegge FT, Karlsson MK, Cierniejewska E, et al. Deviations in human gut microbiota: a novel diagnostic test for determining dysbiosis in patients with IBS or IBD. *Aliment Pharmacol Ther*. juill 2015;42(1):71-83.
304. van der Heiden C, Wauters EA, Duran M, Wadman SK, Ketting D. Gas chromatographic analysis of urinary tyrosine and phenylalanine metabolites in patients with gastrointestinal disorders. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. sept 1971;34(2):289-96.
305. Goodwin BL, Ruthven CR, Sandler M. Gut flora and the origin of some urinary aromatic phenolic compounds. *Biochem Pharmacol*. 15 juin 1994;47(12):2294-7.
306. Temellini A, Mogavero S, Giulianotti PC, Pietrabissa A, Mosca F, Pacifici GM. Conjugation of benzoic acid with glycine in human liver and kidney: a study on the interindividual variability. *Xenobiotica Fate Foreign Compd Biol Syst*. déc 1993;23(12):1427-33.
307. Lambert MA, Moss CW. Production of p-hydroxyhydrocinnamic acid from tyrosine by *Peptostreptococcus anaerobius*. *J Clin Microbiol*. août 1980;12(2):291-3.
308. Bhala A, Bennett MJ, McGowan KL, Hale DE. Limitations of 3-phenylpropionylglycine in early screening for medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. *J Pediatr*. janv 1993;122(1):100-3.
309. Lord RS, Bralley JA. Clinical applications of urinary organic acids. Part 2. Dysbiosis markers. *Altern Med Rev J Clin Ther*. déc 2008;13(4):292-306.

310. Martin AK. The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants. 3. The metabolism of phenolic compounds to simple phenols. *Br J Nutr.* nov 1982;48(3):497-507.
311. Fellaman JH, Buist NR, Kennaway NG. Pitfalls in metabolic studies: the origin of urinary p-tyramine. *Clin Biochem.* oct 1977;10(5):168-70.
312. Van der Heiden C, Wadman SK, Ketting D, De Bree PK. Urinary and faecal excretion of metabolites of tyrosine and phenylalanine in a patient with cystic fibrosis and severely impaired amino acid absorption. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* janv 1971;31(1):133-41.
313. Rios LY, Gonthier M-P, Rémésy C, Mila I, Lapierre C, Lazarus SA, et al. Chocolate intake increases urinary excretion of polyphenol-derived phenolic acids in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr.* avr 2003;77(4):912-8.
314. Scheline RR, Midtvedt T. Absence of dehydroxylation of caffeic acid in germ-free rats. *Experientia.* 15 oct 1970;26(10):1068-9.
315. Ward NC, Croft KD, Puddey IB, Hodgson JM. Supplementation with grape seed polyphenols results in increased urinary excretion of 3-hydroxyphenylpropionic Acid, an important metabolite of proanthocyanidins in humans. *J Agric Food Chem.* 25 août 2004;52(17):5545-9.
316. Griffiths LA. Studies on flavonoid metabolism. Identification of the metabolites of (+)-catechin in rat urine. *Biochem J.* juill 1964;92(1):173-9.
317. Khan RI, Onodera R, Amin MR, Mohammed N. Aromatic amino acid biosynthesis and production of related compounds from p-hydroxyphenylpyruvic acid by rumen bacteria, protozoa and their mixture. *Amino Acids.* 2002;22(2):167-77.
318. Elsdén SR, Hilton MG, Waller JM. The end products of the metabolism of aromatic amino acids by Clostridia. *Arch Microbiol.* 1 avr 1976;107(3):283-8.
319. Tohyama K, Kobayashi Y, Kan T, Yazawa K, Terashima T, Mutai M. Effect of lactobacilli on urinary indican excretion in gnotobiotic rats and in man. *Microbiol Immunol.* 1981;25(2):101-12.
320. Yoshida K, Hirayama C. Tryptophan metabolism in liver cirrhosis: influence of oral antibiotics on neuropsychiatric symptoms. *Tohoku J Exp Med.* janv 1984;142(1):35-41.
321. Bongaerts GP, Tolboom JJ, Naber AH, Sperl WJ, Severijnen RS, Bakkeren JA, et al. Role of bacteria in the pathogenesis of short bowel syndrome-associated D-lactic acidemia. *Microb Pathog.* mai 1997;22(5):285-93.
322. Caldarini MI, Pons S, D'Agostino D, DePaula JA, Greco G, Negri G, et al. Abnormal fecal flora in a patient with short bowel syndrome. An in vitro study on effect of pH on D-lactic acid production. *Dig Dis Sci.* août 1996;41(8):1649-52.
323. Cağlayan F, Cakmak M, Cağlayan O, Cavuşoğlu T. Plasma D-lactate levels in diagnosis of appendicitis. *J Investig Surg Off J Acad Surg Res.* août 2003;16(4):233-7.
324. Bongaerts G, Tolboom J, Naber T, Bakkeren J, Severijnen R, Willems H. D-lactic acidemia and aciduria in pediatric and adult patients with short bowel syndrome. *Clin Chem.* janv 1995;41(1):107-10.
325. Schwartz R, Topley M, Russell JB. Effect of tricarballic acid, a nonmetabolizable rumen fermentation product of trans-aconitic acid, on Mg, Ca and Zn utilization of rats. *J Nutr.* févr 1988;118(2):183-8.

326. Scarpignato C, Pelosini I. Rifaximin, a poorly absorbed antibiotic: pharmacology and clinical potential. *Chemotherapy*. 2005;51 Suppl 1:36-66.
327. Iorio N, Malik Z, Schey R. Profile of rifaximin and its potential in the treatment of irritable bowel syndrome. *Clin Exp Gastroenterol*. 8 juin 2015;8:159-67.
328. Descombe JJ, Dubourg D, Picard M, Palazzini E. Pharmacokinetic study of rifaximin after oral administration in healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Res*. 1994;14(2):51-6.
329. Gao J, Gilliland MG, Owyang C. Rifaximin, gut microbes and mucosal inflammation: unraveling a complex relationship. *Gut Microbes*. 1 juill 2014;5(4):571-5.
330. Xu D, Gao J, Gilliland M, Wu X, Song I, Kao JY, et al. Rifaximin alters intestinal bacteria and prevents stress-induced gut inflammation and visceral hyperalgesia in rats. *Gastroenterology*. févr 2014;146(2):484-496.e4.
331. Brown EL, Xue Q, Jiang Z-D, Xu Y, Dupont HL. Pretreatment of epithelial cells with rifaximin alters bacterial attachment and internalization profiles. *Antimicrob Agents Chemother*. janv 2010;54(1):388-96.
332. Mencarelli A, Renga B, Palladino G, Claudio D, Ricci P, Distrutti E, et al. Inhibition of NF- $\kappa$ B by a PXR-dependent pathway mediates counter-regulatory activities of rifaximin on innate immunity in intestinal epithelial cells. *Eur J Pharmacol*. 1 oct 2011;668(1-2):317-24.
333. Pelosini I, Scarpignato C. Rifaximin, a peculiar rifamycin derivative: established and potential clinical use outside the gastrointestinal tract. *Chemotherapy*. 2005;51 Suppl 1:122-30.
334. Schoenfeld P, Pimentel M, Chang L, Lembo A, Chey WD, Yu J, et al. Safety and tolerability of rifaximin for the treatment of irritable bowel syndrome without constipation: a pooled analysis of randomised, double-blind, placebo-controlled trials. *Aliment Pharmacol Ther*. mai 2014;39(10):1161-8.
335. Hawrelak JA, Cattley T, Myers SP. Essential oils in the treatment of intestinal dysbiosis: A preliminary in vitro study. *Altern Med Rev J Clin Ther*. déc 2009;14(4):380-4.
336. Liu JH, Chen GH, Yeh HZ, Huang CK, Poon SK. Enteric-coated peppermint-oil capsules in the treatment of irritable bowel syndrome: a prospective, randomized trial. *J Gastroenterol*. déc 1997;32(6):765-8.
337. Bundy R, Walker AF, Middleton RW, Booth J. Turmeric extract may improve irritable bowel syndrome symptomology in otherwise healthy adults: a pilot study. *J Altern Complement Med N Y N*. déc 2004;10(6):1015-8.
338. Zaidi SFH, Yamada K, Kadowaki M, Usmanhani K, Sugiyama T. Bactericidal activity of medicinal plants, employed for the treatment of gastrointestinal ailments, against *Helicobacter pylori*. *J Ethnopharmacol*. 21 janv 2009;121(2):286-91.
339. Gilani AH, Shah AJ, Ghayur MN, Majeed K. Pharmacological basis for the use of turmeric in gastrointestinal and respiratory disorders. *Life Sci*. 13 mai 2005;76(26):3089-105.
340. Rahimi R, Abdollahi M. Herbal medicines for the management of irritable bowel syndrome: A comprehensive review. *World J Gastroenterol WJG*. 21 févr 2012;18(7):589-600.

341. Costabile A, Kolida S, Klinder A, Gietl E, B auerlein M, Frohberg C, et al. A double-blind, placebo-controlled, cross-over study to establish the bifidogenic effect of a very-long-chain inulin extracted from globe artichoke (*Cynara scolymus*) in healthy human subjects. *Br J Nutr.* oct 2010;104(7):1007-17.
342. Emend rfer F, Emend rfer F, Bellato F, Noldin VF, Cechinel-Filho V, Yunes RA, et al. Antispasmodic activity of fractions and cynaropicrin from *Cynara scolymus* on guinea-pig ileum. *Biol Pharm Bull.* mai 2005;28(5):902-4.
343. Cooke C, Carr I, Abrams K, Mayberry J. Arrowroot as a treatment for diarrhoea in irritable bowel syndrome patients: a pilot study. *Arq Gastroenterol.* mars 2000;37(1):20-4.
344. Bijkerk CJ, de Wit NJ, Muris JWM, Whorwell PJ, Knottnerus JA, Hoes AW. Soluble or insoluble fibre in irritable bowel syndrome in primary care? Randomised placebo controlled trial. *The BMJ* [Internet]. 27 ao t 2009 [cit  17 mars 2018];339. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3272664/>
345. Vejdani R, Shalmani HRM, Mir-Fattahi M, Sajed-Nia F, Abdollahi M, Zali MR, et al. The efficacy of an herbal medicine, Carmint, on the relief of abdominal pain and bloating in patients with irritable bowel syndrome: a pilot study. *Dig Dis Sci.* ao t 2006;51(8):1501-7.
346. Thompson A, Meah D, Ahmed N, Conniff-Jenkins R, Chileshe E, Phillips CO, et al. Comparison of the antibacterial activity of essential oils and extracts of medicinal and culinary herbs to investigate potential new treatments for irritable bowel syndrome. *BMC Complement Altern Med.* 28 nov 2013;13:338.
347. Bensoussan A, Talley NJ, Hing M, Menzies R, Guo A, Ngu M. Treatment of irritable bowel syndrome with Chinese herbal medicine: a randomized controlled trial. *JAMA.* 11 nov 1998;280(18):1585-9.
348. Wang G, Li T, Wang L, Xia Q, Chang J, Zhang Y, et al. Tong-xie-ning, a Chinese herbal formula, in treatment of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Chin Med J (Engl).* 20 d c 2006;119(24):2114-9.
349. Min SJ, Lim JY, Kim HR, Kim S-J, Kim Y. *Sasa quelpaertensis* Leaf Extract Inhibits Colon Cancer by Regulating Cancer Cell Stemness in Vitro and in Vivo. *Int J Mol Sci.* 30 avr 2015;16(5):9976-97.
350. Kim J-H, Kang S-I, Shin H-S, Yoon S-A, Kang S-W, Ko H-C, et al. *Sasa quelpaertensis* and p-coumaric acid attenuate oleic acid-induced lipid accumulation in HepG2 cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2013;77(7):1595-8.
351. Kim K-M, Kim Y-S, Lim JY, Min SJ, Shin J-H, Ko H-C, et al. *Sasa quelpaertensis* leaf extract suppresses dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by inhibiting the proinflammatory mediators and mitogen-activated protein kinase phosphorylation. *Nutr Res N Y N.* oct 2014;34(10):894-905.
352. Yeom Y, Kim B-S, Kim S-J, Kim Y. *Sasa quelpaertensis* leaf extract regulates microbial dysbiosis by modulating the composition and diversity of the microbiota in dextran sulfate sodium-induced colitis mice. *BMC Complement Altern Med* [Internet]. 25 nov 2016 [cit  18 mars 2018];16. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5123288/>

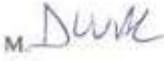
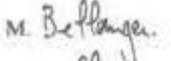
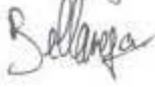
353. Patel R, DuPont HL. New Approaches for Bacteriotherapy: Prebiotics, New-Generation Probiotics, and Synbiotics. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 mai 2015;60(Suppl 2):S108-21.
354. Klaenhammer TR. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie.* mars 1988;70(3):337-49.
355. Asahara T, Shimizu K, Nomoto K, Hamabata T, Ozawa A, Takeda Y. Probiotic bifidobacteria protect mice from lethal infection with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Infect Immun.* avr 2004;72(4):2240-7.
356. Venturi A, Gionchetti P, Rizzello F, Johansson R, Zucconi E, Brigidi P, et al. Impact on the composition of the faecal flora by a new probiotic preparation: preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* août 1999;13(8):1103-8.
357. Servin AL, Coconnier M-H. Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* oct 2003;17(5):741-54.
358. Grosse C, Scherer J, Koch D, Otto M, Taudte N, Grass G. A new ferrous iron-uptake transporter, EfeU (YcdN), from *Escherichia coli*. *Mol Microbiol.* oct 2006;62(1):120-31.
359. Madsen KL, Doyle JS, Jewell LD, Tavernini MM, Fedorak RN. *Lactobacillus* species prevents colitis in interleukin 10 gene-deficient mice. *Gastroenterology.* mai 1999;116(5):1107-14.
360. Yan F, Polk DB. Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *J Biol Chem.* 27 déc 2002;277(52):50959-65.
361. Smits HH, Engering A, van der Kleij D, de Jong EC, Schipper K, van Capel TMM, et al. Selective probiotic bacteria induce IL-10-producing regulatory T cells in vitro by modulating dendritic cell function through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin. *J Allergy Clin Immunol.* juin 2005;115(6):1260-7.
362. Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr Res.* août 1992;32(2):141-4.
363. Chmielewska A, Szajewska H. Systematic review of randomised controlled trials: probiotics for functional constipation. *World J Gastroenterol.* 7 janv 2010;16(1):69-75.
364. Hempel S, Newberry SJ, Maher AR, Wang Z, Miles JNV, Shanman R, et al. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 9 mai 2012;307(18):1959-69.
365. Dylag K, Hubalewska-Mazgaj M, Surmiak M, Szmyd J, Brzozowski T. Probiotics in the mechanism of protection against gut inflammation and therapy of gastrointestinal disorders. *Curr Pharm Des.* 2014;20(7):1149-55.
366. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 28 mai 2013;110(22):9066-71.
367. Bouhnik Y, Raskine L, Simoneau G, Vicaut E, Neut C, Flourié B, et al. The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose-response relation study. *Am J Clin Nutr.* déc 2004;80(6):1658-64.

368. Bouhnik Y, Flourié B, D'Agay-Abensour L, Pochart P, Gramet G, Durand M, et al. Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *J Nutr.* mars 1997;127(3):444-8.
369. Dewulf EM, Cani PD, Neyrinck AM, Possemiers S, Van Holle A, Muccioli GG, et al. Inulin-type fructans with prebiotic properties counteract GPR43 overexpression and PPAR $\gamma$ -related adipogenesis in the white adipose tissue of high-fat diet-fed mice. *J Nutr Biochem.* août 2011;22(8):712-22.
370. Parnell JA, Reimer RA. Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr.* juin 2009;89(6):1751-9.
371. Trautwein EA, Rieckhoff D, Erbersdobler HF. Dietary inulin lowers plasma cholesterol and triacylglycerol and alters biliary bile acid profile in hamsters. *J Nutr.* nov 1998;128(11):1937-43.
372. Hsu C-K, Liao J-W, Chung Y-C, Hsieh C-P, Chan Y-C. Xylooligosaccharides and fructooligosaccharides affect the intestinal microbiota and precancerous colonic lesion development in rats. *J Nutr.* juin 2004;134(6):1523-8.
373. L. Causey J, Feirtag J, Gallaher D, Tunland B, L. Slavin J. Causey JL, Feirtag JM, Gallaher DD, Tunland BC, Slavin JL. Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. *Nutr Res* 20, 191-201. *Nutr Res - NUTR RES.* 1 févr 2000;20:191-201.
374. Pool-Zobel B, van Loo J, Rowland I, Roberfroid MB. Experimental evidences on the potential of prebiotic fructans to reduce the risk of colon cancer. *Br J Nutr.* mai 2002;87 Suppl 2:S273-281.
375. Taper HS, Roberfroid MB. Inulin/oligofructose and anticancer therapy. *Br J Nutr.* mai 2002;87 Suppl 2:S283-286.
376. Verghese M, Rao DR, Chawan CB, Williams LL, Shackelford L. Dietary inulin suppresses azoxymethane-induced aberrant crypt foci and colon tumors at the promotion stage in young Fisher 344 rats. *J Nutr.* sept 2002;132(9):2809-13.
377. Femia AP, Luceri C, Dolara P, Giannini A, Biggeri A, Salvadori M, et al. Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis.* nov 2002;23(11):1953-60.
378. Lewis S, Burmeister S, Brazier J. Effect of the prebiotic oligofructose on relapse of *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a randomized, controlled study. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* mai 2005;3(5):442-8.
379. Baquerizo Nole KL, Yim E, Keri JE. Probiotics and prebiotics in dermatology. *J Am Acad Dermatol.* oct 2014;71(4):814-21.
380. Moro G, Arslanoglu S, Stahl B, Jelinek J, Wahn U, Boehm G. A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age. *Arch Dis Child.* oct 2006;91(10):814-9.
381. Steed H, Macfarlane GT, Blackett KL, Bahrami B, Reynolds N, Walsh SV, et al. Clinical trial: the microbiological and immunological effects of synbiotic consumption - a randomized double-blind placebo-controlled study in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* oct 2010;32(7):872-83.

382. Ishikawa H, Matsumoto S, Ohashi Y, Imaoka A, Setoyama H, Umesaki Y, et al. Beneficial effects of probiotic bifidobacterium and galacto-oligosaccharide in patients with ulcerative colitis: a randomized controlled study. *Digestion*. 2011;84(2):128-33.
383. Zhang F, Luo W, Shi Y, Fan Z, Ji G. Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol*. nov 2012;107(11):1755; author reply p.1755-1756.
384. Freeman J, Bauer MP, Baines SD, Corver J, Fawley WN, Goorhuis B, et al. The changing epidemiology of *Clostridium difficile* infections. *Clin Microbiol Rev*. juill 2010;23(3):529-49.
385. Dodin M, Katz DE. Faecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection. *Int J Clin Pract*. mars 2014;68(3):363-8.
386. Angelberger S, Reinisch W, Makristathis A, Lichtenberger C, Dejaco C, Papay P, et al. Temporal bacterial community dynamics vary among ulcerative colitis patients after fecal microbiota transplantation. *Am J Gastroenterol*. oct 2013;108(10):1620-30.
387. Gordon H, Harbord M. A patient with severe Crohn's colitis responds to Faecal Microbiota Transplantation. *J Crohns Colitis*. mars 2014;8(3):256-7.
388. Kunde S, Pham A, Bonczyk S, Crumb T, Duba M, Conrad H, et al. Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. juin 2013;56(6):597-601.
389. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JFWM, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*. oct 2012;143(4):913-916.e7.
390. Guseo A. [The Parkinson puzzle]. *Orv Hetil*. 30 déc 2012;153(52):2060-9.
391. Borody TJ, Brandt LJ, Paramsothy S. Therapeutic faecal microbiota transplantation: current status and future developments. *Curr Opin Gastroenterol*. janv 2014;30(1):97-105.
392. Xu M-Q, Cao H-L, Wang W-Q, Wang S, Cao X-C, Yan F, et al. Fecal microbiota transplantation broadening its application beyond intestinal disorders. *World J Gastroenterol WJG*. 7 janv 2015;21(1):102-11.
393. Noyer CM, Simon D, Borczuk A, Brandt LJ, Lee MJ, Nehra V. A double-blind placebo-controlled pilot study of glutamine therapy for abnormal intestinal permeability in patients with AIDS. *Am J Gastroenterol*. juin 1998;93(6):972-5.
394. Park JH, Grandjean CJ, Antonson DL, Vanderhoof JA. Effects of short-term isolated zinc deficiency on intestinal growth and activities of several brush border enzymes in weaning rats. *Pediatr Res*. déc 1985;19(12):1333-6.
395. Bomba A, Nemcová R, Gancarcíková S, Herich R, Pistl J, Révajová V, et al. The influence of omega-3 polyunsaturated fatty acids (omega-3 pufa) on lactobacilli adhesion to the intestinal mucosa and on immunity in gnotobiotic piglets. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. août 2003;116(7-8):312-6.

## DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 27 juin 2018

<p align="center"><b>DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE</b></p> <p>présenté par : Ludovic Coppé</p> <p><u>Sujet</u> : Dysbioses intestinales chez l'Homme : causes, conséquences, prophylaxies, traitements.</p> <p><u>Jury</u> :</p> <p>Président : M. Raphaël DUVAL, Professeur de microbiologie      Directeur : M. Xavier BELLANGER, Maître de conférences      Juges : Mme Isabelle BERTRAND, Maître de conférences      Mme Anne-Sylvie HINZELIN, Pharmacien</p>	<p align="center">Vu, Nancy, le <u>28/05/2018</u></p> <p>Le Président du Jury      Directeur de Thèse</p> <p align="center">      </p>
<p align="center">Vu et approuvé, Nancy, le <u>29.05.2018</u></p> <p align="center">Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine,</p> <p align="center">   <b>Francine PAULUS</b> </p> <p align="center">  </p>	<p align="center">Vu, Nancy, le      - 8 JUIN 2018</p> <p align="center">Le Président de l'Université de Lorraine,</p> <p align="center">   <b>Pierre MUTZENHARDT</b> </p> <p align="center">  </p> <p>N° d'enregistrement : <u>103 21</u></p>

**N° d'identification :**

**TITRE**

**Dysbioses intestinales chez l'Homme : causes, conséquences, prophylaxies et traitements.**

**Thèse soutenue le 27 juin 2018**

**Par Ludovic Coppé**

**RESUME :**

Les dysbioses intestinales sont les conséquences d'un déséquilibre impactant la microflore colonisant le système intestinal de l'Homme. Différentes causes peuvent être responsables de l'apparition de ce désordre microbien, comme la prise de médicaments antibiotiques ou une alimentation non optimale. La flore intestinale exerce de nombreux rôles physiologiques pour la santé de l'hôte et le déséquilibre pouvant ressortir entre les différentes populations microbiennes est susceptible d'entraîner de nombreuses conditions pathologiques. De nos jours, la connaissance du microbiote est en pleine expansion, tout comme les différents moyens thérapeutiques préventifs et/ou curatifs, notamment les probiotiques, qui sont un domaine en plein essor.

L'objectif de cette thèse est de mettre en lumière la nécessité de posséder un écosystème intestinal optimal afin de préserver et d'optimiser la santé générale de patients atteints de pathologies liées aux dysbioses.

En premier lieu, ce travail traitera de la microflore en général, de la caractérisation des espèces présentes dans notre système intestinal, de leur composition et leur implantation tout le long du tube digestif. La deuxième partie de la thèse concerne les différents rôles physiologiques attribués aux bactéries et des interactions qui s'établissent entre les espèces bactériennes et l'organisme de l'hôte. Pour la troisième partie, les dysbioses et les pathologies associées au déséquilibre des populations bactériennes sont détaillées. La quatrième partie de mon travail, nous nous intéresserons aux moyens diagnostiques et à l'arsenal thérapeutique dont on dispose à l'heure d'aujourd'hui, à la fois sur le plan préventif et sur le plan curatif, sans oublier de parler du rôle majeur de l'alimentation et des aliments la composant.

**MOTS CLES :** Dysbioses, microbiote, causes, conséquences, prophylaxies, traitements

<b>Directeur de thèse</b>	<b>Intitulé du laboratoire</b>	<b>Nature</b>
Xavier Bellanger	LCPME - UMR 7564 CNRS	<b>Expérimentale</b> <input type="checkbox"/> <b>Bibliographique</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>Thème</b> <input type="checkbox"/>

**Thèmes**

**1 – Sciences fondamentales**

**3 – Médicament**

**5 -- Biologie**

**2 – Hygiène/Environnement**

**4 – Alimentation – Nutrition**

**6 – Pratique professionnelle**