



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abès Laghrou Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

**Exploration des interactions entre le microbiote
intestinal et le Système immunitaire**

Soutenu : le 27/06/2022

Présenté par :

CHEHHAT Abdelghafour

KHORCHI Amira

BOUZIANE Bouthaina

Devant le jury :

Président : Dr. Maamar Hichem MCB Université de Abès Laghrou- Khenchela

Examinatrice : Dr. Leulmi Nasima MCA Université de Abès Laghrou- Khenchela

Encadreur : Dr. Merabti Ryma MCA Université de Abès Laghrou- Khenchela

Année Universitaire 2021-2022



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abbès Laghrour Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Exploration des interactions entre le microbiote intestinal et le Système immunitaire

Soutenu : le 27/06/2022

Présenté par :

CHEHHAT Abdelghafour

KHORCHI Amira

BOUZIANE Bouthaina

Devant le jury :

Président : Dr. Maamar Hichem MCB *Université de Abèss Laghrour- Khenchela*

Examinatrice : Dr. Leulmi Nasima MCA *Université de Abèss Laghrour- Khenchela*

Encadreur : Dr. Merabti Ryma MCA *Université de Abèss Laghrour- Khenchela*

Année Universitaire 2021-2022

Remerciements

Tout d'abord nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir données la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

On tient particulièrement à remercier

Dr. Merabti Ryma qui nous a suivies dans ce travail et qui nous a dirigées et conseillées.

Nous la remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa souplesse et sa patience durant la préparation du notre mémoire.

Nous adressons un immense merci au Dr. Derouiche Faouzia de nous avoir aidé à suivre ce travail, et grâce à elle qui ce mémoire est devenu possible.

Nous remercions également

Dr. Maamar Hichem et Dr. Leulmi Nassima et d'avoir acceptés de juger notre travail. Autant que president et examinatrice

Nous remercions aussi nos ensientes qui nous ont formés

Nous remercions nos collègues de la promotion

Nous remercions aussi les professeurs de tout notre parcours qui nous ont transmis les valeurs de la science.

Nous remercions mes collègues de la promotion « Master 2 microbiologie appliquée 2021/2022.



Dédicace



Je dédie ce mémoire à mes chers parents pour leurs affections inépuisables et leurs précieux conseils.

Je remercie grandement mes chers parents qui sont restés éveillés et qui ont été pour moi une source d'amour et d'affection.

Ils n'ont cessé de prier pour moi durant mon cursus scolaire et m'ont régulièrement encouragé.

Mon cher papa Salim dont aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai et que j'aurai toujours pour toi.

Ma chère maman El Baida pour tous tes efforts et sacrifices consentis pour moi.

Un grand merci pour toutes vos prières et douas.

Que Dieu puisse vous gardez auprès de moi le plus longtemps possible et en bonne santé. Je remercie chaque jour Dieu de vous avoir comme parents.

À vous mes chers frères Aymen Iskander et Hichem qui ont été toujours à mes côtés

A ma chère soeur Aya qui a toujours su apporté cette douceur sucré à notre vie de famille.

Je n'oubli pas bien évidemment ma petite nièce Celine et toute ma famille Khorchi et Bouadjadja.

À mes camarades de la promotion et mes enseignants.

À mes amis qui m'ont soutenu et qui ont été à mes côtés.

À tous ceux, qui de près ou de loin ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

AMIRA



Dédicace



*Je dédie le fruit de ma bougie de fin d'études aux plus précieux des trésors : Mes
parents*

*Mon cher papa abdennacer et ma tendre maman houria ma lune pour tous leurs
sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes
études,*

*A mes chères sœurs amina et zaima pour leurs encouragements permanents, et leur
soutien moral,*

*A mes chers frères raouf, sif et haroun, pour leur appui et leur encouragement,
Au long de mon parcours universitaire,*

*A mes meilleurs amis qui m'ont toujours soutenu
A toute ma famille et Mon coin sûr pour leur soutien tout*

*A mon grand-père, que Dieu ait pitié de lui, qui attend mon diplôme
Bien qu'il soit parti, il est toujours vivant dans mon cœur*

*"Whatever you choose for a career path, remember the struggles along the way are
only meant to shape you for your purpose." Chadwick Boseman*

« Que la famille »

Abdelghafour



Dédicace



Je dédie ce travail à Ceux qui j'ai tant aimé avec beaucoup d'amour

et que je suis très fière de les avoir comme parent

Et que tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour que je leur porte

*Mon père Halim et ma mère Hakima et pour leurs soutiens et leurs sacrifices
énormes.*

*A mes frères Zaki, Akrem et Tamer pour tous les instants inoubliables passés à ses
côtés.*

A mon trésor ma chère sœur Khoulood.

A ma sœur que ma mère ne m'a pas donnée Amira Khorchi

Sans oublier mon amie «Amina» et mon trénon «Ghafour chahhat »

Ainsi que toute ma famille Bouziane et mes amis sans exception.

*À tous les enseignants de département de biologie moléculaire et cellulaire de
l'université Abbes Laghrour.*

A la promotion MICROBIOLOGIE 2021/2022

Bouthaina

Résumé

Le microbiote intestinal est l'ensemble des micro-organismes non pathogènes dits commensaux, vivant dans l'intestin de l'organisme. Plusieurs facteurs influents sur les interactions entre le microbiote intestinale et le système immunitaire. Le but de cette étude est d'explorer les interactions entre le microbiote intestinal et le système immunitaire. Dans ce travail, nous avons réalisé une revue bibliographique sur la caractérisation de microbiote par des différentes méthodes d'identification et ses interactions avec le système immunitaire intestinale et les facteurs qui affectent ce dernier.

Nous sommes face à une interaction entre un nombre estimé à 10^{14} bactéries qui constituent cet organe et ce qui constitue véritablement l'être humain. Un dialogue entre bactéries et système immunitaire s'engage à la naissance, lors de la colonisation intestinale, et induit le recrutement de multiples acteurs cellulaires qui coopèrent avec l'épithélium pour construire une barrière efficace, capable de confiner les bactéries dans la lumière intestinale. Son rôle est considérable dans le développement du système immunitaire pour l'adapter à la reconnaissance des signaux de danger. Et aussi les rôles de microbiote intestinale vis-à-vis du système immunitaire et différents phénomènes biologiques tels que la nutrition, la santé et l'environnement.

Mots- clés : *Microbiote ; Intestin ; Immunité ; Exploration intestinale.*

Abstract

The intestinal microbiota is the main of non-pathogenic commensal microorganisms living in the intestine of the organism. Several factors influence the interactions between the intestinal microbiota and the immune system. The aim of this study is to explore the interactions between the intestinal microbiota and the immune system. In this work, we carried out a bibliographical review on the characterization of microbiota by different identification methods and its interactions with the intestinal immune system and its affected factors.

We are faced with an interaction between an estimated number of 10^{14} bacteria that make up this organ and what truly constitutes the human being. A dialogue between bacteria and the immune system begins at birth, during intestinal colonization, and induces recruitment multiple cellular actors that cooperate with the epithelium to build an effective barrier capable of confining bacteria to the intestinal lumen. Its role is considerable in the development of the immune system to adapt it to the recognition of danger signals. and also, the roles of intestinal microbiota towards the immune system and different biological phenomena such as nutrition, health and environment.

Keywords: *Microbiota; intestine; Immunity. Intestinal exploration.*

ملخص

الميكروبات المعوية هي مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة غير المسببة للأمراض ما يسمى الكائنات الحية الدقيقة المتعايشة في أمعاء الكائن الحي. هناك عدة عوامل تؤثر على التداخلات بين الميكروبات المعوية والجهاز المناعي. الهدف من هذه الدراسة هو استكشاف التداخلات بين الميكروبات المعوية والجهاز المناعي. في هذا العمل ، أجرينا دراسة بيليوغرافية حول توصيف الميكروبات من خلال طرق تحديد مختلفة وتفاعلاتها مع جهاز المناعة المعوي والعوامل التي تؤثر على هذا الأخير

نحن نواجه تفاعلاً بين عدد يقدر بـ 10^{14} نوعاً من البكتيريا التي تتكون منها هذا العضو وما يشكل حقاً الإنسان. يبدأ الحوار بين البكتيريا والجهاز المناعي عند الولادة ، وأثناء الاستعمار المعوي ، ويحث على تجنيد العديد من الجهات الفاعلة الخلوية التي تتعاون معها. الظهارة لبناء حاجز فعال قادر على حصر البكتيريا في تجويف الأمعاء. دورها كبير في تطوير جهاز المناعة لتكييفه مع التعرف على إشارات الخطر وكذلك دور الميكروبات المعوية على الجهاز المناعي و الظواهر البيولوجية المختلفة مثل التغذية والصحة والبيئة.

الكلمات المفتاحية: ميكروبات الامعاء ؛ الأمعاء ؛ مناعة ؛ استكشاف الأمعاء.

Liste des tableaux

Tableau 01. Effets et fonctions du microbiote intestinal.	13
Tableau 02. Méthodes moléculaires de l'analyse du microbiote intestinal.	30

Liste des figures

Figure 01. Composition du microbiote intestinal.....	5
Figure 02. Evolution de la flore fécale au cours de la vie humaine.....	6
Figure 03. Composition de microflore intestinale du nouveau-né	7
Figure 04. Répartition bactérienne dominante.....	9
Figure 05. Rôle du microbiote intestinal	12
Figure 06 : Fermentation des sucres (indigestes) par le microbiote colique...	15
Figure 07. Différentes fonctions du microbiote intestinal.....	16
Figure 08. Principe général de la cytométrie en flux.....	22
Figure 09. Analyse métagénomique de microbiote	24
Figure 10 . Protocole de la méthode PCR	27
Figure 11. Acteurs de la PCR	28
Figure 12. Système immunitaire humain.	34
Figure 13. Mécanisme d'activation et de maturation des lymphocytes B.....	37
Figure 14. Activation des lymphocytes T.....	38
Figure 15 . Composition du système immunitaire intestinal	42
Figure 16. Structure des principaux NLR. CARD.....	45
Figure 17 . Localisation des TLR dans le côlon humain et polarisation Adapté.	46
Figure 18 . Interaction microbiote intestinal-immunité dans l'homéostasie...	48
Figure 19 . Microbiote, immunité innée et adaptative	51
Figure 20. Inflammasome NLRP3	54
Figure 21. Interactions des cellules T ILC-CD4+ du groupe 3.....	57
Figure 22. Dérégulation de l'interaction microbiome-immunité dans la maladie	60
Figure 23. Microbiote intestinal et ses rôles multiples chez son hôte adaptée	67

Liste des abréviations

AC	Anticorps
ADNr 16S	Acide désoxyribonucléique ribosomal 16S
AE	Atopic eczema
AG	Antigènes
AGCC	Acides gras à chaîne courte
AR	Abondance relative
ARNr 16S	Acide ribonucléique ribosomal 16S
BCR	Récepteurs des lymphocytes B
C:	Constant
CARD	Caspase recruitment domain
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA	Cellules présentatrices de l'antigène
CSH	Cellule souche hématopoïétique
DA	Dermite atopique, dermatite atopique, eczéma atopique
DGGE	Denaturation gradient gel electrophoresis
ECUN	Entérocolites nécrosantes du nouveau-né
FISH	Hybridation <i>in situ</i> en fluorescence
FOS	Fructo-oligosaccharides
GALT	Gut associated lymphoid tissue
GOS	Galacto-oligosaccharides
HLA	Antigènes leucocytaires humains
HMOS	Human milk oligosaccharides
IBD	Inflammatory bowel disease
Ig	Immunoglobulines
IgA S	IgA sécrétoires
Kb	Kilos bases
KIR	Killer inhibitory receptor
LB	Lymphocytes B
LGG	Lactobacillus rhamnosus GG
LPS	Lipopolysaccharides
LRRs	Leucine-rich repeats
LTc	Lymphocytes T CD8+ cytotoxiques
LTh, CD4+	Lymphocytes T helper, lymphocytes T auxiliaires
LTh0	Lymphocytes T naïfs
L NK	Lymphocytes Natural Killer
MICI	Maladie Inflammatoire Chronique Intestinale

Table des matières	
Résumé.....	I
Abstrat	II
ملخص.....	III
Liste des tableaux et des figures	IV
Liste des abréviations	V
Table des matières	VI
I. Introduction	1
Chapitre I : Microbiote intestinal	
I.1. Définition du microbiote intestinal	4
I.2. Composition du microbiote intestinal	4
I.3 .Variation du microbiote au cours du temps	6
I.3.1 Nouveau-né, Implantation	6
I.3.2 Cinétique d'implantation	6
I.3.2.1 Mode d'accouchement	7
I.3.2.2 Environnement.	7
I.3.2.3 Type d'alimentation	8
I.3.2.4 Antibiothérapie	8
I.3.3 Adulte / Composition de la microflore intestinal	8
I.3.3.1 Firmicutes	10
I.3.3.2 Bacteroidetes	11
I.3.3.3 Actinobacteria	11
I.3.3.4 Proteobacteria	12
I.4 .Fonctions du microbiote intestinal	12
I.4.1 Effet de barrière et fonctions immunitaires	13
I.4.2 Fonctions métaboliques	14
I.4.2.1 Fermentation	15
I.4.2.2 Transformation des acides biliaires et divers xénobiotiques	16
I.4.2.3 Autres	16
I.4.3 Effets trophiques et sur la motricité	17
I.4.4 Effets sur le système nerveux	17

I.5. Effect des facteurs alimentaires sur le microbiote intestinal	18
Chapitre II: Identification et caractérisation du microbiote intestinal	
II.1. Méthodes culturales dépendantes	20
II.1.2 Technique classique (culture sur milieux sélectifs)	20
II.1.2 Méthode de la Cytométrie de flux	20
II.2. Méthodes cultura les indépendantes	23
II.2.1 Métagénomique	23
II.2.2 PCR (Polymerase Chain Reaction)	27
II.2.2.1.Principe	27
II.2.2.2 Acteurs de la PCR	28
II.3. Comparaison culturomique-métagénomique 16S	29
II.4. Avantage et les inconvenantes des techniques	30
Chapitre III : Intérêt de microbiote intestinal dans le système immunitaire	
III.1 Généralité sur le système immunitaire	32
III.1.1 Système immunitaire inné et système immunitaire adaptatif	34
III.1.1.1 Système immunitaire inné	35
III.1.2.1 Système immunitaire adaptatif	35
III.1.2.2 Système immunitaire et ses acteurs	35
III.1.2.2.1 Marqueurs de soi	35
III.1.2.2.2 Immunité Humorale : Lymphocytes B	36
III.1.2.2.3 Immunité cellulaire : Lymphocytes T	37
III.1.2.4 Interactions cellulaires	39
III.2 Immunité intestinale	40
III.2.1. Composition de l'immunité intestinale	40
III.2.1.1. Muqueuse intestinal	40
III.2.1.2. Organes lymphoïdes secondaires et tertiaires	41
III.2.1.3. Flore bactérienne	41
III.2.2 Rôle de l'immunité intestinal	42
III.2.2.1. Rôle de barrière de protection de l'organisme	42
III.2.3 Induction de la réponse immunitaire gastro-intestinale	43
III.2.3.1 Récepteurs de type lectine de type C (CLR)	43
III.2.3.2 RIG-I-like receptors (RLR)	43

III.2.3.3 NOD-like receptors (NLR)	44
III.2.3.4 Toll-Like Receptors (TLR)	45
III.2.4 Récepteurs Toll-like et leur importance dans l'homéostasie intestinale	46
III.3 Interaction entre microbiote et système immunitaire dans l'homéostasie	47
III.3.1. Diaphonie entre le système immunitaire inné et le microbiote	47
III.3.2. Rôle du microbiote intestinal dans la mise en place et homéostasie de système immunitaire inné	49
III.3.2.1 Fonctions des récepteurs NLR et des RLR dans l'immunité innée intestinale	53
III.3.3 Interactions entre le système immunitaire adaptatif et le microbiote	54
III.3.4. Intervention du microbiote intestinal dans le développement du système immunitaire	58
III.4 Influence du microbiome environnemental perturbation du système immunitaire	59
III.4.1. Perturbations du microbiome induites par les antibiotiques	59
III.4.2. Altérations du microbiome induites par l'alimentation	61
III.4.3 Influences Génétiques	62
III.4.3.1 Maladies inflammatoires de l'intestin: des maladies génétiques histoire familial	62
III.4.4 Infections	63
III.5 Rôle du microbiote intestinal dans la santé humaine	63
III.5.1 Métabolique	64
III.5.2 Résistance et protection	65
III.5.3 Microbiote intestinal et l'obésité	66
III.5.4 Perspectives	68
VII. Conclusion	71
Références bibliographiques.....	72

Introduction

I. Introduction

La flore, ou microbiote, est l'ensemble des micro-organismes non pathogènes dits commensaux, vivant dans un environnement spécifique appelé microbiome, chez un hôte qui peut être animal ou végétal ou une matière pouvant être elle-même d'origine animale ou végétale (**Burcelin, et al., 2016**). Notre organisme est composé de plusieurs microbiotes, notamment au niveau de la peau, de la bouche et du vagin, mais le microbiote intestinal est le plus important d'entre eux (**Dolié, 2018**).

Les flores microbiennes constituant des écosystèmes sont composées de micro-organismes divers comme les bactéries, archées, champignons, protistes et virus. La caractérisation et la classification des nombreux micro-organismes qui la constituent se sont effectuées de manière étroite avec les outils disponibles au cours du temps (**Rosselló-Mora et al, 2001**).

Elle a démarré par des méthodes de caractérisation phénotypique par l'observation des caractères morphologiques au travers d'un microscope, jusqu'aux méthodes de caractérisation génotypique par séquençage de l'information génétique contenue au sein de leur cellule. Cette caractérisation est nécessaire pour comprendre le rôle fonctionnel des micro-organismes dans un écosystème, et détecter les espèces potentiellement associées à des maladies humaines telles que des maladies intestinales, ou celles associées à la palatabilité des produits alimentaires. Encore aujourd'hui, la majorité des micro-organismes étaient caractérisés par des méthodes d'isolement et de cultures cellulaires en laboratoire, facilitant la manipulation et la visualisation de ces cellules. Cependant, la majorité des micro-organismes présents dans les flores microbiennes sont difficilement isolable et cultivable. On estimait fin 2012 que ~30% des cellules bactériennes de la flore intestinale humaine étaient caractérisées (**Qin et al, 2010; Nielsen, Almeida et al, 2013**), et que moins de 50% de la flore fromagère de produits fermentés traditionnels était caractérisés au niveau fonctionnel (**Bourdichon et al, 2012**).

Depuis 2006, il est possible d'obtenir directement le contenu génique d'un prélèvement de flore sans contrainte d'isolement ou de culture, par utilisation de séquenceurs à ADN de seconde génération.

Selon la méthode de séquençage, il est soit possible d'amplifier spécifiquement des régions contenant des marqueurs phylogénétiques d'une espèce ou d'amplifier aléatoirement l'ADN (ou d'ARN) présent dans le prélèvement. Ces méthodes permettant

d'étudier collectivement des fragments d'ADN des organismes d'une flore sont des méthodes dites de **métagénomique**, et les méthodes permettant d'étudier l'abondance relative de chaque fragments au sein d'un prélèvement métagénomique sont des méthodes dites de **métagénomique quantitative**.

Le microbiome intestinal est façonné par une multitude des facteurs dont les impacts dominant sur la génétique de l'hôte. Ces facteurs environnementaux, y compris l'alimentation, l'utilisation d'antibiotiques, le mode de vie occidentalisé ... etc, sont des déclencheurs potentiels de maladies inflammatoires et auto-immunes. **(Vojdani et al.2014)** Actuellement, les sources environnementales de variation du microbiome les mieux étudiées sont le traitement antibiotique et l'alimentation du parce que la compréhension de la modulation du microbiome intestinal environnemental et de son impact sur la maladie la propension n'en est encore qu'à ses balbutiements.

Le microbiome intestinal est essentiel à de nombreux aspects de la santé humaine, notamment les traits immunitaires, métaboliques et neurocomportementaux. Des preuves à des degrés divers provenant de modèles animaux **(De Palma et al,2017 ; Wiley et al,2017)**.

Le microbiome fait référence aux génomes collectifs des micro-organismes dans un environnement particulier, et le microbiote est la communauté des micro-organismes eux-mêmes. Le tractus gastro-intestinal humain. **(Bull et Plummer,2014)**. Le microbiome est désormais considéré comme un organe virtuel du corps. Le génome humain se compose d'environ 23 000 gènes, tandis que le microbiome encode plus de trois millions de gènes produisant des milliers de métabolites, qui remplacent de nombreuses fonctions de l'hôte, **(Vyas et al,2012)** influençant par conséquent la forme physique, le phénotype et la santé de l'hôte.

L'objectif de cette étude est l'exploration des interactions entre le microbiote intestinale et le système immunitaire.

Le travail est réparti en une introduction sur le microbiote intestinale et le système immunitaire, et trois chapitres : (Chapitre 1 qui est une généralité sur le microbiote intestinale, et chapitre 2 contient des différentes méthodes d'identification et de caractérisation du microbiote intestinale, et le chapitre 3 concernant l'entretien et les interactions du microbiote intestinale dans le système immunitaire). Suivie par une conclusion.

Chapitre I :

Microbiote intestinal

I.1. Définition du microbiote intestinal

Le terme microbiote provient du grec ancien *μικρός* (mikros, « petit ») et *βίωτος*, (bíotos, « vie ») Ce mot désigne l'ensemble des Micro-Organismes (MO) (Bactéries, Archées, Champignons, Protozoaires mais aussi Virus) hébergés par un hôte qui peut être un organisme vivant (animal, végétal) ou non vivant (air, eau, sol, matière organique ou inorganique). **(Doré, 2017)**

L'environnement dans lequel vit le microbiote représente un écosystème spécifique que l'on nomme microbiome. **(Doré, 2017)**.

Tous les organismes vivent en interaction étroite et permanente avec les microbes de l'environnement et peuvent être considérés comme des supra-organismes constitués d'une part de leurs propres cellules et de l'autre, des MO qui colonisent toutes leurs surfaces et cavités en contact avec le compartiment extérieur **(Doré, 2017)**. Ainsi, on ne parle pas d'un mais de plusieurs microbiotes, car les différentes surfaces colonisées sont autant de microbiomes aux caractéristiques propres qui hébergent chacune une population microbienne particulière. **(Doré, 2017)**.

Les animaux supérieurs possèdent une communauté microbienne très diversifiée, composée principalement de bactéries mais incluant aussi des archées, des virus, des champignons ainsi que des protozoaires. Ces micro-organismes occupent l'ensemble des surfaces muco-sales de l'hôte (peau, muqueuse vaginale...) même si la majorité d'entre eux résident au niveau du tractus gastro-intestinal **(Sommer et al., 2013)**.

L'intestin, chez l'adulte, contient 10¹⁴ bactéries alors que le nombre de cellules présentes dans le corps humain est 10¹³ cellules : l'intestin contient ainsi 10 fois plus de bactéries que de cellules humaines **(Savage, 1977 ; Xu et al., 2003)**.

Ces bactéries représentent un écosystème très complexe, constitué de 500 à 1000 espèces différentes ; les 30 à 40 espèces dominantes représentent à elles-seules 99 % du microbiote total **(Tannock, 1999 ; Qin et al., 2010 ; Human Microbiome Project Consortium 2012)**. Le génome bactérien combiné des différentes bactéries présentes, appelé microbiome, contient plus de 5 millions de gènes, ce qui est cent fois plus important que le potentiel génétique de l'hôte **(Human Microbiome Project Consortium 2012)**.

I.2. Composition du microbiote intestinal

Les conditions écologiques diffèrent considérablement le long du tractus digestif (pH, potentiel d'oxydo-réduction ou potentiel redox, anaérobiose, disponibilité de substrats

alimentaires, vitesse du transit, site d'adhésion, etc.), on comprend aisément que le microbiote diffère fortement selon des niches (comme les gencives, la langue, l'estomac, le grêle proximal, le grêle distal, le côlon proximal et distal, le mucus, etc.) (Fig. 1). Il existe aussi des interactions entre les micro-organismes qui coopèrent en chaînes trophiques, symbioses, biofilms ou à l'opposé s'antagonisent par exclusion compétitive. En conséquence, les associations microbiennes ne sont souvent pas le fruit du hasard mais au contraire organisées en entérotypes (Doré et al., 2010 ; Arumugam et al., 2011 ; Faust et al., 2012).

L'équilibre écologique de chaque niche est variable. L'écosystème du côlon est le plus abondant et celui renfermant la plus grande biodiversité (chacun d'entre nous hébergeant plus de 100 espèces de bactéries coliques). (Doré, 2010).

Quand on examine les selles au moyen de marqueurs moléculaires très spécifiques d'espèces ou de souches, on constate que chacun d'entre nous possède un microbiote qui lui est propre, c'est-à-dire qu'il diffère suffisamment de celui d'autres êtres humains pour être reconnu. Les analyses de composition de microbiote couplées aux outils biostatistiques montrent que le microbiote de jumeaux diffère moins que celui de deux apparentés non jumeaux, eux-mêmes moins différents que ceux de sujets non apparentés (Doré, 2010). Les rôles de facteurs génétiques et d'environnement sont donc évidents et non mutuellement exclusifs.

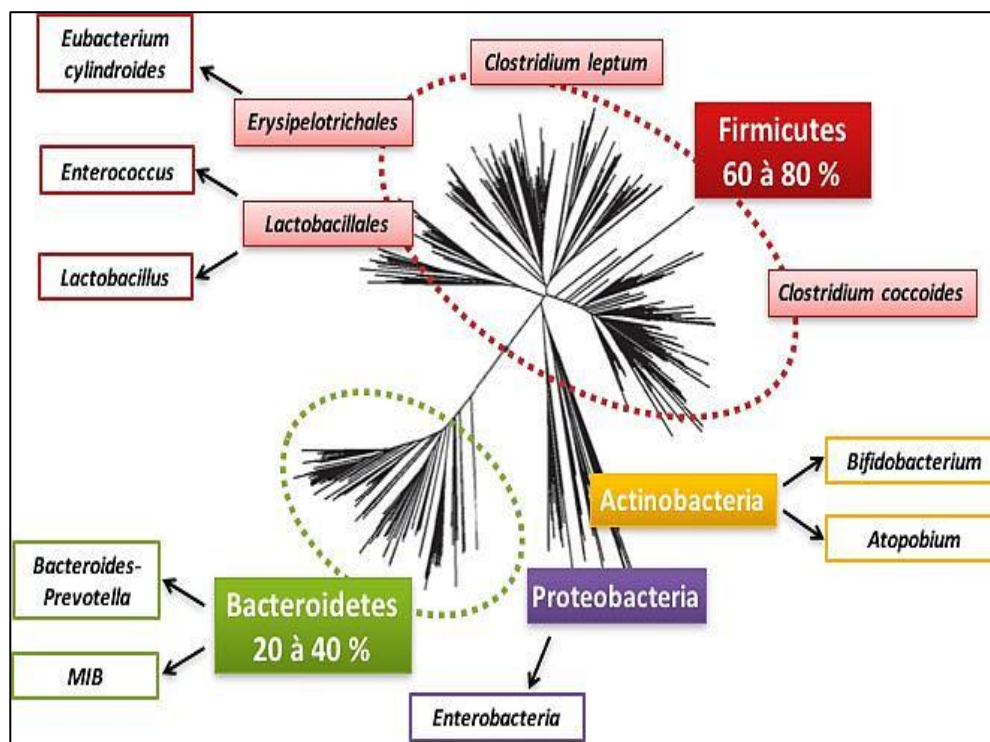


Figure 01. Composition du microbiote intestinal. (Kapel et al. 2014).

I.3 .Variation du microbiote au cours du temps

L'ensemble des micro-organismes présents tous le long du tractus digestif est appelé microflore intestinale. Sa subsistance est assurée par nos résidus alimentaires, nos sécrétions ainsi que par la desquamation des tissus (Corthier, 2007). Chaque individu a une flore spécifique qui lui est propre et stable au cours du temps mais il n'est pas le même aux âges extrêmes de la vie (nouveau-né et personnes âgées). (Figure 2)

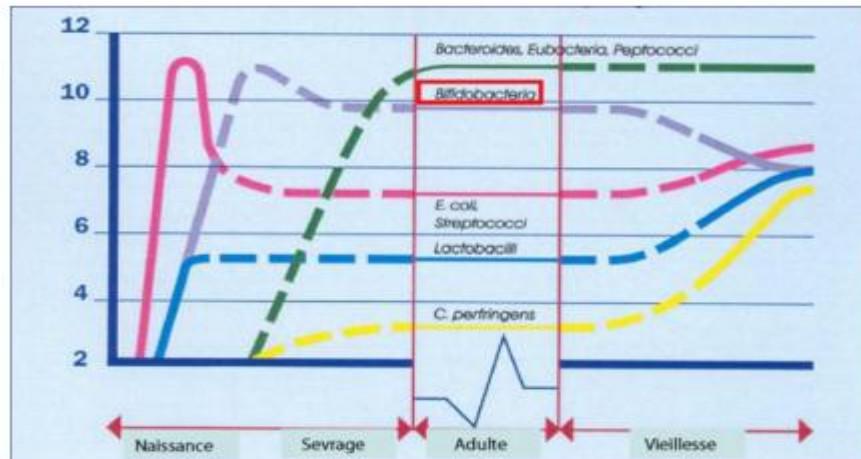


Figure 02. Evolution de la flore fécale au cours de la vie humaine (Corthier, 2007).

I.3.1 Nouveau-né, Implantation

Le tractus digestif du nouveau-né à la naissance est dépourvu de micro-organismes. Il est appelé axénique. La colonisation débute dès l'accouchement et le niveau de population bactérien atteint rapidement 10¹¹ bactéries par gramme de selles. Cependant cette colonisation reste contrôlée, en effet des équipes françaises d'immunologie ont mis en évidence la présence d'un système immunitaire primaire innée chez le nourrisson qui permet de réguler la mise en place du microbiote intestinal pour éviter la prolifération d'agents pathogènes (Manus, 2011).

I.3.2 Cinétique d'implantation

En raison de la teneur élevée en oxygène initialement présente dans l'intestin du nouveauné, les premières bactéries implantées sont des organismes anaérobies facultatifs : Les *Enterobacteriaceae* (notamment *Escherichia coli*), les *Enterococcus* et les *Staphylococcus* (colonisation 24 à 48h après la naissance). (Campeotto et al., 2007).

Ces bactéries dont le niveau atteint rapidement 10⁹-10¹⁰ UFC/g de contenu colique vont consommer progressivement l'oxygène du tube digestif permettant l'implantation par la suite des genres anaérobies stricts (*Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides*) mais aussi des *Lactobacillus* et microaérophiles. Ainsi rapidement le potentiel redox devient négatif et inhibe à son tour le niveau d'implantation des genres aérobies (Campeotto et al., 2007).

De nombreux éléments vont influencer cette cinétique de colonisation et la composition de la microflore intestinale du nouveau-né (Figure 3) :

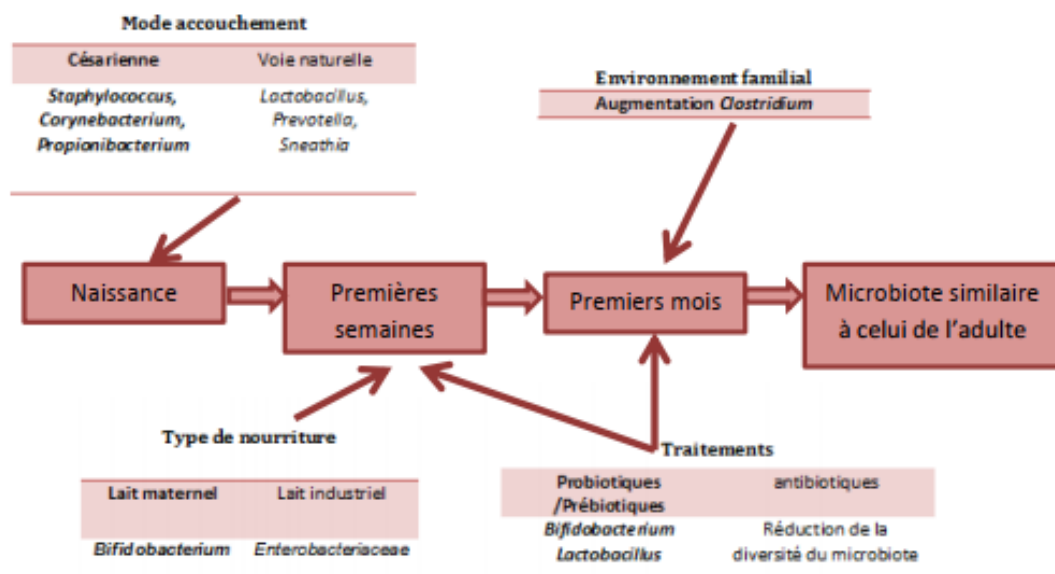


Figure 03. Composition de microflore intestinale du nouveau-né (Matamoros et al., 2013).

I.3.2.1 Mode d'accouchement

Un accouchement par voie naturelle favorise le contact du nouveau-né avec la flore de sa mère (flore vaginale et fécale), la naissance par césarienne favorise les interactions avec les bactéries de l'environnement (air, personnel hospitalier). Les nourrissons nés par césarienne ont un développement des bactéries anaérobies strictes plus tardif (*Bifidobacterium* et *Bacteroides*) (Campeotto et al., 2007).

I.3.2.2 Environnement

Les conditions d'hygiène entourant un accouchement influencent directement l'implantation de cette microflore. Ainsi la flore intestinale des nouveau-nés dans les pays en développement va différer de ceux des pays développés. En condition d'hygiène stricte, nous avons réduction de l'exposition du nourrisson à la flore de sa mère ainsi un retard de colonisation par les bactéries anaérobies strictes est constaté (Matamoros et al., 2013).

I.3.2.3 Type d'alimentation

En comparant la cinétique de la microflore intestinale de nouveau-nés nourris au lait maternel et au lait industriel, il a été montré que les genres anaérobies facultatifs (*Enterobacteriaceae*) étaient prédominants chez les enfants nourris au lait industriel tandis que les genres anaérobies stricts telles que les *Bifidobacterium* et *Bacteroides* sont très présents (flore dominante) chez les enfants nourris au lait maternel dans les premiers jours de la vie. Cependant, l'amélioration des formules de lait infantile tend à faire baisser cet écart. (Moreau et al., 1986).

I.3.2.4 Antibiothérapie

Les conséquences sur la flore totale du nourrisson ne sont pas très bien connues mais il a été montré que l'antibiothérapie pouvait entraîner une sélection des bactéries résistantes à l'antibiotique ou/et une modification de la flore de barrière (diminution de la flore anaérobie bénéfique laissant place aux bactéries anaérobies facultatives potentiellement pathogènes). Ce phénomène se retrouve soit par effet direct : chez Les nourrissons traités par antibiothérapies ou par effet indirect : chez les femmes enceintes soumises à l'antibiothérapie précédant la période de naissance de leur enfant (Langhendries, 2008).

Dès qu'une alimentation semi-solide est introduite, la différence qui existait entre les enfants nourris au sein et ceux nourris avec du lait industriel pour nourrisson s'estompe (Stark et Lee, 1982).

L'équilibre de la flore intestinale est atteint au bout de la 2ème ou 3ème année de la vie et dès que l'alimentation devient variée, elle se rapproche de celle de l'adulte. (Stark et Lee, 1982).

I.3.3 Adulte / Composition de la microflore intestinal

Le microbiote n'est pas distribuée de façon homogène, sa composition varie tout au long du tractus et se densifie de l'intestin grêle au côlon (Figure 4).

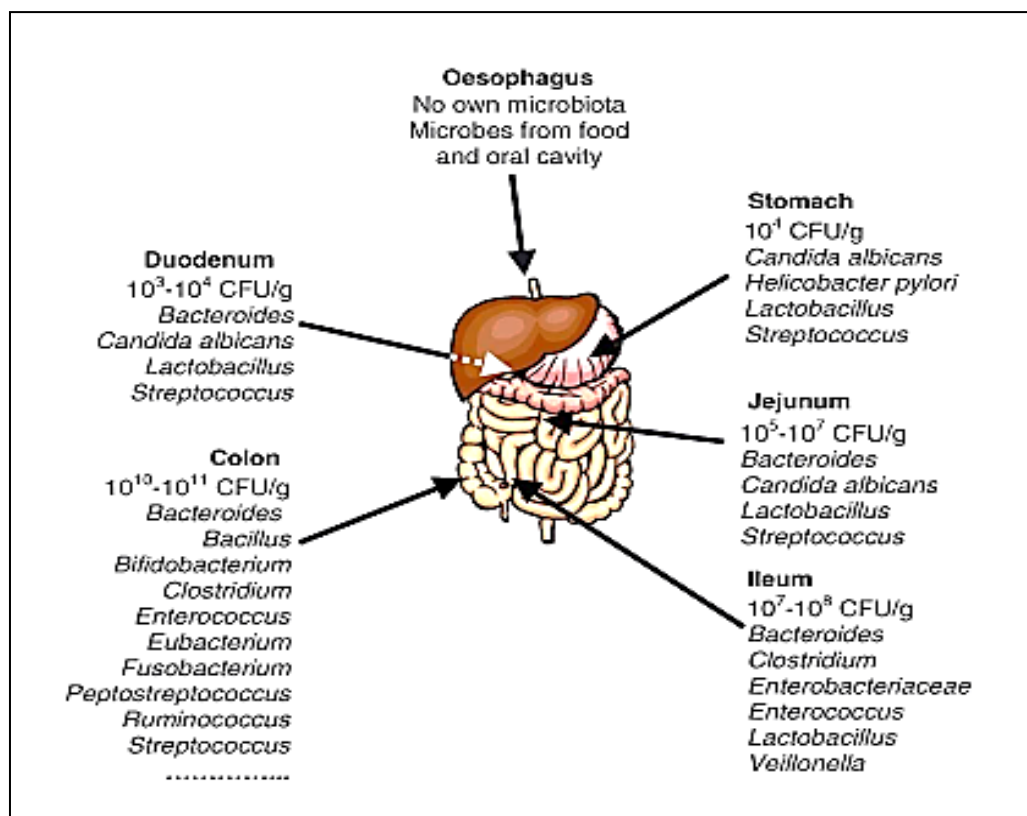


Figure 04 . Répartition bactérienne dominante (Isolauri et al., 2004).

L'estomac héberge peu de bactéries (10^1 à 10^3 UFC/g de contenu) en raison de l'environnement acide empêchant la survie de ces dernières. Au niveau des segments de l'intestin grêle, nous retrouvons 10^4 à 10^7 UFC/g. En effet le transit intestinal étant relativement rapide dans ces régions, les micro-organismes n'ont pas le temps de s'y implanter. C'est au niveau du côlon qu'on retrouve la plus forte concentration bactérienne (10^{10} à 10^{11} UFC/g) car le transit y est fortement ralenti permettant la colonisation du milieu par les micro-organismes mais aussi un potentiel redox bas laissant place à la multiplication des bactéries anaérobies strictes. Le côlon est la seule zone du tractus digestif qui est colonisée de façon permanente par une flore résidente. (Service médico-scientifique Pileje, Le microbiote intestinal dans tous ses états, tiré à part documentation Pileje), (Goulet, 2009).

La recherche traditionnelle de micro-organismes par la culture *in vitro* est aujourd'hui délaissée car seulement 30 % du microbiote intestinal est cultivable (Moore et Holdeman, 1974).

Les outils moléculaires ont permis une meilleure caractérisation de cette flore et permettent de dire que 80% des espèces bactériennes dominantes dans le microbiote fécale sont spécifiques de cet individu.

L'analyse des genres bactériens ou des groupes phylogénétiques permettent cependant d'identifier des groupes dominants chez tous les individus.

L'étude de la flore intestinale direct chez l'Homme est difficile, c'est pourquoi la flore fécale a été la plus étudiée pour essayer de caractériser dans son ensemble cette flore intestinale mais elle ne reste qu'informatrice. Cette flore fécale est caractérisée par une flore dominante anaérobie stricte et une flore sous-dominante aéro-anaérobie facultative. Parmi cette flore, 3 *phyla* dominants ressortent : *Firmicutes*, *Bacteroidetes* et *Actinobacteria* et 1 *phylum* sous-dominant, les *Proteobacteria*. Leurs différentes caractéristiques sont les suivantes :

I.3.3.1 Firmicutes

(Gram positif) est toujours fortement représenté (14 à 31 % des bactéries totales).

Il est composé de 6 genres bactériens :

- **Clostridia** : Bacilles Gram positifs anaérobies strictes souvent sous forme sporulé et généralement mobiles via des flagelles. Il comporte de nombreux genres comme les *Clostridium* surtout présents dans le sol (*Clostridium butyricum*) mais certains sont pathogènes pour l'Homme comme *Clostridium difficile* (Kee, 2012) et *C.perfringens* (Redondo et al., 2013) qui sont responsables de nombreuses infections graves associées aux soins hospitaliers provoquant de graves diarrhées. La capacité à sporuler de *Clostridium* rend difficile son éradication du fait de sa résistance aux traitements chimiques et physiques (Setlow, 2007). Il comprend également les genres *Ruminococcus*, majoritairement présentes dans l'intestin humain (*R. flavefaciens*) et récemment certains *Ruminococcus* ont été reclassés dans un nouveau genre de la classe des *Clostridium* nommé *Blautia* (Liu et al., 2008).
- **Enterococcus spp.**: Coques Gram positives, non sporulés, aéro-anaérobies facultatives dont les 2 principales espèces sont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* chez l'Homme., Il existe des effets bénéfiques d'*Enterococcus faecium* car elle inhibe la croissance des germes pathogènes d'origine alimentaire dans l'organisme et elle est maintenant utilisée comme probiotique pour prévenir les infections intestinales (Giraffa, 2003). Mais c'est aussi un pathogène opportuniste à l'origine de nombreuses infections intestinales (Fisher et Phillips, 2009).
- **Streptococcus spp.**: Coques Gram positif, non sporulés, aéro-anaérobies facultatives. Elle rassemble un large panel de micro-organismes qui sont commensales (*Streptococcus salivarius*), saprophytes (*S.thermophilus*) et pathogènes (*S. pyogenes*). Ils sont reconnus

également pour leurs propriétés bénéfiques avec leurs utilisations en tant que probiotique (*S.thermophilus*) (Corthier, 2013).

- ***Eubacterium*** : Groupe hétérogène à bacilles Gram positifs, anaérobies strictes non sporulantes. La plupart des bactéries de ce groupe ont une croissance lente, fastidieuse et généralement non réactive aux tests biochimiques les rendant difficile à cultiver et à identifier (Downes, 2001). Elles sont retrouvées fréquemment dans la cavité buccale et intestinale (notamment *Eubacterium lentum*). Elles peuvent être responsables d'infections dentaires (*Eubacterium yurii*) mais aussi intestinales provoquant des endocardites infectieuses (*Colinsella aerofaciens*). (Corthier, 2013).
- ***Lactobacillus spp.*** : Bactéries Gram positives, aéro-anaérobies facultatives qui sont capables de convertir le lactose en acide lactique. Commensales, elles se retrouvent principalement dans le vagin et le tractus intestinal. Elles sont fréquemment utilisées en tant que probiotiques pour leur effet protecteur vis à vis des pathogènes de la flore intestinale afin de lutter par exemple contre les diarrhées chez le jeune enfant (Reinert et al., 1997).
- ***Peptostreptococcus spp.*** : Coques Gram positifs, anaérobies strictes, non sporulantes. Elles font parties de la flore commensale de l'Homme et des animaux et sont généralement associées à plusieurs types d'infections humaines liées notamment à *Peptococcus Magnus* (Bourgault et al., 1980).

I.3.3.2 Bacteroidetes

Représentés par les genres apparentés à *Bacteroides* (*Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas*). Ce sont des bacilles Gram négatifs, non sporulants et anaérobies stricts, associées parfois à des infections humaines. *Bacteroides fragilis* est le pathogène opportuniste le plus fréquent parmi les espèces du genre (Liu et al., 2003).

Dans le colon, ils sont toujours présents et partagent la dominance avec le groupe précédent (9 à 42 % des bactéries totales suivant les études).

I.3.3.3 Actinobacteria

moins systématiquement détecté en dominance mais il représente en moyenne quelques pourcents des bactéries totales. On y trouve les *Bifidobacterium* (0,7 à 10 %) : Bacilles Gram positifs, anaérobies stricts. L'espèce *Bifidobacterium bifidum* est la plus représentée dans le tractus digestif et est considérée comme un probiotique pour son maintien de l'équilibre microbien en évitant la prolifération de bactéries pathogènes (Germond et al., 2002).

I.3.3.4 Proteobacteria

Représentées par les *Enterobacteriaceae* et sont en quantité moindre dans le microbiote fécal (0,4 à 1%). Ce sont des bacilles Gram négatifs, aéro-anaérobies facultatifs, non sporulants. Elles sont commensales de l'intestin de l'Homme et des animaux et constituent la majorité de la flore digestive aérobie. Le genre est représenté à 80% par *Escherichia coli* dans l'intestin humain. Elles peuvent être pathogènes et provoquent dans la plupart du temps des diarrhées (Kurakawa et al., 2013).

I.4 . Fonctions du microbiote intestinal

Les micro-organismes exercent des effets à la fois directs dans l'intestin (par exemple du fait de leurs capacités enzymatiques), mais aussi indirects car leur présence est détectée par des Récepteurs des cellules de l'hôte qui alors adapte sa physiologie (ceci pouvant désormais s'étudier en observant les expressions de gènes de l'hôte après exposition à des micro organismes) (Doré et al., 2010).

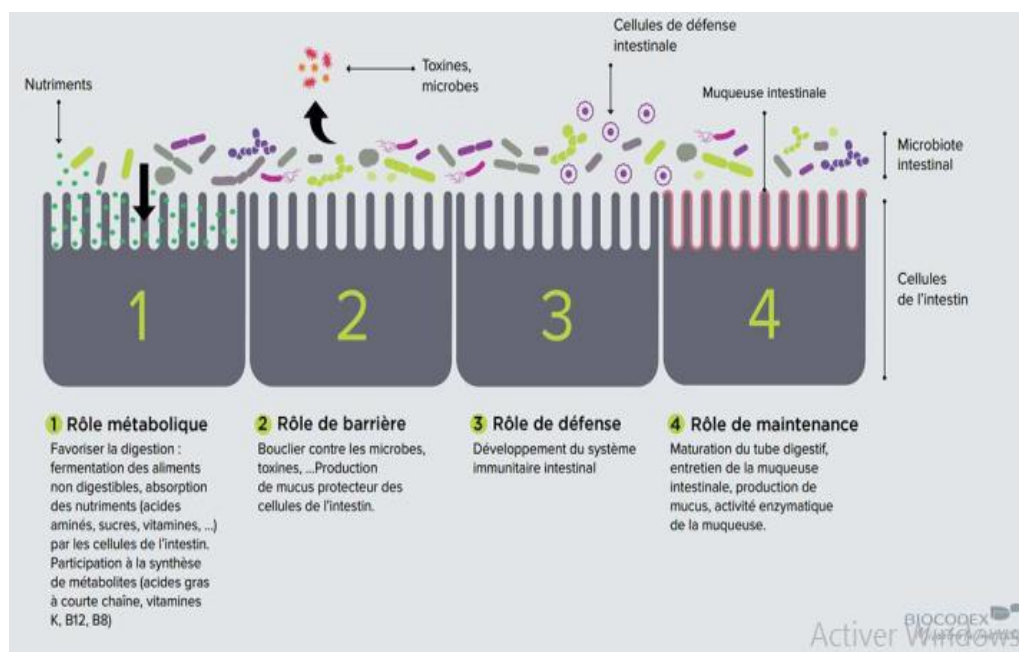


Figure 5. Rôle du microbiote intestinal

(BIOCODEX <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/intestinal>)

Les fonctions des micro-organismes sont souvent communes à des phylums ou des groupes mais peuvent aussi au contraire être parfois restreintes à des espèces, voire seulement à certaines souches. Par exemple, la production de méthane est le fait des seuls *Methanobrevibacter*. De même, seules certaines souches de *Clostridium difficile* sont

toxinosécrétrices (et alors pathogènes) et seules certaines souches de *Bifidobacterium bifidum* ou de *Saccharomyces cerevisiae* ont des propriétés probiotiques. (Marteau, 2017).

Tableau 01 . Effets et fonctions du microbiote intestinal (Marteau, 2017).

Effets et fonctions du microbiote intestinal.
Effet de barrière-défense : Exclusion compétitive Modulation des défenses innées Immunomodulation locale et systémique
Fonctions métaboliques : Synthèses Dégradations Transformations
Effets trophiques : Du système immunitaire Des cellules épithéliales
Neuromodulation : Transit intestinal Sensibilité viscérale Au niveau central (axe intestin-cerveau)

I.4.1 Effet de barrière et fonctions immunitaires

Le microbiote de l'intestin joue un rôle de barrière protectrice contre des pathogènes ingérés ou présents en quantité très faible dans l'intestin comme l'avait fait très tôt suspecter, la fréquence des infections d'origine intestinale au cours des traitements le déséquilibrant. Un excellent exemple est la fréquence des infections à *Clostridium difficile* quand une antibiothérapie altère le microbiote endogène dominant. Plusieurs mécanismes participent à cet effet :

- Exclusion compétitive de micro-organismes entre eux (en consommant les mêmes substrats, occupant les mêmes sites d'adhésion, ou sécrétant des métabolites comme des acides ou des bactériocines) ;

- Stimulation des défenses innées ou immunomodulation avec renforcement des sécrétions de défensines ou d'immunoglobulines par exemple ;

- Modulation de la sécrétion du mucus. Les cellules humaines ont en effet des récepteurs à de nombreuses molécules microbiennes (familles des toll like receptors et des nod like réceptors) qui reconnaissent des signaux microbiens des micro-organismes

pathogènes et non pathogènes et régulent les réactions inflammatoires et immunes, via entre autres la voie nuclear factor-kappa B (NFB). Des travaux expérimentaux et des études cliniques randomisées (CNGOF, 2017).

Chez l'homme ont montré que la fonction de barrière peut être renforcée par des micro-organismes exogènes thérapeutiques. Par exemple, *Saccharomyces boulardii* diminue le risque de rechute de *Clostridium difficile*.

Outre ses propriétés de barrière, le microbiote intestinal joue un rôle fondamental dans le développement et la maturation du système immunitaire. La découverte de cette fonction essentielle vient de l'observation des différences entre souris axéniques (élevés en milieu stériles et donc dépourvues de microbiote) et souris conventionnelles (élevées en animalerie classique) (CNGOF, 2017).

Les souris axéniques présentaient de nombreuses anomalies au niveau du système immunitaire intestinal : hypoplasie des plaques de Peyer, diminution des lymphocytes intra-épithéliaux, déficit en certaines populations lymphocytaires T, diminution de la sécrétion intestinale d'IgA, de la concentration d'immunoglobulines sériques et de la production de cytokines. Mais le plus intéressant est que ces anomalies ne se cantonnaient pas au système immunitaire intestinal, puisqu'on observait dans la rate et les ganglions lymphatiques des zones lymphocytaires atrophiées. Par ailleurs, quelques semaines après l'inoculation du microbiote de souris conventionnelles à ces souris axéniques, l'ensemble de ces anomalies disparaissaient. Au-delà de ces observations sur les fonctions globales du microbiote, il semble que certaines espèces bactériennes aient des propriétés spécifiques (CNGOF, 2017).

L'homéostasie intestinale est notamment sous la dépendance d'un équilibre entre les lymphocytes T effecteurs (Th17 principalement) et les lymphocytes T régulateurs (Treg). Il a récemment été montré que certaines bactéries stimulent particulièrement les populations Th17 intestinales alors que d'autres stimulent les Treg par l'intermédiaire des acides gras à chaînes courtes qu'elles produisent. Elles participent ainsi au maintien de l'homéostasie intestinale (CNGOF, 2017).

I.4.2 Fonctions métaboliques :

Les micro-organismes du microbiote peuvent exercer dans l'intestin de nombreuses fonctions de dégradations, transformations ou synthèses.

I.4.2.1 Fermentation :

La fermentation microbienne a lieu physiologiquement dans le côlon. Les fibres et substrats glucidiques complexes indigestes sont transformés en oses (sucres simples) par des bactéries saccharolytiques, puis les oses sont fermentés en acides gras à courte chaîne et en gaz (hydrogène, gaz carbonique) eux-mêmes soit transformés (par exemple en méthane), soit absorbés par la lumière colique (Figure 6) (Clin, 2010).

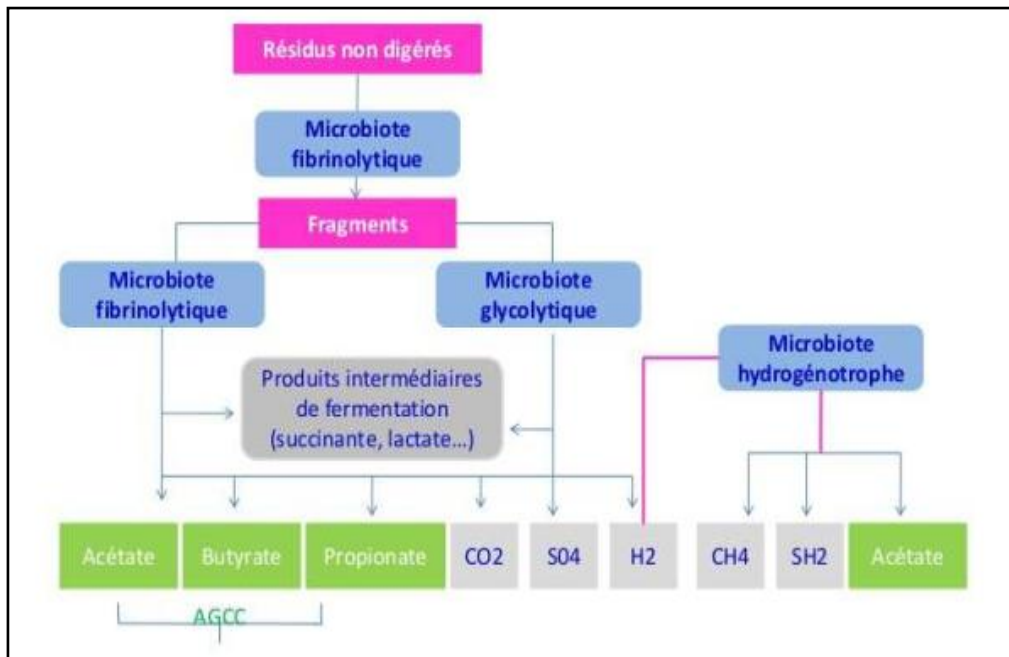


Figure 06 : Fermentation des sucres (indigestes) par le microbiote colique (Clin, 2010).

Les acides gras à courte chaîne ont des propriétés spécifiques (Tan, 2014). Par exemple, le butyrate a des effets trophiques coliques et immunomodulateurs. Le propionate absorbé module la production hépatique de cholestérol. Au total, ce processus fermentaire produit des gaz (qui peuvent en excès être malolérés) mais aussi permet un degré de récupération énergétique, de réduire la charge osmotique colique (et donc le risque de diarrhée) et de nourrir les colonocytes.

Les proportions d'acides gras à courte chaîne et gaz produits diffèrent en fonction des substrats, certains étant par exemple plus bifidogènes et plus butyrogènes que d'autres (FOS, nuline). La fermentation a lieu préférentiellement dans le côlon droit et il reste souvent peu de substrats d'origine alimentaire à fermenter dans le côlon distal, ce qui pourrait expliquer la fréquence accrue de certaines maladies comme le cancer et la rectocolite hémorragique dans le rectosigmoïde. (Tan, 2014).

I.4.2.2 Transformation des acides biliaires et divers xénobiotiques

Beaucoup de substances endogènes ou exogènes sont conjuguées dans le foie à diverses molécules hydrophiles, ce qui augmente leur amphiphilie. Les acides biliaires glyco-, tauro- ou sulfoconjugués sont plus solubles dans la bile, plus émulsifiants dans l'intestin grêle et moins absorbables à ce niveau. Leur déconjugaison (ou celle d'autres substances) par certaines bactéries du microbiote augmente leur liposolubilité, ce qui les rend beaucoup plus absorbables par la muqueuse colique et permet leur circulation entérohépatique. Ceci illustre également la fréquente situation de « cométabolismes » par le microbiote et l'hôte. (Louis,2014).

Les acides biliaires primaires sont aussi déshydroxylés en acides biliaires secondaires qui sont suspectés d'augmenter la cancérogenèse du côlon. (Louis, 2014).

La bilirubine est transformée par les bactéries en stercobilinogène, ce qui explique la couleur des selles ; en cas de diarrhémotrice, le microbiote n'a pas le temps d'effectuer cette transformation et les selles restent jaunes. (Louis,2014).

I.4.2.3 Autres

La dégradation des protéines (putréfaction) aboutit entre autres à la production d'ammoniaque. Parmi les activités de synthèse du microbiote colique, on peut citer celles des vitamines B9 et K (l'antibiothérapie est une cause de carence en vitamine K) mais aussi celles d'agonistes de l'acide gamma-a minobutyrique (GABA) (Barrett, 2012).

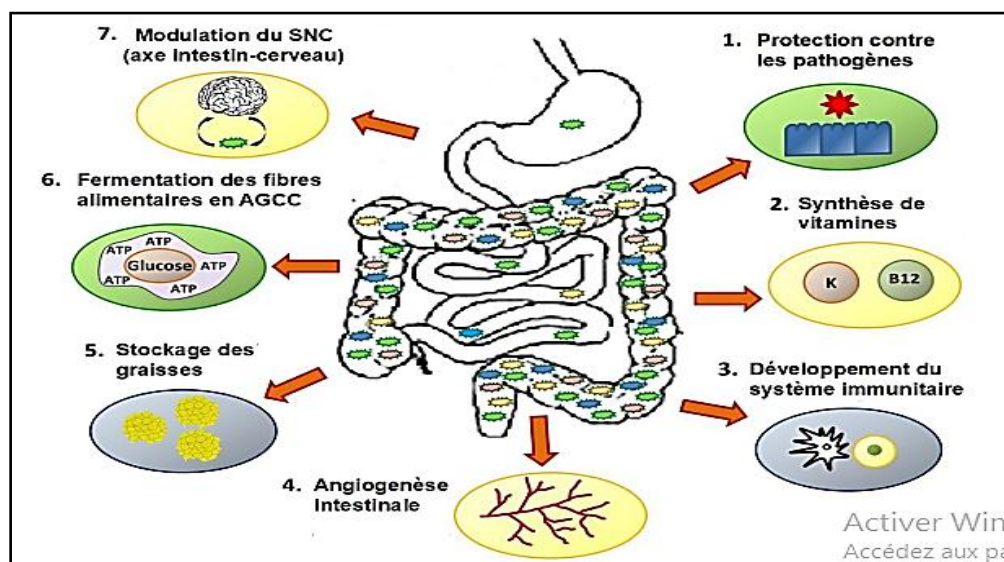


Figure 07. Différentes fonctions du microbiote intestinal (LANDMAN *et al.*, 2015).

Le microbiote intestinal agit sur notre santé en exerçant des fonctions **bénéfiques**. Cependant, si un microbiote intestinal équilibré est un signe de bonne santé (**figure 7**), il est aujourd'hui clairement établi que le microbiote intestinal joue un rôle dans certaines pathologies notamment celles du système digestif (cancer colorectal, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin) mais également dans les cas d'obésité et d'autisme (**LANDMAN et al., 2015**).

I.4.3 Effets trophiques et sur la motricité

Les animaux élevés sans germe (dans des contextes d'expérimentations) ont une paroi intestinale peu trophique, un système immunitaire local très peu développé et des troubles de la motricité. Des effets trophiques et moteurs de diverses bactéries intestinales et probiotiques ont été observés dans des conditions expérimentales y compris chez l'homme (**Marteau, 2017**).

I.4.4 Effets sur le système nerveux

De nombreuses études ont montré qu'il existe une interaction forte entre le cerveau et le microbiote intestinal (aussi appelé flore intestinale). Cet axe cerveau-intestin est impliqué dans différents troubles mentaux comme la dépression ou l'anxiété. Par ailleurs, l'addiction aux drogues est une maladie multifactorielle chronique du cerveau et un important problème de santé publique dont les seuls traitements connus à ce jour sont peu efficaces. Par ailleurs, peu de données sont aujourd'hui accessibles concernant le rôle de l'axe cerveau-intestin dans les processus associés à l'addiction aux drogues. (**Morgane, 2015**)

Le docteur Morgane BESSON de l'Institut Pasteur s'associe à deux autres équipes Pasteuriennes pour étudier dans des modèles animaux la composition du microbiote intestinal avant et après exposition à différentes drogues, en particulier la nicotine, ainsi que les modifications de perméabilités des barrières gastro-intestinale et hémato-encéphalique engendrées par ces substances. Elle examine également l'impact d'une altération du microbiote intestinal sur l'action de la nicotine dans le cerveau et sur un ensemble de processus associés à la dépendance à cette substance. Elle espère ainsi identifier les mécanismes par lesquels le microbiote intestinal pourrait influencer la vulnérabilité à l'addiction aux drogues. Cette étude, en permettant une meilleure compréhension des implications potentielles du microbiote intestinal dans les phénomènes multifactoriels d'addiction aux drogues, pourrait ouvrir la voie à de nouvelles aires thérapeutique pour combattre ce fléau. (**Morgane, 2015**)

I.5. Effect des facteurs alimentaires sur le microbiote intestinal

Lait maternel et lait infantile :La composition du lait maternel est naturellement riche en bactéries commensales (*Staphylocoques*, *Streptocoques* et *Bifidobactéries*). Les nourrissons allaités au sein présentent un microbiote riche en ces bactéries par rapport à *Escherichia coli* et *Clostridium difficile*. La composition du lait infantile est proche de celle du lait maternel mais les enfants qui se nourrissent par ce type possèdent un microbiote complexe avec la présence d'une faible quantité des Bifidobactéries et une domination des *Bacteroides*, *Clostridium* et *Staphylococcus* (**Frayssinhes, 2017**).

L'alimentation de l'adulte :La composition initiale du microbiote tend vers la disparition en fur et à mesure de la variation dans l'alimentation et la flore intestinale devient plus complexe et stable vers l'âge de 2-4 ans avec une augmentation en *Bacteroides*, *Enterocoques*, et *Streptocoques* (**Yatsunenkeno et al., 2012**).

Chapitre II:
Identification et
caractérisation du
microbiote intestinal

II.1. Méthodes culturales dépendantes :

II.1.2 Technique classique (culture sur milieux sélectifs)

Avant l'avènement des techniques moléculaires à haut débit basées sur le séquençage de gènes universels, l'étude du microbiote a été faite par la culture. L'ensemble des flores commensales a été cartographié pour aboutir à un schéma global de relation entre site et espèces présentes. Dans ce monde considéré comme fini, puisque la culture était l'outil ultime de caractérisation des flores, il est apparu que ce microbiote était sujet à variation même dans des flores considérées comme relativement simples telle la flore cutanée même si les populations majoritaires de base se sont avérées relativement stables d'un individu à l'autre (**Bousbia et al., 2012**). L'étude de flores plus complexes comme la flore digestive ont permis de commencer à faire l'inventaire des flores en présence avec là aussi des évidences sur la relation entre régime alimentaire-origine géographique et composition de la flore digestive (**Attebery et al., 1972**). À cette époque-là, la diversité du microbiote digestif était évaluée à environ 400 espèces (**Stojanovic et al., 2007**).

Avec le recul, certaines limites pouvaient déjà être émises sur ces résultats. Tout d'abord, il convient de retenir comme critique que ces études étaient pratiquées essentiellement sur les selles et donc représentaient plutôt la flore colique alors que le microbiote digestif va de la bouche à l'anus et que l'essentiel des phénomènes métaboliques, notamment l'absorption des nutriments, a lieu dans le jéjuno-iléon. Cette critique reste encore vraie de nos jours et doit relativiser les récentes études démontrant des corrélations entre maladies métaboliques (telle l'obésité) et composition du microbiote digestif étudié par métagénomique (**Ley, 2010**). L'autre limite majeure était liée au faible nombre d'espèces caractérisées et aux capacités limitées d'identification. L'arrivée de l'identification et de la caractérisation des bactéries par séquençage du gène de l'ARN16S ribosomique a ainsi été à l'origine d'une explosion du nombre d'espèces bactériennes passant de 1 791 à 8 168 en un quart de siècle (**Janda, 2007**).

II.1.2 Méthode de la Cytométrie de flux

La cytométrie en flux (CMF) est une méthode d'analyse qui permet, à grande vitesse (i.e., plusieurs milliers d'événements par seconde), de caractériser et compter des cellules (ou des particules) en suspension dans un flux liquidien. (**Zafrani et al., 2017**).

L'interaction de ces éléments avec la lumière émise par une ou plusieurs sources lumineuses (lasers en général) permet de caractériser les cellules selon différents critères tels que la taille ou la granularité, détectés grâce à la diffusion de la lumière, ou l'expression de molécules de surface (souvent nommées CD pour cluster of differentiation) généralement révélées par un composé fluorescent couplé à un anticorps monoclonal dirigé contre le CD d'intérêt. Il est également possible de détecter, après perméabilisation, des molécules intracellulaires. Ainsi, la CMF permet de mesurer individuellement (i.e., pour une cellule donnée) et simultanément plusieurs paramètres sur chaque cellule au sein d'une population hétérogène. Les éléments cellulaires doivent être en suspension pour être analysés par CMF (sang, liquide de ponction...). L'analyse de tissus cellulaires est possible, ceux-ci doivent alors être préalablement dissociés pour être mis secondairement en suspension. Pour l'analyse d'un échantillon de sang total par exemple, les globules rouges doivent être dans un premier temps lysés à l'aide d'un tampon de lyse. Les cellules sont centrifugées une première fois puis incubées avec l'anticorps d'intérêt à 4°C à l'abri de la lumière pendant une durée de 15-30 minutes. Un tampon spécifique est ajouté pour arrêter la réaction et la suspension cellulaire est centrifugée. Deux à trois lavages sont ensuite effectués avant l'analyse. Pour un marquage de surface, la durée d'expérimentation est en général d'environ 1h. Un cytomètre de flux comporte plusieurs systèmes :

- Système fluide pour introduire, canaliser les cellules et les amener au niveau du laser. Les cellules en suspension sont introduites dans une veine liquide sous pression (liquide de gaine) qui aura pour effet d'aligner et espacer les cellules en vue de l'analyse
- Système optique qui se compose de lasers et de filtres pour exciter, détecter et amplifier les différents signaux émis (miroirs dichroïques, photomultiplicateurs) ;
un système électronique pour convertir les signaux optiques (photons) en des signaux électroniques (volts).

Les signaux sont ainsi récoltés par des photomultiplicateurs, afin d'être amplifiés, numérisés et stockés dans un ordinateur ;

- Système informatique pour visualiser ces signaux.

Le principe général est schématisé sur la Figure 8. La longueur d'onde d'un laser permet d'exciter 4 à 5 fluorochromes qui auront des spectres d'émission différents. En général, les cytomètres disposent de trois lasers ce qui offre, en plus de l'information sur la taille et la granularité, la possibilité d'obtenir simultanément une dizaine de paramètres pour une cellule donnée. (Zafrani et al., 2017).

Il est à noter que certains cytomètres dédiés à la recherche possèdent une dizaine de lasers et permettent l'analyse simultanée de plus de 30 paramètres. Afin de limiter l'inconvénient des chevauchements de spectres optiques issus de multiples sources lumineuses, de nouvelles approches par cytométrie de masse ont émergé. Les anticorps de détection sont alors couplés à un métal (isotopes de transition naturellement absents dans les produits biologiques). Les cellules sont analysées dans un flux liquidien identique à la CMF mais la révélation des marquages se fait par spectrométrie (**Zafrani et al., 2017**).

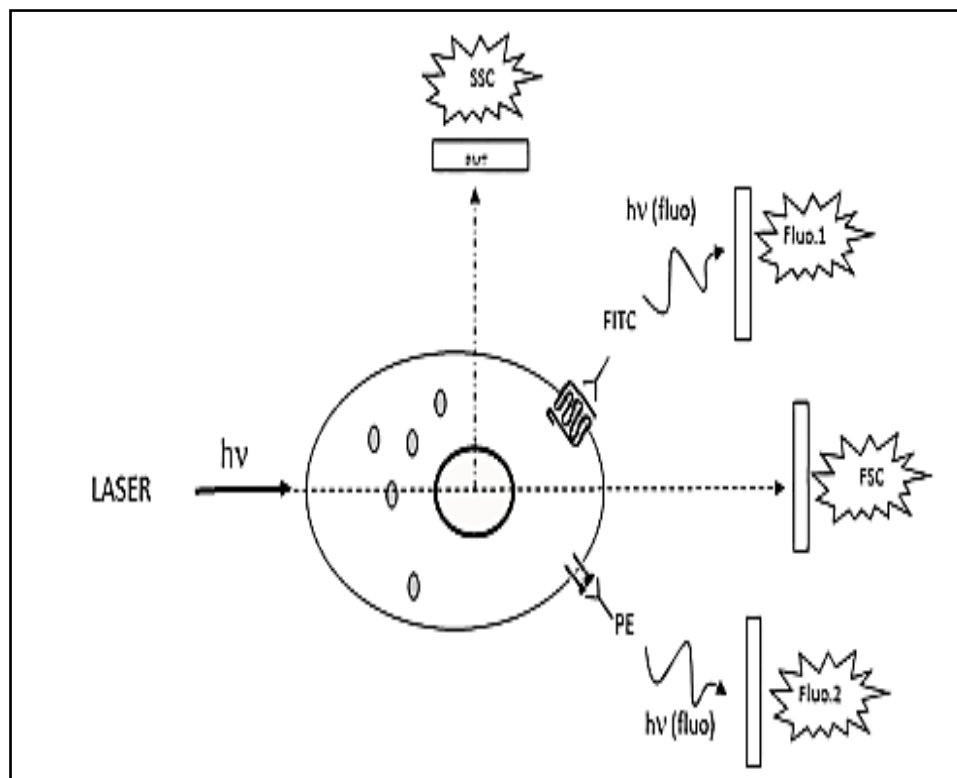


Figure 08. Principe général de la cytométrie en flux.

Les cellules en suspension dans un flux liquidien passent une à une dans un faisceau laser. La diffusion physique de la lumière émise par la source lumineuse est dépendante de la taille et de la granularité cellulaire (contenu en granule, structure plus ou moins segmentée du noyau). Stimulation, pas de détection de TNF). $h\nu$ représente l'énergie du photon (en Joules) où h est la constante de Planck et ν la fréquence de l'onde électromagnétique associée au photon considéré. PMT : photomultiplicateur (**Zafrani et al., 2017**).

II.2. Méthodes cultura les indépendantes

Il existe une réelle diversité bactérienne autant quantitative que qualitative au niveau du système digestif. L'étude de cette diversité n'est pas simple et les techniques classiques de mise en culture ne permettent pas la mise en évidence de la totalité des espèces présentes. On estime que 60% de la microflore colique dominante de l'homme n'est pas cultivable (**CINQUIN, 2005**).

Ces dernières années, avec le développement de nouvelles techniques de biologie moléculaire, la représentation du microbiote intestinal devient de plus en plus proche de la réalité. Ceci a bien évidemment un coût. Ces nouvelles techniques d'identification sont basées sur la séquence de gènes et non plus seulement sur des caractéristiques morphologiques et métaboliques telles que sont la coloration de Gram, la fermentation des sucres ou encore la présence d'enzymes spécifiques. (**CINQUIN, 2005**).

II.2.1 Métagénomique

La métagénomique consiste à analyser l'ADN génomique d'une communauté microbienne dans son ensemble. En d'autres mots, c'est une approche basée sur l'isolation directe de l'intégralité des acides nucléiques présents dans un échantillon prélevé dans un environnement donné, et ceci sans aucun isolement ou culture de microorganismes au préalable (**Handelsman, 2004 ; Simon & Daniel, 2011**). Le préfixe « méta » qui en grec veut dire littéralement « au-delà », induit une distinction majeure entre les termes « métagénomique » et « génomique », ce dernier représentant l'étude de l'ADN génomique issu d'un seul microorganisme ou d'une cellule unique (**Gilbert & Dupont, 2011**).

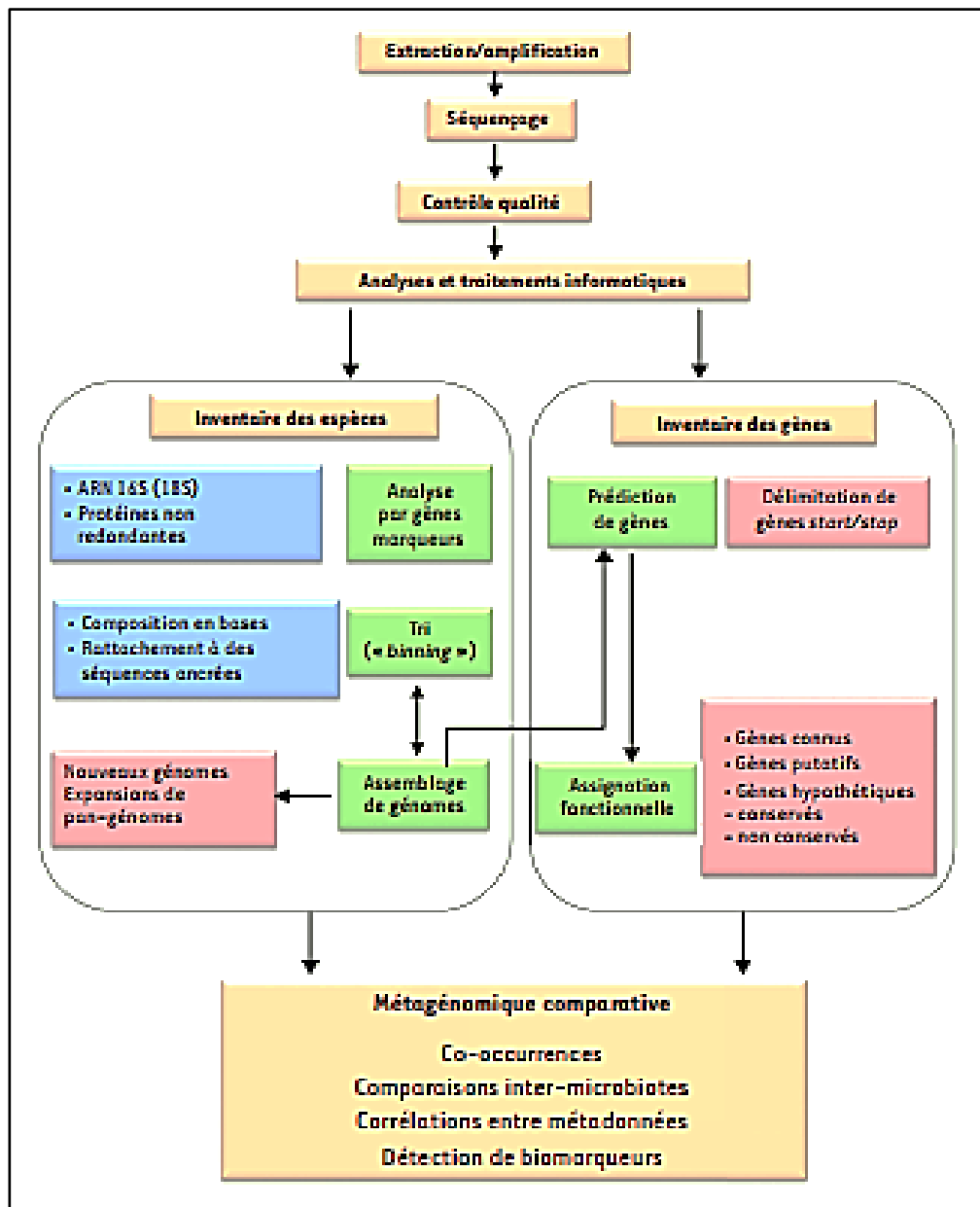


Figure 09. Analyse métagénomique de microbiote (Jean Weissenbach, 2016).

Dans un premier temps le microbiote d'intérêt est soumis à une extraction de l'ADN. L'ADN métagénomique obtenu peut être soumis à une étape d'amplification, pour augmenter les quantités disponibles. Il est ensuite séquencé par une méthode de nouvelle génération (en général). Les lectures obtenues sont souvent de taille très courte (100 pb, paires de bases). Les données brutes obtenues sont alors examinées par des procédures de contrôle qualité puis traitées à l'aide de logiciels capables de produire différents types d'analyses visant à déterminer le contenu en espèce (analyse taxonomique) ou en gènes (analyse fonctionnelle). Les principaux logiciels d'analyse taxonomique vont identifier les fragments d'intérêt et les comparer à des collections de séquences de référence.

Les gènes de références utilisés sont principalement et très majoritairement les gènes qui encodent les ARN ribosomiques qui permettent une assignation à une espèce, un genre ou un phylum. Si on souhaite une analyse plus fine, on inclut des comparaisons à des gènes marqueurs présents en simple copie par cellule (par exemple ceux codant les protéines ribosomiques) ou qui sont spécifiques d'un groupe phylétique (c'est-à-dire spécifiques des espèces d'un même phylum). On peut allonger la longueur des fragments d'intérêt sélectionnés en procédant à l'assemblage des lectures correspondantes (**Jean Weissenbach, 2016**).

Ces analyses débouchent sur l'identification des séquences de référence phylogéné-tiquement les plus proches. Elles peuvent être complétées par le positionnement des séquences analysées dans un arbre phylogénétique. Cette première analyse donne une idée sur l'identité et le groupe taxonomique de la séquence considérée. Une idée plus précise de l'appartenance à un groupe taxonomique peut être fournie par le « *binning* », un tri souvent basé sur la composition nucléotidique des fragments analysés. Il existe aussi des méthodes de tri qui utilisent d'autres stratégies. Pour augmenter la puissance des analyses, il est important de travailler avec les séquences les plus longues possibles et donc de procéder à des assemblages de séquences recouvrantes colinéaires préalablement à d'autres traitements. Mais, inversement, certains de ces traitements, comme le tri préalable, peuvent eux aussi augmenter la qualité des assemblages (**Jean Weissenbach, 2016**).

Les choix stratégiques sont donc parfois délicats. Il existe de nombreux programmes d'assemblage de métagénomes dont les performances peuvent être différentes en fonction de la nature des données utilisées. Les traitements des inventaires « fonctionnels » des métagénomes sont en général les mêmes que ceux utilisés pour les génomes. Ils se pratiquent surtout sur les séquences assemblées. Traitements généraux (en ocre). Traitements « taxonomiques » et « fonctionnels » (en vert). Méthodes ou ressources utilisées dans les traitements « taxonomiques » (en bleu). Résultats des traitements (en rouge) (**Jean Weissenbach, 2016**).

Fonctions communes. Une grande partie de celles-ci concerne le métabolisme central et intermédiaire. Mais ceci n'est pas une surprise. Un système biologique, même rudimentaire doit disposer d'un degré minimal d'autonomie pour se maintenir et se reproduire. L'obtention de ce type de résultats a mobilisé des ressources qui semblent démesurées par rapport à leur signification. Certes, sans le secours de la bio-informatique, il eut été impossible de procéder à des analyses efficaces des données de

métagénomique. Mais, même si elle fait sens, et elle le fait, la grande force de la bio-informatique reste la prédiction du prévisible (**Jean Weissenbach, 2016**).

C'est plutôt au niveau de fonctions, déjà partiellement connues, qu'on note des progrès. Ainsi a-t-il été possible d'analyser en profondeur certaines fonctions majeures du microbiote du côlon comme la digestion des polysaccharides (**El Kaoutari et al., 2014**).

De même, des résultats parlants avaient été obtenus pour des microbiotes de processus environnementaux déjà largement étudiés et relativement compris. Ceux-ci concernent, par exemple, le traitement des eaux où se produisent des étapes majeures de la minéralisation de substrats organiques dans le déroulement des cycles du carbone, de l'azote et du phosphore. De nouvelles étapes de ces cycles, comme le processus anammox (*anaerobic ammonium oxidation*) (**Jetten et al., 1998**), ou l'oxydation anaérobie du méthane (**Ettwig KF et al., 2010**), avaient été décrites ces dernières décennies et leurs acteurs microbiens en partie identifiés. Les approches moléculaires ont cependant permis d'identifier certains gènes clés jusque-là inconnus.

Après 25 ans de génomique et 15 ans de métagénomique, la fraction des gènes connus au sein d'un génome procaryote n'a guère progressé et se situe toujours autour du tiers. Pour un second tiers il est possible de proposer une fonction vraisemblable. Quant au dernier tiers, il est constitué de gènes hypothétiques, sans fonction connue, se subdivisant en gènes conservés et non conservés. Avec l'accumulation de nouvelles séquences, certains gènes hypothétiques se révèlent être conservés alors que de nouveaux gènes hypothétiques sont prédits. (**Ettwig KF et al., 2010**), Toutes ces conclusions s'appuient sur l'utilisation des banques de données de séquence qui s'enrichissent sans discontinuer mais sont fortement biaisées par une surreprésentation des séquences provenant de génomes de pathogènes dont l'essentiel se restreint, de surcroît, à 3 phylums bactériens (**Kyrpides, 2009**). On note à l'inverse une sous-représentation des espèces environnementales et plus généralement un biais en faveur des cultivables (**Lagier, 2016**).

Le séquençage a montré maintes fois que la fraction des gènes inconnus est plus élevée dans les espèces non cultivées. Comme dans toute analyse de génomes, le résultat final débouche sur une double frustration : d'une part l'empilement de plus en plus démesuré de représentants additionnels de fonctions connues, notamment les plus étudiées et les plus universellement distribuées dans le vivant et, d'autre part, l'accroissement et l'élargissement inexorables des collections de gènes codant des

fonctions inconnues. Les courbes de dénombrement de nouveaux gènes commencent cependant à tendre vers un plateau (Li J *et al.*, 2014).

II.2.2 PCR (Polymerase Chain Reaction)

II.2.2.1. Principe

La PCR est une suite de cycles, qui se répètent en boucle, comportant chacun trois paliers de température. De plus, chacun de ces paliers est caractérisé pas une réaction chimique distincte. En moyenne une PCR comporte entre 20 et 40 cycles. (Asensio, 2007).

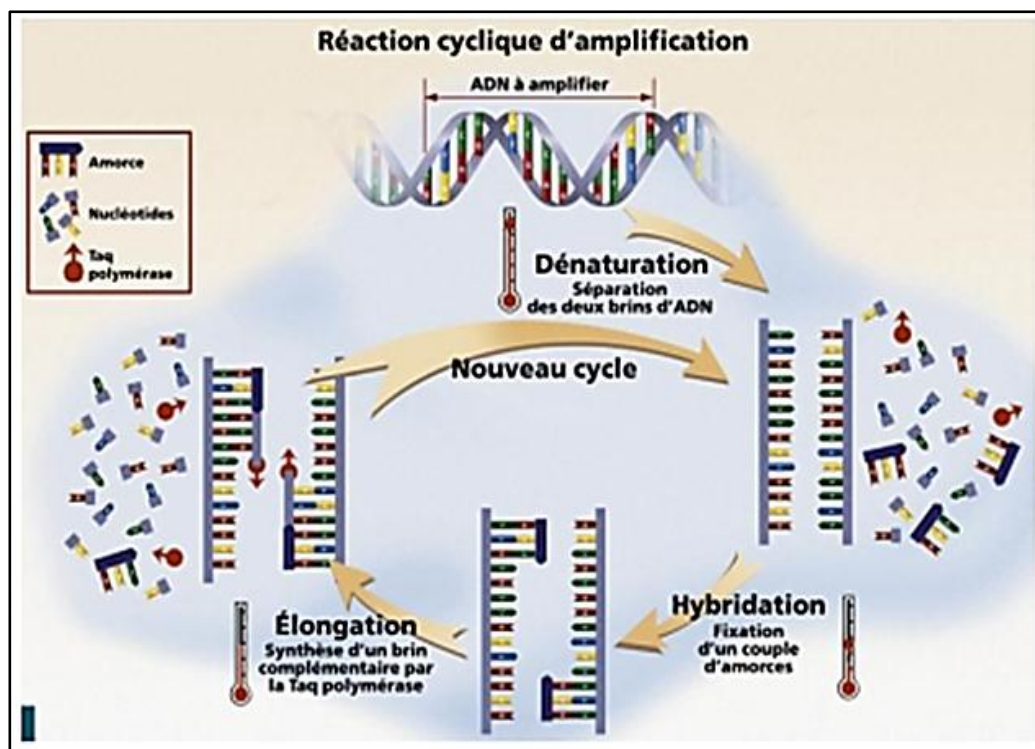


Figure 10. Protocole de la méthode PCR (Pédagogie, Gnis.2013)

La figure 10 nous représente le protocole de cette méthode. Il s'agit d'ajouter à l'ADN à amplifier des amorces spécifiques du segment d'ADN voulu, de l'ADN polymérase et un mélange des quatre désoxyribonucléotides constitutifs de l'ADN. Tous sont ajoutés en large excès par rapport à l'ADN). (Ingénierie éducative, Réseau lyonnais 2013).

II.2.2.2 Acteurs de la PCR

1. ADN_: Avant la réaction de PCR, l'ADN est extrait à partir de l'échantillon que l'on veut analyser (salive, cheveux, cellules, fossile...). Puis, cet extrait purifié en ADN, contenant le fragment d'ADN que l'on souhaite amplifier, peut être utilisé en PCR. (Asensio Gil L, 2007).

2. Deux amorces :_Ce sont des fragments courts d'ADN, capables de s'hybrider de façon spécifique, grâce à la complémentarité des bases, sur l'un des deux brins d'ADN. Les amorces sont choisies de façon à encadrer la séquence d'ADN à amplifier. La taille de ces amorces est généralement d'une vingtaine de désoxyribonucléotides. De plus, les amorces sont en très forte concentration par rapport à celle de l'ADN à amplifier. (Asensio Gil L, 2007).

3. DésoxyriboNucléotides-Tri-Phosphates (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) : Les dNTPs (Désoxyribonucléotides-Tri-Phosphates) sont des molécules de base, qui constituent l'ADN, utilisés par la Taq polymérase pour la synthèse du nouveau brin d'ADN complémentaire. (Asensio Gil, 2007).

4. Enzyme, Taq polymérase : L'enzyme utilisée est une polymérase, c'est-à-dire qu'elle peut synthétiser un nouveau brin d'ADN à partir du brin d'ADN matrice après s'être fixée à une amorce. (Asensio Gil, 2007).

5. Milieu réactionnel Le milieu réactionnel de la PCR comporte l'ADN à amplifier, les dNTPs, les deux amorces, la Taq polymérase, un tampon et des ions magnésium (MgCl₂). Ces deux derniers composants définissent un milieu avec un pH optimal et une concentration saline optimale pour le bon fonctionnement de l'enzyme. (Asensio Gil, 2007).

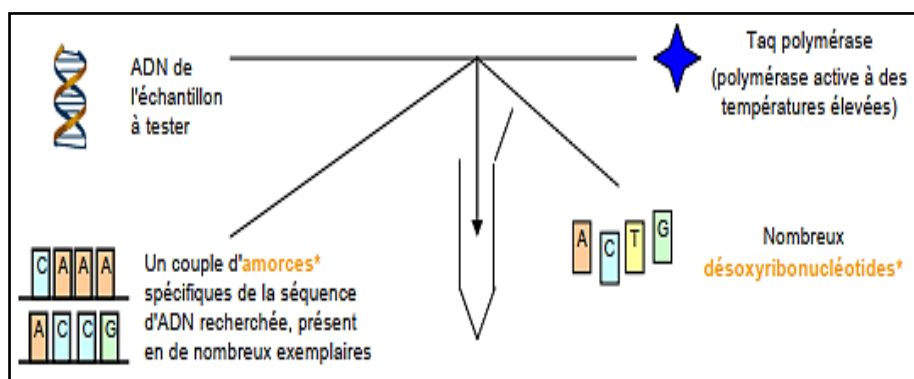


Figure 11. Acteurs de la PCR (Asensio Gil, 2007).

II.3. Comparaison culturomique-métagénomique 16S

Le plus fascinant avec les résultats obtenus en culturomique, c'est non seulement l'importance de la diversité observée, avec notamment l'isolement d'espèces jamais isolées dans le tube digestif et surtout d'espèces ou genres complètement nouveaux, mais aussi le faible recouvrement observé avec l'analyse du même microbiote par la métagénomique 16S. Dans le premier travail, 212 conditions de culture ont été utilisées et 32 500 colonies bactériennes analysées (**Lagier et al., 2012**). Par cette méthode, 340 espèces appartenant à 117 genres ont été identifiées. Parmi celles-ci, 174 espèces n'avaient jamais été décrites dans le microbiote humain, dont 31 représentaient de nouvelles espèces. L'analyse de la même selle par métagénomique 16S a permis d'identifier 698 phylotypes dont 282 espèces déjà connues mais surtout un recouvrement de seulement 51 espèces avec l'étude en culturomique. Cette étude princeps a ainsi montré pour la première fois qu'une approche culturomique devait absolument être associée à une étude métagénomique si le but est d'étudier la diversité microbienne et non pas de faire l'inventaire des populations dominantes. L'étude ultérieure réalisée sur la selle d'une patiente atteinte d'anorexie mentale a confirmé ces données (**Pfleiderer et al., 2013**). En effet, l'étude culturomique sur cette selle après avoir testé 12 700 colonies a permis d'identifier 133 espèces bactériennes dont 11 nouvelles espèces. Dans ce cas encore, le recouvrement avec l'étude en métagénomique était très faible avec seulement 23 espèces communes aux deux techniques. Ce travail montrait aussi que le déficit de la culturomique par rapport à la métagénomique portait surtout sur les bactéries anaérobies strictes.

Les travaux qui ont suivi ont confirmé les résultats de cette première étude, notamment la capacité à mieux évaluer la diversité que la métagénomique. Dans un travail réalisé sur la selle d'une patiente atteinte de tuberculose multirésistante, 70 conditions de culture ont été testées (**Dubourg et al., 2013**). Chez cette patiente, la faible diversité bactérienne était très marquée et dans ces conditions, alors que la métagénomique 16S permettait d'identifier 18 phylotypes, la culturomique a permis d'identifier 39 espèces bactériennes différentes dont à nouveau une nouvelle espèce. De façon encore plus marquée que dans le travail précédent, seulement deux espèces ont été identifiées simultanément par les deux approches.

La supériorité de l'approche culturomique pour l'évaluation de la diversité d'une flore pauvre chez des patients traités par antibiotiques au long cours a été confirmée dans le travail suivant étudiant les selles de quatre patients en utilisant 77 conditions de

cultures différentes et en analysant 32 000 colonies bactériennes différentes (Dubourg et al., 2014).

Pour deux patients, une baisse de la diversité microbienne était observée en culturomique alors qu'elle était suggérée pour les quatre par l'analyse métagénomique et à nouveau huit nouvelles espèces bactériennes ont été identifiées.

Une part de cette meilleure analyse de la diversité semblait associée, au moins pour un patient, au fait que l'espèce dominante/masquante (phylum des *Verrumicrobiae*) en métagénomique n'était pas cultivable (Dubourg et al., 2014).

II.4. Avantage et les inconvénients des techniques

Les techniques classiques de culture des bactéries ne permettent de détecter u'entre 20 et 30% des bactéries présentes. Celles qui restent sont qualifiées de non cultivables. En effet, il a été possible de séquencer et identifier tous les gènes des bactéries présentes dans l'écosystème digestif humain grâce aux techniques de PCR spécifiques sur l'ADN total des selles, et la mise au point du séquençage de l'ADN à haut débit. D'autres techniques moléculaires, culture-indépendantes, ont permis également d'identifier les espèces responsables de certaines fonctions physiologiques (Dubourg G et al., 2014).

Tableau 03 Méthodes moléculaires de l'analyse du microbiote intestinal.
(Dubourg et al., 2014).

Méthode	Description	Avantages	Inconvénients
Culture sur milieux sélectifs	Culture d'un échantillon de selles sur des milieux contenant des antibiotiques	Sensible (10^3 UFC/g selle) Permet d'obtenir la souche Sélection des gènes qui sont exprimés rapide, peu coûteux	Seulement bactéries cultivables pas d'identification directe du gène : typage additionnel nécessaire (PCR, clonage)
PCR sur ADN des selles	PCR spécifiques sur l'ADN total des selles	Sensible Identification direct du gène Permet de cibler des bactéries non cultivables Rapide, peu coûteux	Ne donne pas la bactérie hôte Ne trouve que gènes ciblés par les amorces Problème des inhibiteurs de PCR dans les selles Non fonctionnel : ne renseigne pas sur l'expression du gène
Métagénomique	Séquençage de l'ADN total des selles par méthode de séquençage haut-débit, et identification des gènes par analogie avec les gènes connus	Quantité de données immense Permet de cibler des bactéries non cultivables Identification directe du gène (déjà séquencé) Permet d'apprécier la diversité des gènes Permet de découvrir de nouveaux gènes Peu renseigner sur la bactérie hôte	Peu sensible ($>10^5$ UFC/g selle) Séquences par fois non complètes Ne renseigne pas sur l'expression du gène ni sur son spectre d'activité Ne trouve que des gènes proches de ceux déjà connus (analogie séquence) Nécessité expertise bioinformatique
Métagénomique fonctionnelle	Clonage massif de l'ADN total des selles dans un vecteur (<i>Escherichia coli</i>) et sélection sur milieux contenant des antibiotiques	Détecte des nouveaux gènes de résistance Obtention du phénotype de résistance (chez <i>Escherichia coli</i>) Permet de cibler des bactéries non cultivables Permet d'apprécier la diversité des gènes	Technique très lourde Le gène doit conférer par lui-même la résistance Clonage uniquement chez <i>Escherichia coli</i> pour le moment Sensibilité ?

Chapitre III :
Intérêt de microbiote
intestinal dans le système
immunitaire

III.1 Généralités sur le système immunitaire

Le système immunitaire est la seule chose qui se dresse entre nous et une mer de prédateurs microbiens. Notre monde est rempli de micro-organismes invisibles qui trouvent le corps humain un endroit délicieux pour vivre et élever une famille. Notre intérieur est non seulement libre de loyer, mais chauds, humides, pleins de nutriments, et à l'abri des intempéries. C'est le travail du système immunitaire de s'assurer que cette invasion n'arrive pas. Oh, nous laissons entrer quelques microbes que nous mettons à travail nous aidant à digérer les aliments ou à traiter les vitamines, mais la vaste majorité des microbes potentiellement pathogènes (pathogènes) les bactéries, les virus, les moisissures et quelques parasites sont tenus à distance. Et ce même système serait également notre seule défense au début heures d'une attaque biologique, qui pourrait employer ces mêmes microbes. La fonction principale du système immunitaire est de faire face aux envahisseurs étrangers, qu'il s'agisse de particules ou d'organismes vivants. D'où la clé de l'immunité le bon fonctionnement du système est sa capacité à faire la distinction entre « soi » et "pas soi." Une fois qu'un agent étranger est identifié, le corps est alors en mesure de monter un y répondre Un antigène est, d'une manière générale, tout agent étranger qui peut être reconnu par le système immunitaire de l'organisme. Si le système immunitaire est alors capable de monter une réponse active à celui-ci, l'agent est également dit être immunogène. . (Clark, 2008)

les antigènes ne sont pas nécessairement immunogènes, et les antigènes n'ont pas besoin proviennent nécessairement de l'extérieur du corps. Des divergences comme celles-ci se situent au racine de nombreuses maladies du système immunitaire. Avec de grosses tumeurs, par exemple, le système immunitaire est souvent inefficace pour contrôler la maladie, peut-être parce que les cellules tumorales ne sont pas correctement reconnues comme antigènes. À envisager questions comme celle-ci, il est d'abord nécessaire de comprendre certains des mécanismes de base du système immunitaire Il existe essentiellement deux façons différentes pour le système immunitaire de répondre à infection, même si, comme nous le verrons, ils sont étroitement liés. Les deux systèmes de réponse impliquent l'utilisation de cellules spécialisées appelées lymphocytes qui se trouvent principalement Dans le sang. Le premier type de réponse est connu sous le nom d'immunité humorale et est effectué au moyen de facteurs appelés anticorps qui sont sécrétés dans le les fluides corporels (ou « humeurs »). Les anticorps sont produits par une classe de lymphocytes appelés lymphocytes B ou cellules B parce qu'ils se

développent dans la moelle osseuse, ou bourse. Le deuxième type de réponse du système immunitaire est appelé immunité cellulaire. Ce type de réponse est facilité par les lymphocytes T, ou plus simplement les lymphocytes T, ainsi appelées parce qu'elles se développent dans le thymus. En plus des cellules B et T spécialisées, il existe également un ensemble de lymphocytes dont les fonctions sont parfois collectivement appelées « immunité naturelle » bien qu'elles fonctionnent intégralement avec les autres lymphocytes. Ces cellules comprennent les macrophages, qui sont de grandes cellules « charognardes » et des cellules tueuses naturelles, qui ciblent la tumeur cellulaire et microbes infectieux (**Clark, 2008**).

Le corps humain serait un endroit favorable au développement des micro-organismes comme les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Le corps est chaud, humide et plein de nutriments dont les microbes ont besoin pour survivre et se reproduire. Comparez cela avec d'autres endroits où les microbes sont connus pour vivre : faire bouillir des vents de soufre au fond de la mer, par exemple, ou sous le toundra arctique gelée. Mais ne vous attendez pas à la gratitude des microbes qui ont élu domicile dans votre corps. La grande majorité d'entre eux franchement ne vous souciez pas de ce qui vous arrive. Certains d'entre eux peuvent faire tu es très malade. Certains peuvent vous tuer. Et cela pourrait interférer avec le plan de la nature pour vous : survivre et reproduire votre propre espèce (**Clark, 2008**).

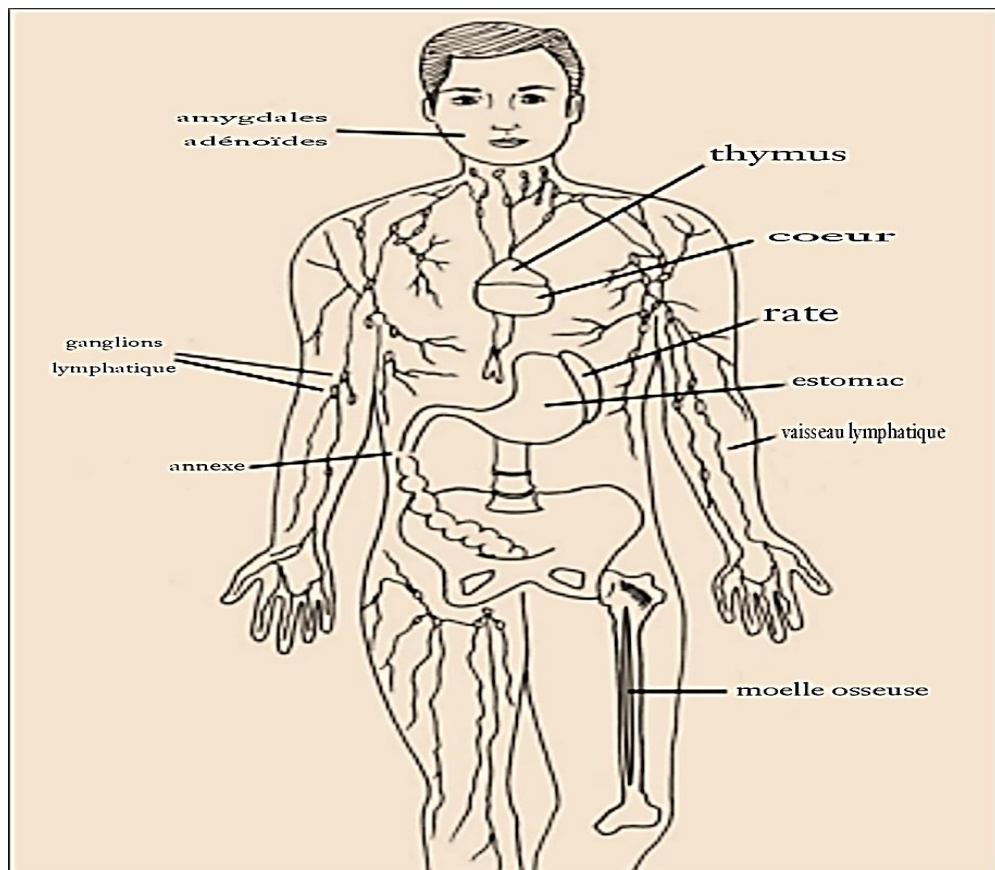


Figure 12. Système immunitaire humain. (Clark WR., W., 2008)

III.1.1 Système immunitaire inné et système immunitaire adaptatif

III.1.1.1 Système immunitaire inné

Le corps est protégé des agressions extérieures par de multiples barrières externes et internes qui communiquent et se complètent. Les barrières physiques telles que la peau empêchent efficacement la poussière, la plupart des micro-organismes et certains produits chimiques de pénétrer dans le corps. Au niveau muqueux, qui constitue la zone d'échange et de passage vers l'extérieur, on rencontre également des fluides antiseptiques, comme la salive ou le mucus intestinal. Cette protection est particulièrement efficace au niveau de l'oropharynx (porte d'entrée des aliments et de l'air) et de la région urogénitale. Dans l'intestin, un grand nombre de bactéries commensales séjournent et se multiplient, assurant une barrière supplémentaire contre l'invasion de micro-organismes pathogènes par compétition (KettySchwartz.2012).

Que ce soit au niveau de la peau ou des muqueuses, les cellules immunitaires (c'est-à-dire les cellules dendritiques et les macrophages) assurent la surveillance et sont capables de détecter les éléments étrangers et de les ingérer (phénomène appelé

phagocytose) pour les détruire et les présenter au système immunitaire sexuel d'adaptation. Cette phagocytose est souvent aidée par divers produits comme le complément, un groupe de protéines qui encapsulent les micro-organismes et activent les cellules phagocytaires. Cette activation se traduit par la sécrétion de diverses substances solubles (messagers) avec des propriétés qui attirent d'autres cellules comme activateurs. Les phagocytes activés peuvent alors migrer vers des organes spécifiques, tels que les ganglions, où une réponse immunitaire adaptative se produit (**KettySchwartz., 2012**).

III.1.2.1 Système immunitaire adaptatif

Au cours de l'évolution, un système immunitaire alternatif a émergé qui est plus adaptatif aux envahisseurs et complète efficacement la réponse innée, appelée système immunitaire adaptatif. Ce système adaptatif impliquant les lymphocytes B et T est plus lent à se mettre en place, mais il est très spécifique et capable de s'adapter à la nature des pathogènes. Il a également une fonction de mémoire.

Cette mémoire est aussi la raison pour laquelle il y a certaines maladies que vous ne pouvez attraper qu'une seule fois dans votre vie, car ensuite votre corps devient « immunisé ». Cela peut prendre quelques jours pour que le système immunitaire adaptatif réagisse la première fois qu'il entre en contact avec le germe, mais la prochaine fois, le corps peut réagir immédiatement. La deuxième infection n'est alors généralement même pas remarquée, ou est du moins plus bénigne (**Brandes et al., 2019**).

III.1.2.2 Système immunitaire et ses acteurs

III.1.2.2.1 Marqueurs de soi

Toutes les cellules du corps portent à leur surface des marqueurs moléculaires qui leur permettent d'être identifiées comme "soi" par les cellules du système immunitaire. L'auto-marquage les plus importantes molécules sont codées par un groupe de gènes contenus dans une section d'un chromosome connu sous le nom de complexe majeur d'histocompatibilité ou CMH. Il y a un groupe de protéines dans le CMH qui sont portées par presque toutes les cellules du corps, appelés antigènes du CMH de classe I, qui sont altérés lorsque la cellule est infectée par un virus ou cancer. Ces molécules servent à alerter les lymphocytes T tueurs de la présence de cellules malignes du corps. Un deuxième groupe de protéines du CMH, les antigènes de classe II, sont trouvés uniquement sur les cellules B, les macrophages et d'autres cellules responsables de la présentation antigène étrangère aux lymphocytes T auxiliaires. Les protéines du CMH de

classe II se combinent avec des particules d'antigène étranger et, par la forme résultante, dirige les actions des lymphocytes T (Jeanne *et al.*, 2002).

III.1.2.2 Immunité Humorale : Lymphocytes B

Chaque lymphocyte B est génétiquement "programmé" pour produire un seul anticorps avec une forme moléculaire spécifique. Lorsqu'une cellule B rencontre un antigène spécifique dans le sang, la forme de l'anticorps lui permet de se lier à cet antigène spécifique. Pour ce faire, chaque cellule B porte un "prototype" d'anticorps incrusté à sa surface. Confrontées à l'antigène correspondant, les cellules B prolifèrent et se différencient, produisant des plasmocytes sécrétant activement des formes solubles d'anticorps. Les anticorps peuvent agir de plusieurs manières différentes, selon la forme d'antigène à laquelle ils réagissent (Jeanne *et al.*, 2002).

Certaines fonctions incluent :

- ✓ S'emboîtant directement avec des produits chimiques toxiques ou des toxines produites par un organisme pour les neutraliser
- ✓ Enrober (opsoniser) les cellules pour les rendre plus agréables au goût pour les cellules charognardes
- ✓ Soit signaler leur présence aux lymphocytes « tueurs » (ce dernier est un processus
- ✓ Connue sous le nom de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps ou ADCC.)
- ✓ Liaison avec l'antigène pour sécréter un groupe mortel d'enzymes appelé complément
- ✓ empêcher les virus de pénétrer dans les cellules
- ✓ empêcher une cellule (habituellement une cellule virale) de se reproduire; cette fonction
- ✓ semble agir contre les cellules tumorales subissant des métastases.

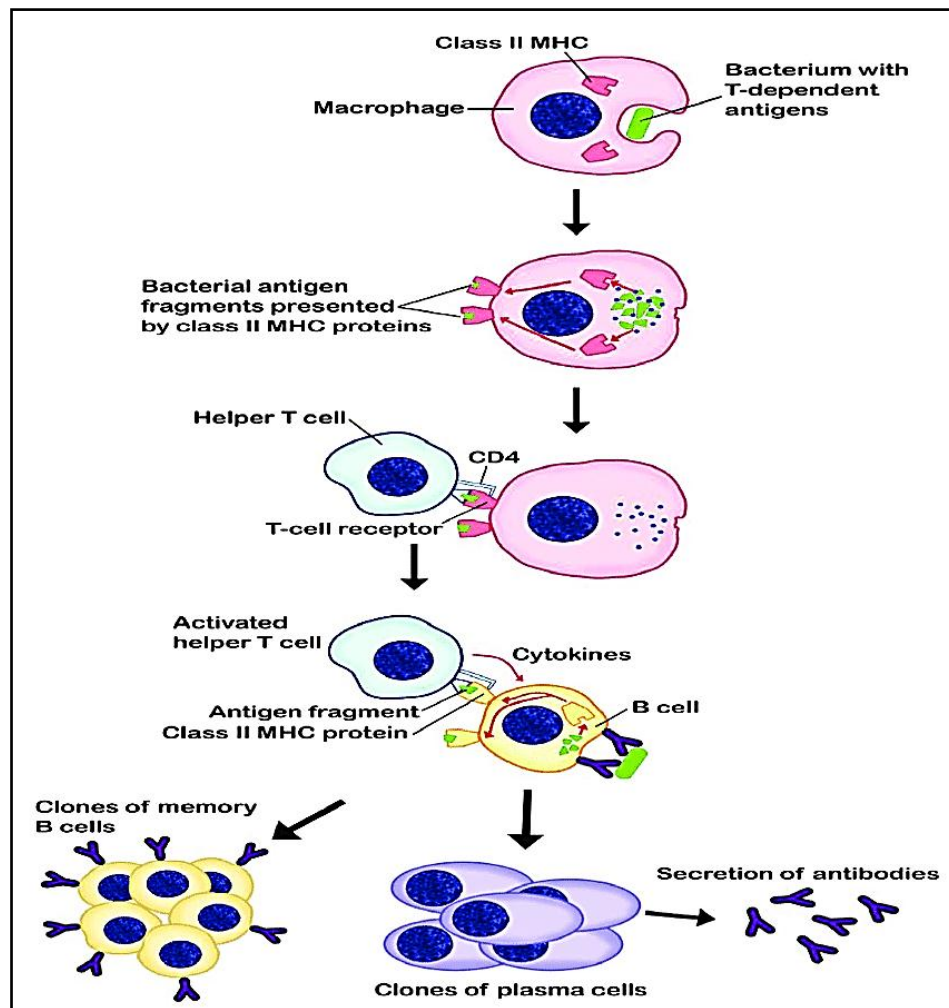


Figure 13. Mécanisme d'activation et de maturation des lymphocytes B par les lymphocytes T auxiliaires (Th) a entraîné la formation de plasmocytes sécrétant des anticorps spécifiques et de lymphocytes B mémoire capables de se souvenir de l'infection. (Firdaus et al., 2016)

III.1.2.3 Immunité cellulaire : Lymphocytes T

Les cellules T ont plusieurs fonctions différentes. Il existe actuellement quatre types de lymphocytes T reconnus, divisés en deux catégories : les lymphocytes T régulateurs, qui aident à coordonner les réponses cellulaires ; et les lymphocytes T cytotoxiques, qui attaquent le corps des cellules infectées (virus) ou malignes (cancer). Les cellules T fonctionnent principalement en sécrétant des enzymes appelées cytokines ou, plus précisément, des lymphokines (car elles sont produites par les lymphocytes). Comme les anticorps, les lymphokines jouent différents rôles. Beaucoup sont des toxines qui attaquent directement les cellules infectées. L'une de ces enzymes, appelée facteur de nécrose tumorale, pourrait jouer un rôle important dans la rémission du cancer. D'autres lymphokines, y compris une lymphokine importante appelée interféron, incitent les macrophages à englober les cellules tumorales et virales et à produire leurs propres

cytokines. (Jeanne *et al.*, 2002) D'autres encore promeuvent la production ou maturation de lymphocytes T supplémentaires ou diriger les lymphocytes B pour produire des anticorps. Le type le plus important de lymphocytes T régulateurs est connu sous le nom d'assistant/inducteur cellules, parfois abrégées TH -cellules. Ceux-ci sont responsables de l'activation des cellules B ainsi que des cellules tueuses naturelles et des macrophages à proximité. Les lymphocytes T auxiliaires transportent le marqueur moléculaire T4, qui permet à la cellule T d'identifier des antigènes étrangers dans la molécule du CMH de classe II portée par les macrophages et certaines cellules B.

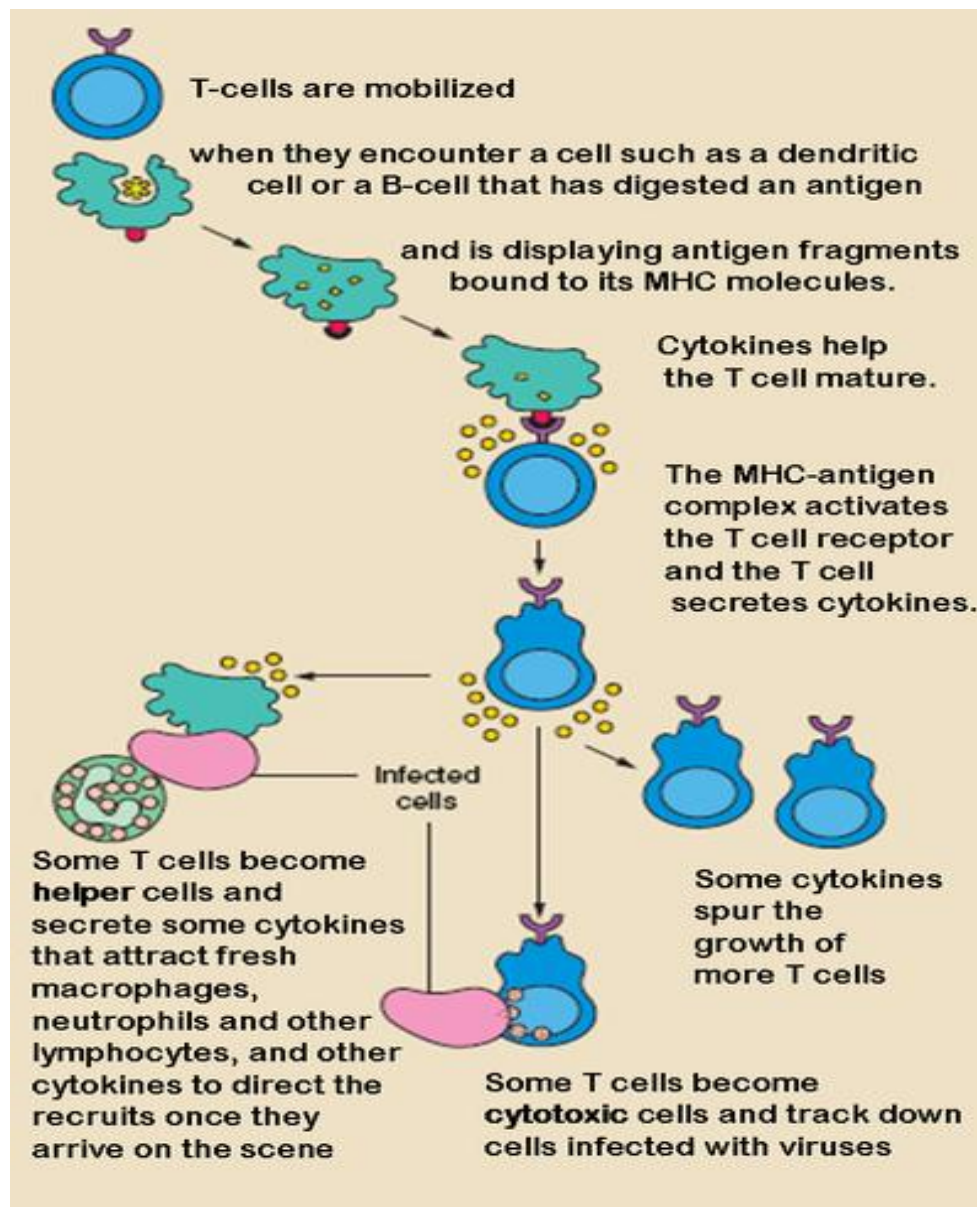


Figure 14. Activation des lymphocytes T. (Alliya , 2022)

Une fois la cellule T auxiliaire reconnaît un antigène étranger spécifique, elle libère des lymphokines qui activent les lymphocytes B pour produire l'anticorps correspondant.

Un autre type de lymphocyte T est connu sous le nom de cellules suppressives. Comme le nom l'indique, les cellules suppressives agissent pour désactiver ou "supprimer" les actions des lymphocytes T. Les cellules suppressives sont parfois abrégées TS. Les lymphocytes T cytotoxiques sont un type de « cellule tueuse » qui, en plus d'attaquer les cellules malignes, sont également responsables du rejet des greffes de tissus ou d'organes. Car ils portent le marqueur cellulaire moléculaire T8, les lymphocytes T cytotoxiques sont parfois appelés Cellules T8, Bien que ce dernier terme définisse en fait le mécanisme de reconnaissance d'une cellule plutôt que sa fonction (**Jeanne et al., 2002**).

Les molécules T8 "s'adaptent" aux molécules du CMH de classe I qui ont été altérées par l'infection, permettant aux lymphocytes T tueurs de reconnaître et d'attaquer les virus et les cellules tumorales. Les lymphocytes T cytotoxiques peuvent être abrégés en TC. Comme les lymphocytes B, les lymphocytes T sont activés par contact avec des antigènes spécifiques. Contrairement aux cellules B, cependant, les cellules T ne peuvent pas répondre de manière autonome à des facteurs étrangers. Ils doivent être "présentés" aux molécules antigéniques par les lymphocytes B ou les macrophages. Les lymphocytes T tueurs, quant à eux, reconnaissent les cellules du corps qui ont été infectées par un virus ou un cancer (**Jeanne et al., 2002**).

III.1.2.4 Interactions cellulaires

Comme nous l'avons déjà vu, les cellules du système immunitaire interagissent les unes avec les autres de diverses manières pour gérer différents types de menaces. Voici un résumé étape par étape de ce qui peut arriver lorsque le système immunitaire rencontre un antigène.

❖ Détection d'antigène :

- Les antigènes flottent librement dans le liquide corporel ou sont exprimés sous la forme d'une partie d'une cellule infectée. Dans le premier cas, les molécules antigéniques sont rencontrées par des lymphocytes B « programmés » pour cette molécule.
- Les antigènes peuvent également être engloutis par des macrophages errants, qui digèrent l'antigène et en incorporent des fragments dans leurs marqueurs du CMH de classe II, pour être « présentés » aux lymphocytes T auxiliaires. Cette tâche peut également être effectuée par les lymphocytes B.

- Les cellules infectées ou malignes sont antigéniques aux lymphocytes T cytotoxiques via leur marqueur CMH de classe I ; ces lymphocytes peuvent détecter de telles cellules sans avoir besoin d'intermédiaires.
- Les cellules tueuses naturelles utilisent des mécanismes encore inconnus pour distinguer "bonnes" cellules des "mauvaises".

. Réponses

- Les lymphocytes B activés prolifèrent et se diversifient en plasmocytes, qui sécrètent des anticorps. L'anticorps peut affecter directement un agent étranger en l'empoisonnant ou en inhibant sa croissance, ou l'agent étranger peut être recouvert d'anticorps (un processus connu sous le nom d'opsonisation) pour le rendre plus agréable au goût pour les macrophages et autres « mangeurs ».
- Les macrophages qui ont ingéré un antigène présentent des fragments d'if aux lymphocytes T auxiliaires. Les cellules auxiliaires libèrent ensuite des lymphokines qui activent les cellules B appropriées pour produire des anticorps. D'autres lymphokines activent les lymphocytes T tueurs, les cellules tueuses naturelles et les macrophages.
- Les lymphocytes T cytotoxiques qui ont rencontré des cellules malignes libèrent des lymphokines qui peuvent attaquer directement la malignité, activer plus de lymphocytes T ou inciter les cellules NK et les macrophages
- À un moment donné, les lymphocytes T suppresseurs peuvent s'activer pour "arrêter" le tueur cellules et cellules B. Que ce processus soit continu et indiscriminé, ou stimulé par des facteurs dans le sang, ou autre chose, n'est apparemment pas d'accord.

III.2 Immunité intestinale

III.2.1. Composition de l'immunité intestinale

Le système immunitaire intestinal est composé de différents organes lymphoïdes secondaires disséminés tout au long de l'intestin

III.2.1.1. Muqueuse intestinale

La muqueuse intestinale peut être considérée comme le premier organe lymphoïde au contact des antigènes provenant soit des microorganismes soit de la digestion. Cette muqueuse est composée essentiellement de cellules épithéliales connectées entre elles par des jonctions serrées pour former une barrière imperméable entre la lumière intestinale et l'organisme. Outre cette fonction, les cellules épithéliales peuvent également jouer un rôle immunitaire. Elles possèdent ainsi la capacité de synthétiser et de sécréter des molécules antibiotiques telles que des defensines, cathelicidine et calprotectine, ainsi que

des cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 8 (IL-8) (Artis, 2008). Entre ces cellules épithéliales, on retrouve des cellules immunitaires comme des cellules dendritiques, capables de capturer des antigènes directement dans la lumière intestinale, et des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE), qui représentent la majorité des lymphocytes T intestinaux.

III.2.1.2. Organes lymphoïdes secondaires et tertiaires

Les organes lymphoïdes de l'intestin sont classés dans le tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT). Ces GALT sont constitués d'organes lymphoïdes secondaires (plaques de Peyer et ganglions lymphatiques mésentériques) et de structures dites tertiaires, qui correspondent à des follicules lymphoïdes isolés (ILF). Les plaques de Peyer se trouvent dans tout l'intestin. Ils se forment au cours du développement fœtal indépendamment du microbiote intestinal (Mowat, 2003). Ils ont un tissu semblable à un ganglion lymphatique avec de grandes zones de lymphocytes B et T, et ces structures sont drainées par les ganglions lymphatiques mésentériques. Un type particulier de cellule se trouve dans l'épithélium intestinal des plaques de Peyer. Ces cellules M incorporent des antigènes luminaux par endocytose puis les transfèrent aux cellules dendritiques qui les présentent aux lymphocytes B présents dans les plaques de Peyer. Ces cellules M incorporent par endocytose les antigènes endoluminaux puis les transfèrent aux cellules dendritiques qui les présentent aux lymphocytes B présents dans les plaques de Peyer. Ces cellules M délimitent des poches formées d'invaginations de leurs espaces basolatéraux contenant des lymphocytes T et B, des cellules dendritiques et des macrophages.

A l'inverse des plaques de Peyer, le nombre de FLI peut varier en fonction des réactions inflammatoires et leurs formations vont être dépendantes de la flore intestinale (Lorenz *et al.*, 2003). Ces organes sont le premier lieu de contact avec les antigènes intestinaux exogènes et sont, de ce fait, le siège d'induction de la réponse immunitaire d'origine intestinale.

III.2.1.3. Flore bactérienne

A l'instar de la barrière épithéliale, la flore bactérienne, sans être une structure immunitaire à proprement parlé, joue un rôle important dans la protection de l'organisme. Cette population bactérienne va jouer un rôle dans l'immunité générale de l'organisme. Des études démontrent ainsi une atrophie des organes lymphoïdes secondaires chez des animaux élevés en condition stériles et qui ne possèdent de ce fait pas de flore intestinale commensale (Rakoff *et al.*, 2004). En générant en permanence

une réaction inflammatoire basale, les bactéries commensales permettent de former et d'entretenir l'immunité générale de l'organisme.

L'ensemble de tous ces éléments (barrière intestinale, organes lymphoïdes, bactéries commensales) permet la formation d'une protection efficace de l'organisme contre les agressions des microorganismes pathogènes (Rakoff *et al.*, 2004).

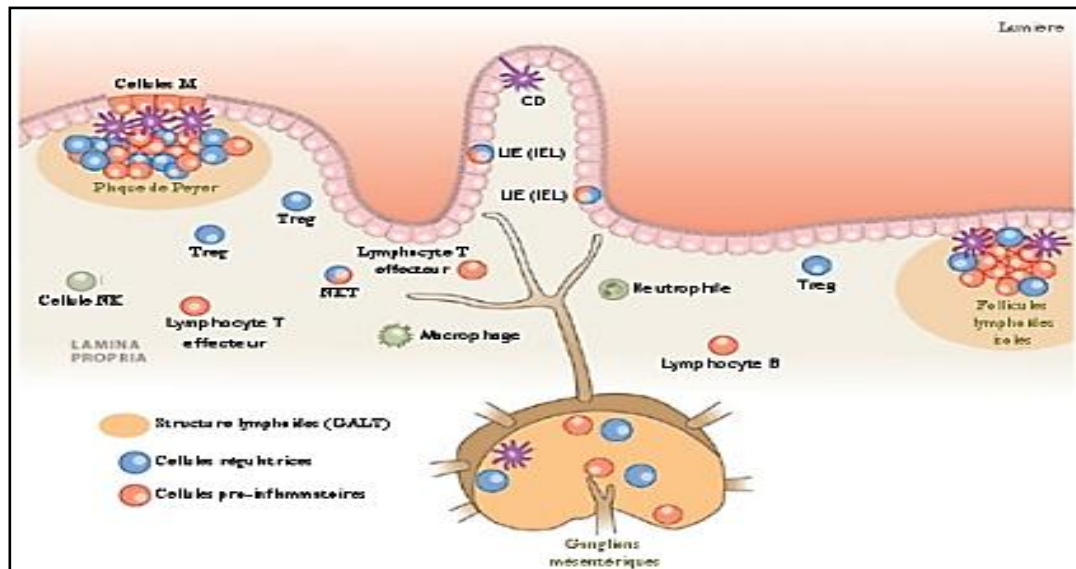


Figure 15 .Composition du système immunitaire intestinal (Izcue *et al.*, 2009))

III.2.2 Rôle de l'immunité intestinale

III.2.2.1. Rôle de barrière de protection de l'organisme

La muqueuse intestinale est en contact permanent avec une importante flore bactérienne commensale. L'épithélium continu, ainsi que le mucus généré par les cellules à mucus tout le long de l'intestin vont créer une barrière physique afin d'empêcher les micro-organismes de pénétrer dans l'organisme. A cette barrière physique se rajoute une barrière immunologique grâce à l'importante sécrétion d'immunoglobulines de type A (IgA) dans la lumière intestinale. Ces IgA ont la capacité de contrôler les populations bactériennes commensales et de neutraliser les micro-organismes pathogènes ainsi que les toxines sécrétées (Macpherson *et al.*, 2008) afin de protéger l'épithélium. Ces anticorps sont produits par des plasmocytes présents dans la muqueuse intestinale et transitent par les entérocytes avant d'être sécrétés dans la lumière intestinale.

III.2.3 Induction de la réponse immunitaire gastro-intestinale

L'une des principales clés pour l'induction d'une réponse immunitaire efficace repose sur le temps de réaction suite à la pénétration du pathogène dans l'organisme. En effet, plus la réaction sera rapide et plus la réponse sera efficace. Afin d'assurer une réponse rapide, le système immunitaire inné comporte des récepteurs semispécifiques capables de reconnaître certains motifs microbiens et ainsi déclencher une réponse cellulaire très rapide. Ces motifs, appelés Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP), sont détectés par des récepteurs présents à la surface de nombreuses cellules, immunitaires ou non. Ces récepteurs sont appelés Pattern Recognition Receptors (PRR) et peuvent être de différents types. Les principaux types de récepteurs peuvent être regroupés en 4 grandes familles : les récepteurs de lectine de type C, les récepteurs de type RIG-I, les récepteurs de type NOD et les récepteurs de type Toll.

III.2.3.1 Récepteurs de type lectine de type C (CLR)

Les CLR sont des récepteurs transmembranaires et solubles capables de reconnaître des motifs glucidiques spécifiques à la surface de certains micro-organismes. Le nombre de récepteurs dans la famille des CLR n'est pas strictement défini et augmente régulièrement. Cette famille correspond en effet à tous les récepteurs possédant un domaine capable de reconnaître un motif glucidique et Ca²⁺ dépendant (**Zelensky et al., 2005**). Ils sont classés en 2 familles: les CLR spécifiques du manose et les CLR spécifiques des asialoglycoprotéines (**Takeuchi et al., 2010**). Des récepteurs importants sont retrouvés à la surface des cellules dendritiques tels que DC-SIGN, langerin, MGL, CLEC5A ou encore MGL, CLEC5A, detectin1 ou MICL à la surface des macrophages (**Geijtenbeek et al., 2009**)

Les cellules dendritiques et les macrophages représentent la 1^{ère} ligne de défense de l'organisme au sein du système intestinal. Afin de détecter rapidement la présence d'un antigène exogène et d'induire une réponse adaptative, ces 2 types cellulaires possèdent à leur surface des récepteurs de type lectine de type C (CLR). L'activation de ces récepteurs induit l'internalisation de l'antigène exogène pour le présenter sur des molécules de CMH puis aux lymphocytes CD4 et CD8 (**Kooyk, 2008**).

III.2.3.2 RIG-I-like receptors (RLR)

Les RLR sont classés en 3 familles: melanoma differentiation associated gene 5 (MDA5), laboratory and physiology 2 (LGP2) et retinoic acid inductible gene I (RIG-I).

Ils possèdent tous une double activité hélicase et ATPase, cette dernière étant activée lors de la fixation du ligand sur le récepteur (**Yoneyama et al., 2005**). Cette activation induit des voies de signalisation qui aboutiront à l'activation de facteurs de transcription tels que le nuclear factor-kappa B (NF- κ B) ou l'Interferon regulatory factor 3 (IRF3). De nombreuses recherches ont été menées afin de connaître les ligands de MDA5, LGP2 et RIG-I. Malgré des structures relativement similaires MDA5 et RIG-I vont reconnaître 2 types de signatures virales. MDA5 reconnaîtra principalement des structures de type poly IC, entre autres spécifiques du virus de l'encéphalomyocardite, du polivirus et du mangovirus. RIG-I va reconnaître principalement les fragments d'ARN double brins des virus de type hépatite C, Ebola ou influenza A (**Kumar et al., 2011**).

Les récepteurs cytoplasmiques RLR sont présents dans une grande majorité des cellules de l'organisme. Leur but principal va être la détection des motifs viraux intracellulaires.

III.2.3.3 NOD-like receptors (NLR)

La famille NLR est immense. D'après les projections du génome, la famille comptera près de 200 membres (**Ting et al., 2008**). Ces dernières années, la recherche s'est concentrée spécifiquement sur les récepteurs NOD1, NOD2 et NLRP3 (Figure 16). Les récepteurs NOD ont une extrémité N-terminale capable de recruter des caspases (CARD), un domaine central appelé domaine de liaison aux nucléotides (NOD) et un domaine C-terminal riche en leucine (LRR) (**Inohara et al., 2005**). NOD1 reconnaît spécifiquement un motif spécifique contenant de l'acide diaminopimélique murin. NOD2 reconnaît le muramyl dipeptide (MDP) présent sur toutes les bactéries. Le récepteur NLRP3 possède un domaine supplémentaire appelé domaine 3 contenant des purines. Ce motif est principalement présent sur les bactéries Gram-négatives. NLRP3 reconnaît toutes les bactéries et un signal de danger intracellulaire actuellement inconnu.

Les récepteurs NLR sont présents dans une grande majorité des cellules de l'organisme, au sein desquelles ils vont détecter les bactéries intracellulaires via la reconnaissance de motifs conservés.

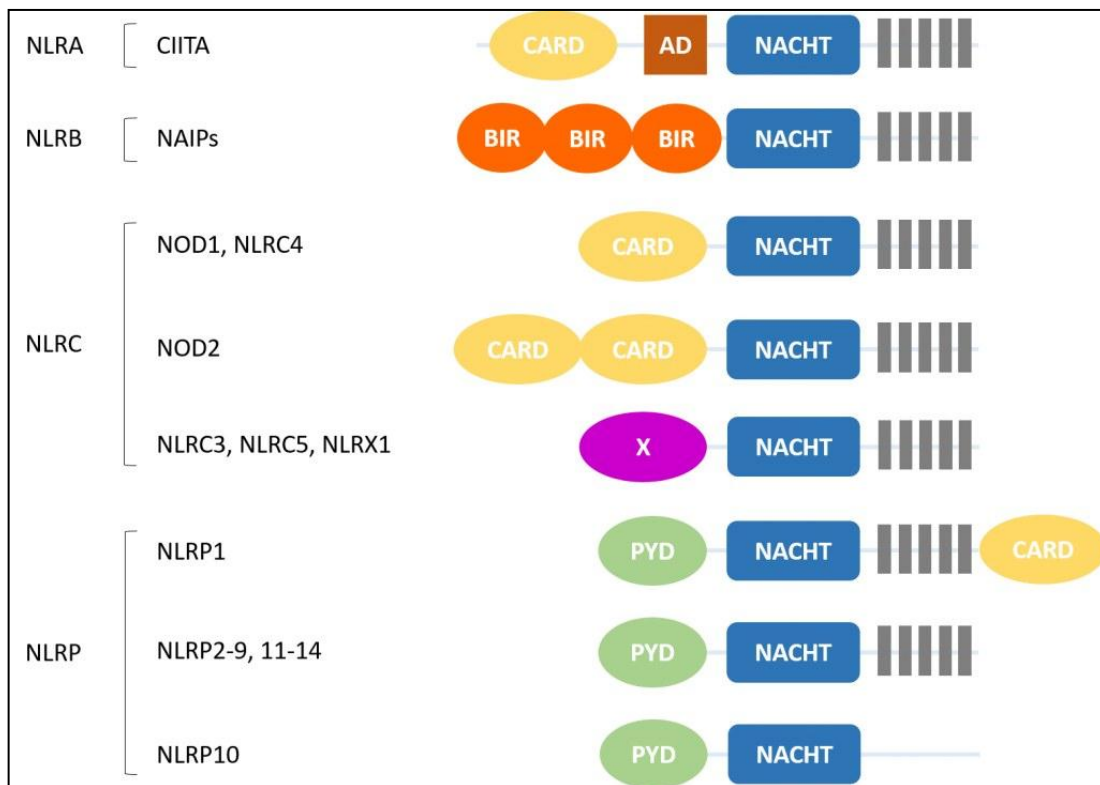


Figure 16. Structure des principaux NLR. CARD : (Domaine de recrutement et d'activation de la caspase (Caspase activation and recruitment Domain (CARD))). NACHT : Domaine de fixation des nucléotides appelé également NOD, DP : Domaine riche en Purine (<https://www.clinisciences.com/lire/recepteurs-nod-like-nlr-1182.html>)

III.2.3.4 Toll-Like Receptors (TLR)

Un défi fondamental auquel est confronté le système immunitaire est la détection du nonsoi. Certains récepteurs ont donc évolué afin de faire la reconnaissance initiale et permettre une réponse immunitaire contre une vaste gamme d'agents infectieux. Ces récepteurs sont les PRRs. La famille des TLR est la famille de PRRs la mieux caractérisée. Il existe toutefois d'autres familles de PRRs impliquées dans la réponse inflammatoire comme les récepteurs NOD-like (NLRs) et RIG-like (RLRs) (**Takeuchi et Akira, 2010**). Cependant, pour ce mémoire, l'accent sera mis sur les TLR. Dix TLR ont été identifiés chez l'humain alors que 12 l'ont été chez la souris (**Akira et al., 2006**).

Les TLR peuvent être divisés en deux familles, les TLR1, 2, 4, 5 et 6 qui sont situés à la surface cellulaire et qui reconnaissent les composantes de la membrane des microbes ainsi que les TLR3, 7, 8 et 9 qui sont exprimés à la surface des vésicules intracellulaires et qui reconnaissent des motifs d'acides nucléiques spécifiques aux pathogènes (**Kawai et Akira, 2011**). Les TLR sont donc des récepteurs très polyvalents qui reconnaissent à la fois les bactéries, les virus et les champignons, en plus de certaines

molécules endogènes relâchées par les cellules nécrotiques (Beutler, 2009 ; Pineau et Lacroix, 2009)

III.2.4 Récepteurs Toll-like (TLR) et leur importance dans l'homéostasie intestinale

L'activité des TLR est régulée à plusieurs niveaux. Le premier niveau est celui de la détection des motifs microbiens (Figure). Des publications ont mis en évidence une distribution non homogène des TLR dans l'intestin humain. Les microdissections laser de l'épithélium intestinal ont montré que les TLR2 et TLR4 sont faiblement exprimés dans les côlonocytes humains sains. TLR3 qui détecte de l'ARN double brin, est abondant tout le long du tractus sur la face basolatérale des cellules. TLR5 est plus exprimé dans le côlon que dans l'intestin grêle. Selon les données disponibles, il semble que tous les TLR membranaires soient plutôt polarisés sur la face basolatérale des cellules chez l'humain à l'exception de TLR9 qui est également présent sur la face apicale

Chez le porc, et probablement chez l'humain, l'expression des TLR varie aussi selon l'axe crypte/sommet (Gourbeyre et al., 2015). Les études de localisation cellulaires chez l'humain sont à interpréter avec prudence du fait des potentiels biais techniques. Les TLR 7,10,11,12 et 13 ne semblent pas ou peu exprimés dans l'intestin sain, le niveau de variations selon les études (Abreu, 2010 ; Otte et al., 2004). Il existe des différences de localisation des TLR dans l'intestin, entre l'humain et la souris, qu'il est important de garder à l'esprit, dans les études sur la régulation du dialogue hôte-microbiote réalisées dans des modèles murins.

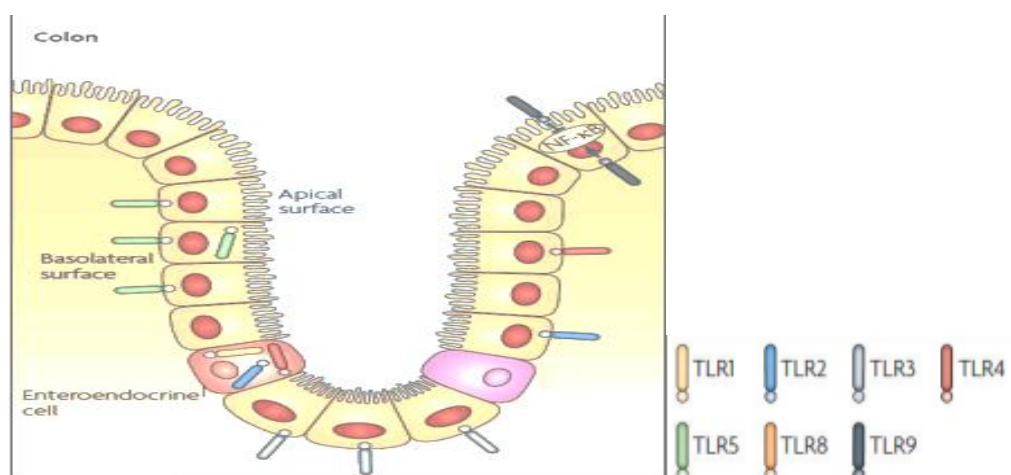


Figure 17. Localisation des TLR dans le côlon humain et polarisation.
(Abreu 2010)

III.3 Interaction entre microbiote et système immunitaire dans l'homéostasie

Compartimentation induite par l'hôte du microbiote intestinal L'interface la mieux étudiée pour les interactions hôte-microbiote est la muqueuse intestinale. Une caractéristique remarquable du système immunitaire intestinal est sa capacité à établir une tolérance immunitaire envers une richesse énorme et en constante évolution de micro-organismes inoffensifs tout en préservant simultanément les réponses immunitaires contre les infections pathogènes ou l'intrusion commensale dans le milieu corporel stérile (**Konrad et al.2006**).

Dans un état sain, la réponse immunitaire de l'hôte vis-à-vis du microbiote intestinal est strictement cloisonnée à la surface muqueuse. Une seule couche d'épithélium sépare la lumière intestinale des tissus sous-jacents. De nombreux mécanismes sont employés pour parvenir à la compartimentation du microbiote. Une couche de mucus dense sépare l'épithélium intestinal des microbes résidents (**Belkaid et Naik,2013**).

La barrière muqueuse s'organise autour de la mucine hyperglycosylée MUC2. Cependant, MUC2 offre non seulement une protection par blindage statique, mais limite également l'immunogénicité des antigènes intestinaux en imprimant les cellules dendritiques entériques (CD) vers un état anti-inflammatoire (**Shan et al., 2013**).

Les jonctions serrées sont une structure critique pour limiter la perméabilité trans-épithéliale. Les signaux microbiens, par exemple via le métabolite indole, favorisent la fortification de la barrière épithéliale par la régulation à la hausse des jonctions serrées et des protéines cytosquelettiques associées (**Bansal et al.,2010**). De plus, les anticorps IgA sécrétoires et les peptides antimicrobiens (AMP) maintiennent la fonction de barrière muqueuse (**Peterson et al., 2007**).

On pense que les CD intestinales jouent un rôle essentiel dans la compartimentation du microbiote entérique, par le biais de mécanismes impliquant l'échantillonnage des bactéries intestinales pour la présentation de l'antigène. (**Macpherson et al., 2004**).

III.3.1. Diaphonie entre le système immunitaire inné et le microbiote

Le microbiote et l'immunité innée s'engagent dans une communication bidirectionnelle extensive. L'un des plus anciens phylogénétiquement Les systèmes d'immunité innée sont représentés par les AMP. La majorité des AMP intestinaux sont

produits par les cellules de Paneth, qui représentent cellules sécrétoires spécialisées de la muqueuse de l'intestin grêle (Bevins *et al.*, 2011).

Les AMP intestinaux présentent de multiples interactions avec le microbiote et sont un élément essentiel pour façonner sa configuration (Ehmann *et al.*, 2019). Ajoutant à la complexité des PAM intestinaux, les antimicrobiens la sécrétion des acini pancréatiques semble être essentielle au maintien de l'homéostasie intestinale de reconnaissance de formes (PRR), tels que les récepteurs de type Toll (TLR), ont été initialement décrits pour détecter les signaux microbiens pendant infection pour déclencher une réponse immunitaire protectrice. Cependant, les ligands car les PRR ne sont pas exclusifs aux agents pathogènes et sont abondamment produit par le microbiote commensal lors d'une colonisation saine.

Les TLR sont impliqués dans la défense de l'hôte contre pathogènes, régulent l'abondance des microbes commensaux et maintenir l'intégrité des tissus. (Nahoum *et al.*, 2004)

L'expression du TLR dans la l'épithélium se caractérise par une grande diversité en termes d'espace, spécifiques au type de cellule et des modèles temporels. (Price *et al.*, 2018) TLR5 est particulièrement importance dans la formation du microbiote intestinal, (Carvalho *et al.*, 2018) qui pourrait être confinée à une fenêtre temporelle critique pendant la vie néonatale. Polysaccharide A (PSA) produit par le commensal *Bacteroides fragilis* est un autre exemple bien étudié d'une seule molécule promouvoir la symbiose et l'éducation du système immunitaire de l'hôte (Mazmanian *et al.*, 2008).

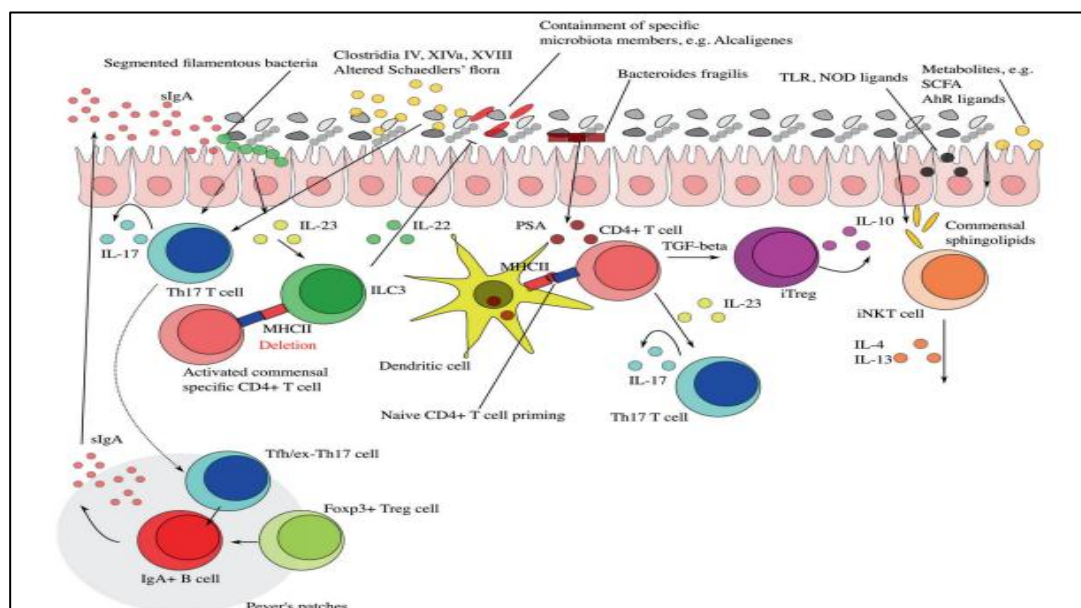


Figure 18 . Interaction microbiote intestinal-immunité dans l'homéostasie (Danping *et al.*, 2020).

Système immunitaire microbiote sélectionné mécaniquement bien caractérisé les interactions sont mises en scène. Les ligands et métabolites TLR et NOD dérivés du microbiome (par exemple, SCFA, ligands AhR) agissent directement sur les entérocytes et les cellules immunitaires intestinales, mais peuvent également atteindre des tissus distants via la circulation systémique pour moduler l'immunité. Les cellules Foxp3 + Treg et les cellules Tfh / ex Th17 se localisent dans les plaques de Peyer pour favoriser le changement de classe des cellules B et la production d'IgA sécrétoires. Ceux-ci contribuent à compartimentation du microbiote commensal et régulation de la composition du microbiote homéostatique. Colonisation intestinale par SFB et de nombreux d'autres commensaux favorisent la différenciation des cellules CD4+ Th17. De plus, la colonisation SFB suscite une signalisation via l'axe ILC3/IL-22/SAA1/2 pour induire la production d'IL-17A par ROR γ t+ Cellules Th17. L'IL-22 dérivée d'ILC3 contribue au confinement de membres spécifiques du microbiote en favorisant Production d'IL-17 A par les cellules Th17. De plus, la suppression du MHCII exprimé par ILC3 active les lymphocytes T CD4 + spécifiques du commensal pour empêcher une réponse immunitaire contre les colonisateurs inoffensifs.

La colonisation microbienne précoce limite l'expansion des cellules iNKT, en partie via la production de sphingolipides, pour prévenir l'activité potentielle de promotion de la maladie dans la lamina propria intestinale et les poumons. Colonisation avec *Bacteroides fragilis*, un membre éminent du microbiote intestinal des mammifères, est capable de favoriser la différenciation des lymphocytes T CD4+ et d'équilibrer Th1 et Th2 populations, un effet qui repose sur son PSA. Le PSA est absorbé par les CD de la lamina propria via un mécanisme dépendant de TLR2 et présenté à lymphocytes T CD4+ naïfs. En présence simultanée de TGF- β activé, ces cellules peuvent se différencier en cellules T régulatrices (iTreg). IL-10 produit par ces cellules favorisent l'homéostasie immunitaire. Au contraire, l'IL-23 sous licence via la même cascade favorise l'expansion des cellules pro-inflammatoires Th17.

III.3.2. Rôle du microbiote intestinal dans la mise en place et homéostasie de système immunitaire inné

Les GALT font partie des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALTs) (**Brandtzaeg et al., 2008**), faisant directement le lien entre l'hôte et l'environnement. En tant que première ligne de défense de la muqueuse intestinale, la fonction principale des cellules immunitaires innées dans les GALT ne reconnaissent pas spécifiquement pathogènes, initiant une réponse immunitaire innée et présentant antigènes pour activer le

système immunitaire adaptatif en aval. GALT sont également cruciaux dans le maintien de la tolérance immunitaire à la flore commensale. La double fonction des GALT est essentielle à l'homéostasie entre le microbiote intestinal et l'homme système immunitaire

Les composants histologiques des GALT comprennent principalement Plaques de Peyer, plaques de cryptes, follicules lymphoïdes isolés (ILF), l'appendice et les ganglions lymphatiques mésentériques (mLN) (**Mowat.2003**). Les cellules constitutives des GALT comprennent les cellules M, qui sont capables de transférer des antigènes mais pas de les traiter ou de les présenter (**Mabbott et al., 2013**), les lymphocytes conventionnels tels que les lymphocytes T auxiliaires (Th cellules), cellules T régulatrices (Tregs) (**Coombes et al., 2007 ; Siddiqui et al., 2008**), cytotoxiques Lymphocytes T, lymphocytes B producteurs d'IgA (43), phagocytes y compris les cellules dendritiques, les macrophages et d'autres lymphocytes non conventionnels tels que les cellules lymphoïdes innées (ILC). Diverses études ont révélé que l'accumulation structurelle de GALT repose sur le microbiote intestinal. La formation de l'intestin secondaire les organes lymphoïdes tels que les plaques de Peyer, les mLN et les ILF dépend de la cellule inductrice de tissu lymphoïde (LTi), un sous-ensemble du groupe 3 ILCs, et sa diaphonie avec la colonisation du microbiote intestinal (**Adachi et al., 1997**).

Les GALT sont le lien critique entre la réponse immunitaire locale au microbiote intestinal et à la réponse immunitaire systémique. Comment local les cellules immunitaires affectent les organes distaux tels que les articulations, les os, la peau, les îlots pancréatiques, et même le système nerveux central sont restés non spécifié. Les mécanismes possibles pourraient impliquer le résident local et des cellules présentatrices d'antigènes migrants et également des cellules circulantes les cellules immunitaires adaptatives, qui seront discutées dans ce qui suit sections. De plus, il y avait des preuves que différentes valeurs de base de cytokines pro-inflammatoires produites par les GALT de différents comme les cellules Th1, sont dépendantes de T-bet (c'est-à-dire TBX21), sécrétant le signature cytokine interféron (IFN)- γ (**Bernink et al., 2015**). CAL du groupe 2, comme les cellules Th2, sont classés en fonction de leur dépendance à GATA3 et la capacité de sécréter l'interleukine IL-5 et IL-13 (**Hoyler et al.,2012 ; Roediger et al., 2013**). Grouper 3 ILC, comme Th17 et Th22, dépendent de la transcription facteur ROR γ t et sécrètent les cytokines signature IL-17 et IL-22. Les ILC du groupe 3 sont constituées des CD4⁺, CD3⁻, CCR6⁺ sous-ensemble, à savoir les cellules LTi, et la sous-population ILC3 qui ne expriment le facteur de homing tissulaire CCR6 (**Vivier et al., 2018**). De plus, les récents les études de ces 10 années ont révélé l'hétérogénéité des

groupes 1 ILCs, qui se composent du cytotoxique et du non-cytotoxique compartiment, qui sont des cellules tueuses naturelles conventionnelles (cNK) et ILC1, respectivement (Jiao et al., 2016).

Au lieu de circuler en périphérie, la majorité des CAL résident dans les tissus non lymphoïdes, en particulier les tissus épithéliaux tels que comme la peau, le tractus gastro-intestinal, les voies respiratoires, les glandes salivaires, et des organes non épithéliaux tels que le foie .

Dans différents tissus, Les ILC présentent une hétérogénéité à la fois sur le transcriptome et sur le système immunitaire niveau fonction (Colonna M.,2018), consolidé par de nombreuses analyses fonctionnelles et séquençage d'ARN unicellulaire (Björklund et al.,2016 ; Yu et al.,2016). Le casse-tête pourquoi Les ILC ont une telle hétérogénéité a longtemps été mystérieuse. C'était ont proposé que l'exposition à différents microbiotes locaux ou externes les apports pourraient contribuer à façonner l'hétérogénéité de l'ILC local populations (Spencer et al., 2014).

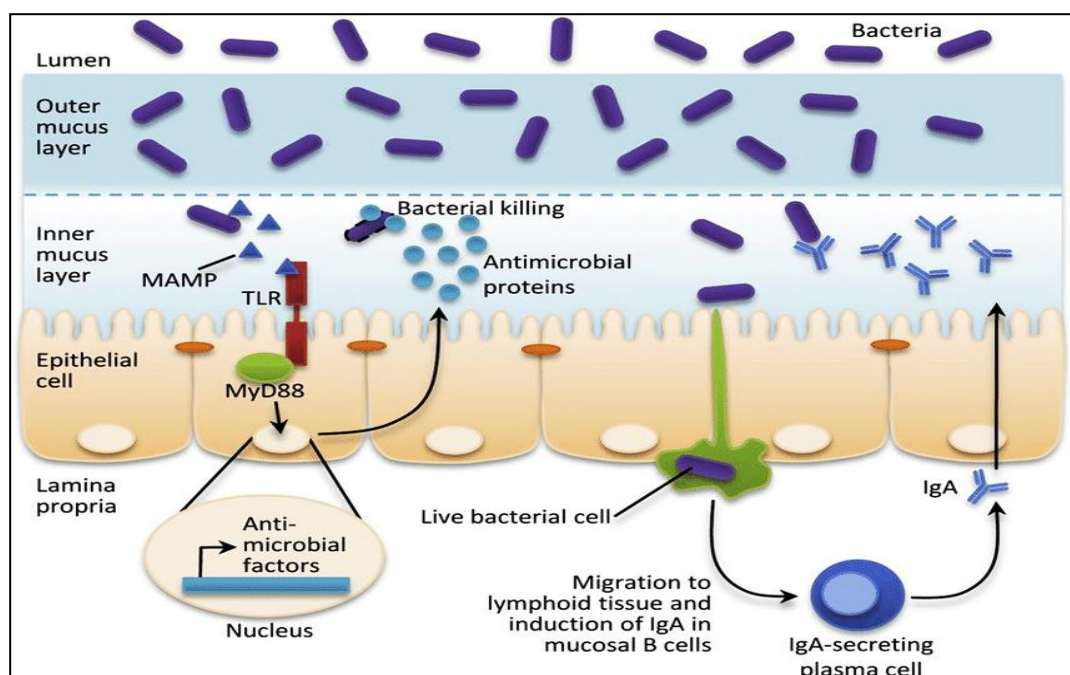


Figure 19. Microbiote, immunité innée et adaptative (duerkop, et al. 2009)

Un domaine sous-estimé de la recherche sur le microbiote est représenté par des protistes commensaux. Dans une élégante étude sur le transroyaume interactions, les auteurs démontrent que le commensal murin le protiste *Trichomonas musculus* protège contre les bactéries entériques infection en activant la signalisation de l'inflammasome épithélial, et favorisant ainsi l'immunité Th1 et Th17 à courant continu (Viant et al.,

2017). Les monocytes et les macrophages jouent un rôle crucial dans l'immunité innée cellules effectrices et ont des rôles homéostatiques vitaux. Des recherches récentes ont commencé à mettre en lumière les relations entre ces monocytes/macrophages et le microbiote commensal. Il a été démontré qu'un grand polysaccharide dérivé du microbiote induisait une signature génétique anti-inflammatoire dans les macrophages intestinaux murins (Souza et al., 2013). différenciation par inhibition de l'histone désacétylase 3 (HDAC3), amplifiant ainsi la défense antimicrobienne de l'hôte (Enqvist et al., 2015).

Récemment, il a été démontré qu'un métabolite soluble dérivé du microbiome, le N-oxyde de triméthylamine (TMAO), peut entraîner la polarisation des macrophages murins d'une manière dépendante de l'inflammasome NLRP3. Les cellules lymphoïdes innées (ILC) sont une population hétérogène de cellules immunitaires innées découverte plus récemment, spécialisée dans la sécrétion rapide de cytokines et de chimiokines polarisées pour combattre infection et favorisent la réparation des tissus muqueux (Huang et al., 2011).

Les ILC ont été classées en trois types distincts en fonction des facteurs de transcription et des signatures de cytokines. Cependant, une cellule unique approfondie le profilage de l'état du transcriptome et de la chromatine suggère un paysage plus diversifié des CAL. Les CAL représentent un nouveau domaine de recherche revu plus en détail ailleurs. La diversité phénotypique et la plasticité fonctionnelle des ILC intestinales de l'hôte sont façonnées par l'intégration de signaux le microbiome. (Puxeddu et al.2012). Un facteur régulant la prolifération et la fonction des ILC du groupe 3 est le capteur de métabolite microbien Ffar2 (Ganal et al., 2012).

Récemment, une régulation dichotomique des ILC du groupe 3 par une paire d'espèces d'*Helicobacter* chez la souris a été identifiée. Ces espèces activent les ILC mais régulent négativement la prolifération des groupes 3 ROR γ t + ILC qui sont cruciaux pour l'immunité et l'inflammation de l'hôte (Rizzello et al., 2011).

Les ILC de type 3 interviennent dans la surveillance immunitaire du microbiote configuration pour faciliter la résistance à la colonisation précoce grâce à un régulateur transcriptionnel régulation ID2-dépendante de l'IL-22 (Sawa et al.,2010). Il a été démontré que les cellules NCR+ ILC3 sont essentielles pour maintenir homéostasie cœcale chez la souris lors d'une infection par *Citrobacter rodentium* (Sanos et al., 2009) Un commensal lié au risque de maladie allergique chez l'enfant, *Ruminococcus gnavus*, induit une infiltration du côlon et du parenchyme pulmonaire par des éosinophiles et des

mastocytes chez la souris via une cascade impliquant des ILC de type 2, suggérant à un rôle crucial des ILC dans la tolérance immunitaire (**Takayama et al., 2008**).

III.3.2.1 Fonctions des récepteurs NLR et des RLR dans l'immunité innée intestinale

Les NLR partagent une même structure composée de trois domaines : un domaine N-terminal variable, un domaine central de liaison aux nucléotides NBD ou NACHT (NAIP, CIITA, HET-E, and TP1) et un domaine de 20 à 30 acides aminés riches en leucine en partie C-terminal (LRR).

Les récepteurs cytoplasmiques NOD1 et NOD2 sont les membres de la famille LNR les mieux décrits. Ils possèdent un ou deux domaines CARD (Caspase recruitment domain) dans la partie N-terminale qui reconnaissent des fragments de peptidoglycane provenant dans la membrane des bactéries. Chez l'humain, le récepteur NOD1 est fortement exprimé par les colonocytes ainsi que dans la plupart des lignées cellulaires épithéliales (**Kim et al., 2004 ; Vermaa et al., 2013**). À l'inverse NOD2 est peu exprimé par les colonocytes mais le récepteur est exprimé par les cellules de Paneth dans l'intestin grêle (**Hisamatsu et al., 2003 ; Lala et al., 2003 ; Ogura et al., 2003**). Chez certains patients atteints de MICI le récepteur NOD2 est surexprimé dans le côlon, notamment par les cellules infiltrées et par des cellules qui ont un profil proche des cellules de Paneth. Les variations génétiques de NOD2 sont l'un des facteurs génétiques qui augmente chez l'humain, la susceptibilité à développer la maladie de Crohn (**Berrebi et al., 2003; Ogura et al., 2003**). Cependant les récepteurs NOD1 et NOD2 n'ont pas seulement une fonction pro-inflammatoire, ils sont également impliqués dans les effets bénéfiques la flore intestinale sur l'homéostasie intestinale.

D'autres membres des NLR, à savoir NLRP1 et NLRP3 (Nod-like receptor family pyrin containing) participent à l'homéostasie intestinale comme composants de structures appelées « inflammasomes » (**Martinon et al., 2002**). Il existe différents types d'inflammasomes qui détectent des signaux de dangers très variés parmi lesquels : des motifs microbiens (NLRP 1, 3, 4, 6, 7, 12), des toxines (NLRP1), le relargage d'ATP ou encore une concentration anormale d'ions (NLRP3). NLRP3 reconnaît de nombreux signaux de stress cellulaire: hyperglycémie, céramides, acides gras, agrégats protéiques, différents cristaux (cholestérol, amiante, alun), ATP extracellulaire, toxines bactériennes, acides nucléiques bactériens et viraux, ou encore hémocoïne (pigment de Plasmodium) pour ne citer que quelques exemples. Les motifs reconnus par les différents NLRP ne sont pas toujours connus. Il y a des relations de coopérations entre différents types de

PRR. Ainsi l'activation des TLR augmente le niveau d'expression de NLRP3 et favorise l'activation de l'inflammasome (Gros Lambert *et al.*, 2018; Jamilloux et Henry., 2013). L'inflammasome formé par NLRP3 est le mieux décrit. C'est une plateforme comprenant un adaptateur et la pro-caspase 1. La formation de l'inflammasome active la caspase 1 ce qui permet la formation des cytokines pro-inflammatoires, IL1 β et IL18 sous leur forme active, qui contrôlent la mort cellulaire par pyroptose.

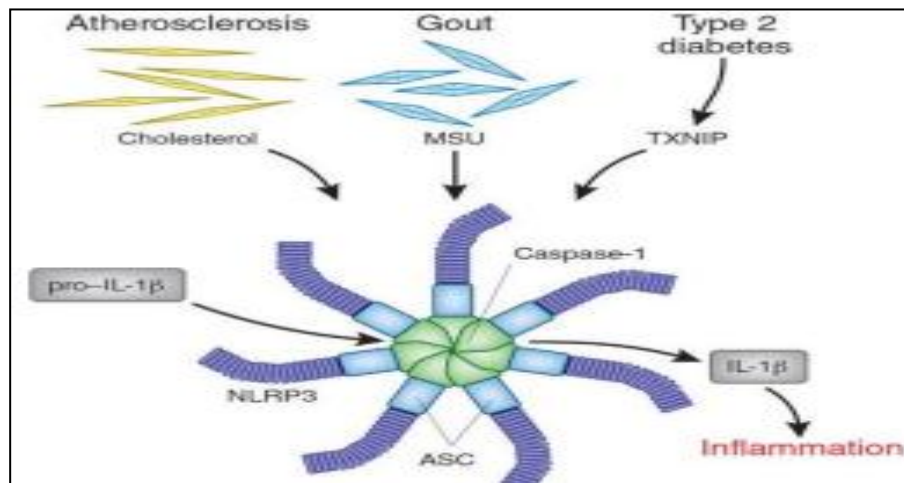


Figure 20. Inflammasome NLRP3 (formé d'un heptamère de NLRP3, des protéines adaptatrices ASC et des pro-caspases 1 en son centre. La formation de l'inflammasome conduit l'activation de la caspase 1 et au clivage de l'IL1 β . ASC (Apoptosis associated Speck-like protein containing a CARD) (Hansson, 2011).

III.3.3 Interactions entre le système immunitaire adaptatif et le microbiote

Outre les impacts des interactions hôte-microbiote sur la fonction immunitaire innée, des recherches récentes ont également révélé des mécanismes régissant le mutualisme entre le microbiome et le système immunitaire adaptatif.

Un exemple implique les cellules B, médiateurs cruciaux de l'homéostasie intestinale en produisant un large éventail de anticorps IgA sécrétoires sensibles aux commensaux.⁴⁶ Plusieurs grammes d'IgA sont sécrétés chaque jour dans les intestins humains. (Pickert *et al.* 2009) L'IgA sécrétoire peut être produite soit de manière indépendante des lymphocytes T, soit de manière dépendante des lymphocytes T. Les IgA produites de manière dépendante des lymphocytes T jouent un rôle plus important dans la formation des communautés microbiennes intestinales (Sawa S *et al.*, 2011).

La relation entre les IgA intestinales et le microbiote est mutualiste, en ce sens qu'un répertoire d'IgA diversifié et sélectionné contribue au maintien d'un répertoire

diversifié et microbiome équilibré, qui facilite l'expansion des lymphocytes T régulateurs Foxp3+ maintien des réponses IgA homéostatiques dans une boucle régulatrice (**Zelante et al., 2013**). Fait intéressant, les anticorps IgA sécrétoires intestinaux recouvrent préférentiellement bactéries colitogènes, prévenant ainsi la perturbation de l'homéostasie entérique et l'inflammation. (**Sonnenberg et al., 2011**).

En l'absence de lymphocytes B, ou de IgA, épithélium intestinal régulent à la hausse les mécanismes de défense immunitaire inhérents à l'épithélium médiés par une réponse inductible par l'interféron voies, qui sont associées à des changements ultérieurs dans la composition du microbiome. Fait intéressant, la répression simultanée des fonctions métaboliques liées à Gata4 dans ce scénario se traduit par altération de l'absorption intestinale et altérations métaboliques (**Guo et al., 2010**). Récemment, un nouveau sous ensemble de cellules mésenchymateuses sous-épithéliales exprimant la cytokine RANKL ont été identifiés comme servant d'inducteurs des cellules M intestinales, favorisant ainsi la production d'IgA et la diversification du microbiote intestinal (**Zheng et al., 2008**). Les études menées au cours de la dernière décennie ont fourni une plus grande image détaillée de la diaphonie entre le microbiome intestinal et Cellules T régulatrices CD4+. Un sous-ensemble de CD4+ régulateurs du côlon Les cellules T manquent de différenciation chez les souris GF résultant de l'absence de consortiums bactériens capables de fermenter les fibres alimentaires en acides gras à chaîne courte (AGCC) (**Sonnenberg et al., 2012 ; Kruglov et al., 2013**).

Réactivité aux bactéries intestinales semble être une propriété "saine" à la fois intestinale et systémique les lymphocytes T CD4+ humains, qui peuvent soutenir l'homéostasie en fournissant un grand pool de cellules immunitaires protectrices contre les agents pathogènes (**Goto et al.,2014**). ces cellules, le sous-ensemble Th17 est intensément étudié en raison de sa rôles ambigus à la fois dans la protection de l'hôte et dans l'inflammation troubles (**Hepworth et al.,2013**). L'intestin abrite des cellules Th17 fonctionnellement distinctes. Populations et leur propension inflammatoire est largement déterminée par des bactéries distinctes provoquant leur différenciation. Cellules Th17 induites par SFB sont non inflammatoires, tandis que les cellules Th17 induites par Citrobacter sont une source puissante de cytokines inflammatoires (**Hepworth et al.,2015**).

S'il est bien établi que le microbiote est impliqué dans Th17 différenciation dans l'intestinet la peau111, barrière buccale Th17 le développement cellulaire semble être largement indépendant de la croissance microbienne colonisation (**Tsuji et al., 2008**).

Un autre exemple de régulation du microbiome les réponses adoptives des lymphocytes T impliquent des lymphocytes T CD8⁺ (cytotoxiques), dont les fonctions effectrices sont primordiales dans l'élimination des cellules intracellulaires agents pathogènes et cellules cancéreuses. Bien que ces cellules nécessitent un amorçage par les cellules professionnelles présentatrices d'antigènes (CPA) et sont amplifiées par Signalisation des lymphocytes T CD4⁺ (**Bernink et al., 2013**), les lymphocytes T CD8⁺ activés par l'antigène ne montrent transition vers les cellules mémoire chez les souris GF, dérivées du microbiote Les AGCC sont nécessaires pour promouvoir leur potentiel de mémoire (**Peterson et al., 2014**). A fraction des acides biliaires primaires sécrétée dans l'intestin s'échappe dans le côlon où ils sont convertis en acides biliaires secondaires par le microbiote, et peuvent avoir diverses fonctions de signalisation qui sont encore à explorer complètement. Un travail récent a montré que les acides biliaires secondaires dérivés du microbiote régulent le ROR γ ⁺ intestinal homéostasie des cellules T régulatrices (**Thio et al., 2018**). Les cellules T auxiliaires folliculaires (Tfh) sont spécialisées pour aider les cellules B, et sont cruciaux pour la formation du centre germinatif, la maturation de l'affinité et génération de réponses anticorps de haute affinité et mémoire B cellules (**Gury et al., 2016**).

Les cellules Tfh sont impliquées dans le maintien du microbiote l'homéostasie comme le soulignent des études montrant qu'une altération de Cellules Tfh résultant d'un manque d'expression du co-récepteur mort cellulaire programmée 1 (PD-1) ou P2RX7 ionotrope dépendant de l'ATP peut modifier la composition du microbiote intestinal(**Shaw et al., 2018**). La relation entre les cellules Tfh et le microbiote est réciproque, car les cellules Tfh la différenciation est altérée chez les souris GF et peut être restaurée par administration d'agonistes du récepteur Toll-like 2 (TLR2) qui activent T signalisation MyD88 intrinsèque aux cellules (**Khosravi et al., 2014**).

Chez la souris, le SFB peut induire la différenciation dans les plaques de Peyer en limitant l'accès de l'IL-2 à Cellules T CD4⁺, amplifiant ainsi le régulateur maître Bcl-6 de Tfh cellules. L'axe microbiote-Tfh peut également être pertinent dans les maladies auto-immunes, car chez la souris, la différenciation des cellules Tfh induite par la SFB peut stimuler la production d'auto-anticorps et exacerbent ainsi l'arthrite (**Balmer et al., 2014**).

De plus, des études récentes ont commencé à découvrir les relations entre le microbiote et les DC résidentes dans les tissus, qui représentent une classe importante d'APC façonnant les réponses immunitaires. Les DC sont capables d'envoyer leurs

dendrites hors de l'épithélium directement capturer les bactéries (Cerovic et al., 2014). Récemment, une signalisation couplée à la kinase Syk dans les CD a été décrite comme étant critique pour la production induite par le microbiote d'IL-17 et d'IL-22 par les lymphocytes T CD4⁺ (Schulz et al., 2009).

De plus, une kinase non canonique inductrice de NF-κB (NIK) a été récemment signalé comme étant un médiateur crucial de la fonction DC muqueuse. Dans la même étude, le NIK spécifique aux DC a altéré la sécrétion d'IgA entériques et l'homéostasie du microbiote, rendant les souris vulnérables aux maladies entériques agents pathogènes. (Johansson et al. 2005)

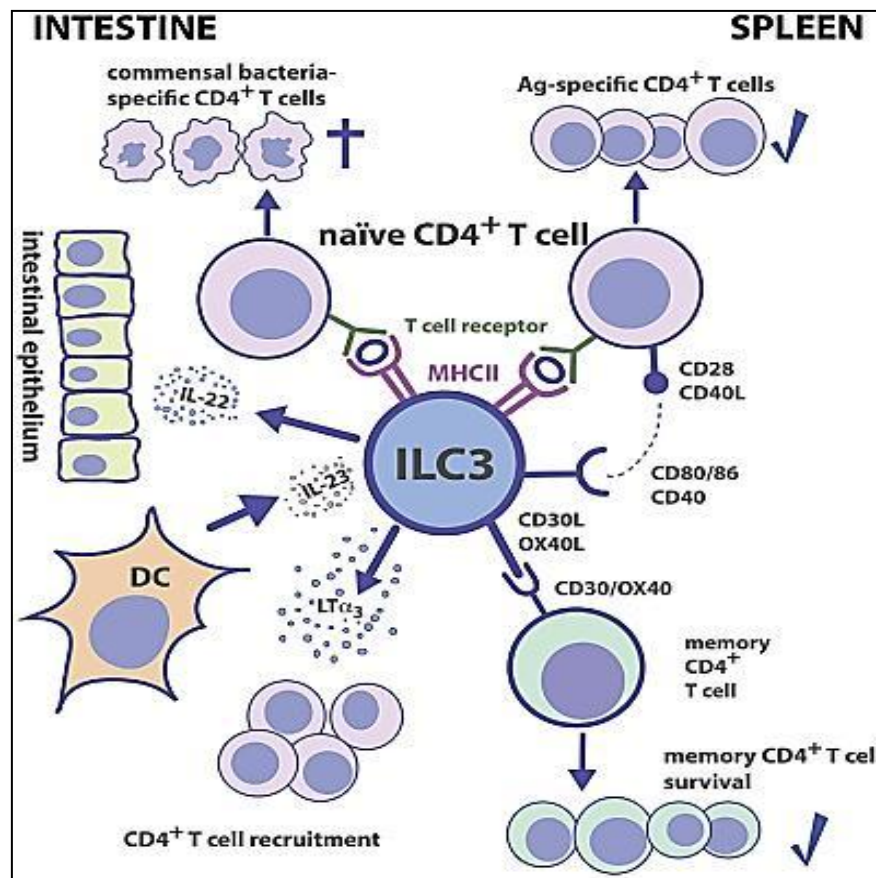


Figure 21. Interactions des cellules T ILC-CD4⁺ du groupe 3.

(Von Burg N et al. 2015)

Un ensemble relativement inexploré de cellules immunitaires ayant une relation cruciale avec le microbiote commensal est représenté par les cellules T tueuses naturelles invariantes (iNKT). Le microbiote intestinal affecte les phénotypes et les fonctions des iNKT chez la souris, les iNKT provenant d'animaux GF présentant un phénotype moins mature et une activation réduite par les antigènes (Spanogiannopoulos et al., 2016).

B. fragilis a pu restaurer l'iNKT nombre de cellules chez les souris GF et pour protéger les animaux contrecolite induite par l'oxazolone.

III.3.4 Intervention du microbiote intestinal dans le développement du système immunitaire

L'interaction du tractus gastro-intestinal avec les bactéries qu'il colonise est le lieu principal qui permet d'enclencher la maturation des lymphocytes T. A la naissance, c'est la fonction des lymphocytes Th2 qui prime sur la fonction des lymphocytes Th1. Or ce sont ces lymphocytes Th2 qui entraînent des phénomènes allergiques puisque les cytokines qu'ils produisent sont notamment impliquées dans la réponse humorale avec production d'anticorps. C'est là qu'intervient l'exposition antigénique. Celle-ci permet de stimuler le développement des lymphocytes Th1 et ainsi de restaurer la balance entre l'immunité cellulaire qu'entraînent les lymphocytes Th1 et l'immunité humorale entraînée par les lymphocytes Th2 (FUJIMURA *et al.*, 2011). Il y a établissement d'une homéostasie entre Th2 et Th1 qui permet d'instaurer le phénomène de tolérance protégeant ainsi l'hôte contre le développement d'un terrain atopique (BJORKSTEN *et al.*, 1999). Le microbiote intestinal induit donc la différenciation des cellules T en lymphocytes Th1 qui corrige l'excès de réponse Th2 instaurée naturellement à la naissance.

Les connaissances que nous avons au sujet du développement du système immunitaire en rapport avec le microbiote intestinal proviennent d'un modèle sur souris « germ-free », c'est-à-dire sur des souris qui n'hébergent pas de microorganisme dans leur intestin ou toute autre surface corporelle. L'étude de ce modèle « germ-free » a permis de mettre en évidence que l'absence de stimulation microbienne a un effet dans le développement de l'immunité innée (FUJIMURA *et al.*, 2011).

La comparaison du modèle conventionnel avec des souris colonisées et ces souris germ-free a mis en évidence le rôle important des bactéries intestinales dans le développement complet du réseau veineux au niveau intestinal. En effet, les souris germ-free développent peu de villosités capillaires. De plus, cette étude a pu montrer que la flore commensale joue un rôle dans le développement des lymphocytes B au niveau des plaques de Peyer et ainsi dans la formation des IgA qui constituent la première barrière de défense des muqueuses de l'organisme. Une absence de lymphocytes T au niveau des plaques de Peyer est également décelée chez les souris germ-free, ce qui empêche le développement du phénomène de tolérance orale. Le modèle germ-free a effectivement montré un nombre de LT et de LB circulant faible ainsi qu'un nombre d'IgA fortement diminué (FUJIMURA *et al.*, 2011).

Une supplémentation en bactéries non pathogènes telle que *Lactobacillus plantorum* a mis en évidence une augmentation de l'expression des récepteurs Nod2. Ceci illustre le rôle de la flore commensale dans la régulation de l'expression de Nod2. Il existe une homéostasie intestinale entre la flore commensale et l'immunité de l'hôte . **(FUJIMURA et al.,2011)**

Une étude, toujours sur souris germ-free, a mise en évidence que sans colonisation du tractus gastro-intestinal, les lymphocytes T produisent naturellement plus de cytokines de type Th2 telle que l'IL-4. La colonisation de ces souris par une bactérie commensale *Bacteroides fragilis* a permis le développement d'une réponse à profil Th1 avec davantage production de l'IFN-gamma. La balance Th2/Th1 est alors retrouvée (**Loughlin et al., 2011**).

III.4 Influence du microbiome environnemental perturbation du système immunitaire

Le microbiome intestinal est façonné par une multitude des facteurs dont les impacts dominant sur la génétique de l'hôte. Ces facteurs environnementaux, y compris l'alimentation, l'utilisation d'antibiotiques, le mode de vie occidentalisé ,.. etc, sont des déclencheurs potentiels de maladies inflammatoires et auto-immunes. **(Vojdani et al., 2014)**. Compréhension de la modulation du microbiome intestinal environnemental et de son impact sur la maladie la propension n'en est encore qu'à ses balbutiements. Actuellement, les sources environnementales de variation du microbiome les mieux étudiées sont le traitement antibiotique et l'alimentation

III.4.1. Perturbations du microbiome induites par les antibiotiques

Les antibiotiques sont un traitement indispensable contre les maladies infectieuses et leur introduction a radicalement changé les soins de santé et l'espérance de vie humaine. Cependant, les preuves suggèrent que l'utilisation d'antibiotiques pendant l'enfance est associée au développement d'une gamme de maladies à médiation immunitaire, y compris les allergies et les MII **(Yamamoto et al., 2017)**.

La prise d'antibiotiques affecte profondément la composition et la fonction du microbiote intestinal et peut introduire des effets indésirables durables sur l'hôte **(Becattini et al., 2016)**. Différents sous-ensembles et fonctions de cellules immunitaires peuvent être dysbiose microbienne. Chez le rat, l'administration d'antibiotiques inhibe l'activation des mastocytes de la muqueuse intestinale et supprime l'absorption des lipides alimentaires **(Sato et al., 2016)**.

La perturbation microbienne à large spectre médiée par les antibiotiques et la déplétion des SCFA dérivés du microbiote provoquent une hyperactivation des macrophages intestinaux et une expansion des cellules T auxiliaires proinflammatoires et augmentent la sensibilité aux infections (Scott et al., 2018). De plus, le traitement antibiotique permet la prolifération de champignons entériques, favorisant ainsi la polarisation des macrophages pulmonaires M2, qui à son tour favorise l'inflammation allergique des voies respiratoires (Kim et al., 2014).

La perturbation du microbiote par les antibiotiques entraîne une amélioration des réponses cellulaires Th1 spécifiques aux agents pathogènes et de la pathologie tissulaire dans un CX3CR1+manière MNP-dépendante (Kim et al., 2018).

ROR γ t considérablement réduit+ Les Tregs chez les souris GF ou traitées aux antibiotiques favorisent les réponses immunitaires associées au type Th2 et l'inflammation lors d'une infection par les helminthes (Ohnmacht et al., 2015).

Chez les humains présentant une altération préexistante du système immunitaire, l'épuisement du microbiome par des antibiotiques à large spectre entraîne non seulement une diminution de la réponse anticorps à la vaccination contre la grippe saisonnière, mais conduit également à une augmentation des signatures inflammatoires circulatoires et à une altération des profils du métabolome plasmatique (Hagan et al., 2019). Les conséquences à long terme sur la santé des altérations du microbiome induites par les antibiotiques chez l'homme méritent des études observationnelles et des essais cliniques à plus long terme.

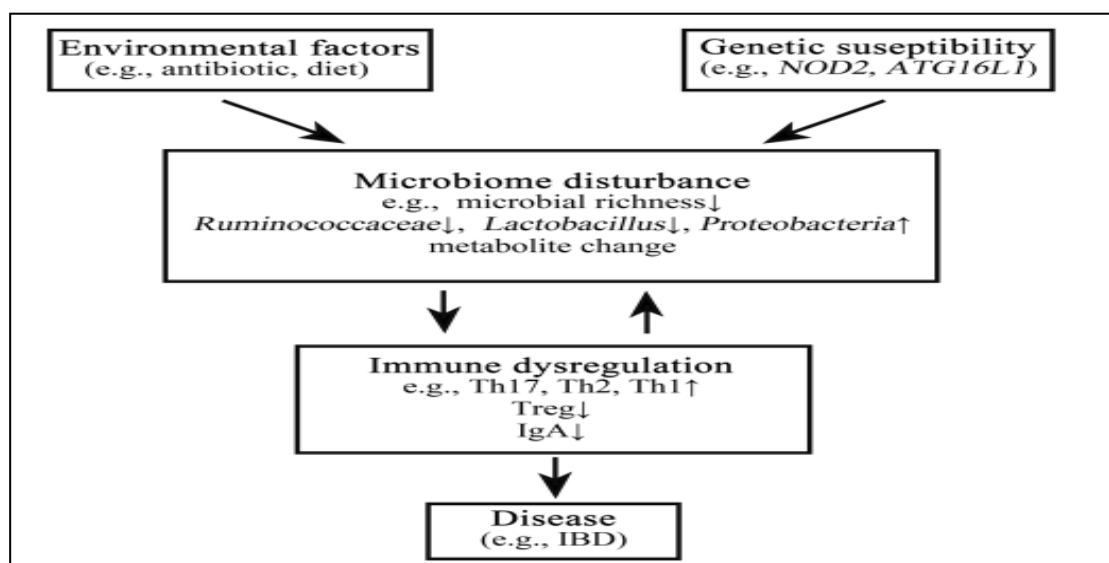


Figure 22. Dérégulation de l'interaction microbiome-immunité dans la maladie.

Sous l'influence de certains facteurs environnementaux et de la susceptibilité génétique de l'hôte, des interactions aberrantes entre le microbiome et le système immunitaire de l'hôte contribuent au développement de divers troubles à médiation immunitaire. Dans les MICI, par exemple, l'utilisation d'antibiotiques ou des changements alimentaires, en présence d'une susceptibilité génétique (p.NOD2 mutation), peut entraîner des altérations de la configuration du microbiome intestinal, y compris une diminution de la richesse et une composition taxonomique et métabolite perturbée. Ces altérations du microbiome sont fortement associées à des réponses immunitaires muqueuses aberrantes, notamment des réponses de type Th17, Th1 et Th2 régulées à la hausse, des cellules T régulatrices à la baisse et une immunité humorale dérégulée. Cela peut finalement entraîner une inflammation intestinale chronique et cliniquement manifeste et des lésions tissulaires.

III.4.2. Altérations du microbiome induites par l'alimentation

Des études récentes ont commencé à démêler les liens entre la modulation du microbiote alimentaire et l'immunité de l'hôte. Les régimes alimentaires de style occidental affectent profondément la configuration du microbiome intestinal et ont un impact négatif sur l'immunité de l'hôte (**Christ et al., 2019**). Par exemple, une alimentation riche en graisses saturées augmente les niveaux d'acide taurocholique, un acide biliaire secondaire, et favorise à son tour l'expansion de *Bilophila wadsworthia*. Ce pathobionte favorise les réponses immunitaires de type Th1 et augmente la susceptibilité à la colite chez IL10^{-/-}-souris.¹³⁷ Un régime alimentaire riche en graisses peut également aggraver la gravité de la maladie dans la colite murine induite chimiquement en perturbant l'homéostasie des DC intestinales, éventuellement en réduisant les niveaux de butyrate et d'acide rétinoïque (**Cheng et al., 2016**).

Les acides gras à longue chaîne alimentaires peuvent exacerber l'auto-immunité dans le système nerveux central (SNC) en modulant le microbiome et le métabolome intestinaux (**Haghikia et al., 2015**). Chez la souris, apport de glucides alimentaires, certains probiotiques,¹⁴⁰ édulcorants artificiels et émulsifiants peut moduler l'immunité et l'inflammation de l'hôte, en partie médiées par des changements de composition du microbiome intestinal. Chez l'homme, les individus avec une plus grande abondance fécale du genre bactérien *Composu* et des niveaux inférieurs de *Coriobactéries* les membres de la famille présentent des taux sériques réduits de la cytokine pro-

inflammatoire IL-6 après une consommation à court terme de grains entiers (**Martinez et al., 2013**).

En plus de la quantité et du contenu alimentaires, il a été récemment démontré que le moment de l'apport alimentaire affecte la composition du microbiome et, par conséquent, l'immunité. Le jeûne intermittent améliore la gravité de la maladie dans un modèle murin d'encéphalomyélite auto-immune et chez les patients atteints de sclérose en plaques par l'équilibrage médié par le microbiote des cellules T productrices d'IL-17 et régulatrices (**Cignarella et al., 2018**).

Dans un modèle de colite murine, un régime imitant le jeûne a exercé un effet protecteur en modulant le microbiome intestinal, y compris une augmentation de Lactobacille (**Rangan et al., 2019**). En revanche, un apport alimentaire inadapté accélère la carcinogenèse colique associée à l'alcool en réduisant le nombre de bactéries productrices de butyrate et d'AGCC, ce qui provoque un déséquilibre muqueux Th17/lymphocytes T régulateurs (**Bishehsari et al., 2020**).

III.4.3 Influences Génétiques

Des études sur des paires de jumeaux ont découvert les noms de certains taxons héréditaires dans la communauté microbienne intestinale. Les travaux menés par Ruth Ley ont révélé, lors de l'analyse des échantillons fécaux de 416 paires de jumeaux de la cohorte TwinsUK, que la génétique humaine a particulièrement influencé l'abondance des bactéries dans famille Christensenellaceae; ces bactéries coexistent avec d'autres bactéries héréditaires et avec des archées méthanogènes. De plus, Christensenellaceae et son groupe de micro-organismes co-occurrents étaient associés à une indice de masse corporelle inférieur. Lorsqu'un microbiote associé à l'obésité humaine et *Christensenella minuta* ont été transférés à des souris sans germes, les consortiums ont modifié le microbiote intestinal et réduit la prise de poids chez les animaux, fournissant preuve que les bactéries intestinales influencées par les gènes humains peuvent avoir un impact sur l'hôte métabolisme et/ou poids corporel (**Goodrich et al., 2014**).

III.4.3.1 Maladies inflammatoires de l'intestin: des maladies génétiques histoire familiale

Plusieurs observations permettent d'avancer que les MII sont au moins en partie des maladies génétiques. En effet, plusieurs études montrent qu'un individu souffrant de MII est plus susceptible d'avoir un membre de sa famille qui en souffre aussi. Des études populationnelles concluent que de 5 à 10% des patients ont un membre de leur famille rapprochée qui souffre aussi de MII (**Binder,1998**). Le risque relatif à la fratrie est estimé

à 30 à 40 fois pour la MC et 10 à 20 fois pour la CU. Les études de jumeaux supportent la théorie d'une contribution génétique, les taux de concordance étant plus élevés pour les monozygotes que pour les dizygotes surtout pour la MC (27-58% vs 0-12%) mais aussi pour la CU (6-15% vs 0-6%) (**Halfvarson, 2011**). De plus, il a été observé que l'âge de diagnostic et le phénotype de la maladie sont aussi héréditaires dans la MC (Bayless et al, 1996). Finalement, des études ont montré que les membres de la famille rapprochée de patients souffrant de MC ou CU sont plus à risque de développer la CU ou la MC, respectivement, c'est-à-dire que certains facteurs de risques génétiques sont communs à ces deux maladies (**Probert et al., 1993**). Mais les MII sont des maladies complexes, d'un point de vue génétique. Une architecture complexe de gènes, d'interactions géniques, d'environnement, d'interactions gènes-environnement est à l'origine de la pleine manifestation du phénotype de la maladie (**Taramelli et Acquati, 2004**). De plus, chaque gène n'a souvent qu'un effet modeste sur le risque de développer la maladie.

III.4.4 Infections

Il semble que les infections puissent aussi perturber le microbiote intestinal et que cela est potentiellement liée à des effets durables sur la fonction immunitaire. Les travaux du laboratoire de Yasmine Belkaid ont montré une association entre un agent infectieux et maladie chronique via le microbiote : après la résolution de l'infection à *Yersinia pseudotuberculosis* chez la souris, les chercheurs ont observé une inflammation et une fuite lymphatique soutenues dans le tissu adipeux mésentérique qui ont entraîné une altération persistante des fonctions immunitaires des muqueuses. Fait important, un microbiote était nécessaire pour que cette réponse inflammatoire soit maintenue (**Fonseca et al., 2015**). Il a ainsi été démontré qu'une seule infection aiguë initie une « cicatrice immunologique » activée par le microbiote intestinal. L'applicabilité de cette recherche à l'homme reste à voir

III.5 Rôle du microbiote intestinal dans la santé humaine

Le microbiome fait référence aux génomes collectifs des micro-organismes dans un environnement particulier, et le microbiote est la communauté des micro-organismes eux-mêmes. le tractus gastro-intestinal humain. (**Bull et Plummer., 2014**).

le microbiome est désormais considéré comme un organe virtuel du corps. Le génome humain se compose d'environ 23 000 gènes, tandis que le microbiome encode plus de trois millions de gènes produisant des milliers de métabolites, qui remplacent de

nombreuses fonctions de l'hôte (Vyas *et al.*, 2012). influençant par conséquent la forme physique, le phénotype et la santé de l'hôte.

III.5.1 Métabolique

Une interaction clé entre l'hôte et le microbiote est le métabolisme de certains substrats alimentaires par le microbiote, comme la fermentation des glucides alimentaires. Le génome humain ne code pas pour les lyases polysaccharidiques et possède un nombre limité de glycosides les hydrolases, groupes d'enzymes qui digèrent les glycanes.

(dont l'amidon résistant, l'inuline, lignine, pectine, cellulose et fructo-oligosaccharides (FOS)) (Rowland *et al.*, 2018).

Au lieu de cela, les glycanes sont dégradés par des bactéries, principalement par des membres de la genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium* et *Ruminococcus*. La fermentation bactérienne des glycanes entraîne la formation d'acides gras à chaîne courte (AGCC) tels que le butyrate, l'acétate et le formiate (Zmora *et al.*, 2019 ; Rowland *et al.*, 2018). Les SCFA peuvent jouer un rôle dans la régulation des acides aminés impliqués dans le traitement et la signalisation métaboliques, et agissent également comme cofacteurs essentiels pour d'autres bactéries (Turnbaugh *et al.*, 2006). Pour exemple, *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*), un micro-organisme clé associé fragile, nécessite de l'acétate, le principal AGCC, pour se développer (Rowland *et al.*, 2018 ; Jackson *et al.*, 2016)

Parce que le microbiote métabolise les substrats non disponibles pour l'hôte, le microbiote joue un rôle dans la récolte d'énergie. Le rôle du microbiote dans la récolte d'énergie est reflété par des observations de souris sans germes, qui n'acquièrent pas bien l'énergie de la nourriture et dont on observe qu'elles prennent du poids suite à la conventionnalisation avec un microbiote intestinal "normal" (Bäckhed *et al.*, 2004), bien que cela a été remis en question par une dernière étude où l'absence d'un microbiote intestinal ne protégeait pas les souris de l'obésité induite par l'alimentation (Fleissner *et al.*, 2010).

Le microbiote est également reconnu pour son rôle dans la biosynthèse des vitamines, y compris plusieurs vitamines B et vitamine K (Kau *et al.*, 2011). Les vitamines B ne sont pas produites en quantités suffisantes chez l'homme et sont essentielles dans les processus métaboliques et synthèse d'ADN. Analyse des génomes

microbiens de 256 microbes communs suggèrent une distribution diversifiée des voies de synthèse de la vitamine B, avec certaines espèces voies d'expression pour plusieurs vitamines B étudiées et d'autres n'en exprimant aucune. Cette suggère une co-évolution des microbes non seulement avec leurs hôtes mais aussi au sein de la communauté microbienne (**Magnúsdóttir et al., 2015**).

Les acides biliaires jouent un rôle dans la régulation métabolique. Les acides biliaires primaires sont synthétisés par la foie, et certains sont métabolisés par le microbiote intestinal en acides biliaires secondaires. Microbien les acides biliaires dérivés ont été impliqués dans la régulation de la lipogenèse et gluconéogenèse dans le foie et les organes périphériques (**Tremaroli et Bäckhed, 2012**).

On a observé qu'ils se lient au récepteur farnésoïde X (FXR), qui abaisse triglycérides plasmatiques et altère l'homéostasie du glucose, et dont l'expression est réduit dans les modèles animaux de diabète (**Lefebvre et al., 2009**). Bile dérivée microbienne les acides peuvent également réguler la dépense énergétique indépendamment de FXR via l'activation du G récepteur couplé aux protéines (GPR - récepteurs transmembranaires eucaryotes) TGR5 (**Tremaroli et Bäckhed, 2012 ; Lefebvre et al., 2009**). Cela souligne encore le rôle de produits dérivés microbiens dans la régulation métabolique.

III.5.2 Résistance et protection

La succession écologique, le processus écologique par lequel un habitat est colonisé, peut façonner l'avenir d'un habitat. Suite à des perturbations de l'écosystème, la les colonisateurs, ou espèces fondatrices, sont généralement favorisés. Cette idée a été appliquée à le microbiote intestinal comme « hypothèse fondatrice ». L'hypothèse stipule que lors de la première les microbes de colonisation accèdent à une ressource limitée, comme un nutriment, qui définit sa niche. Exposition ultérieure à des micro-organismes qui pourraient occuper la même niche se traduit par une exclusion du concurrent et donc une résistance à la colonisation (**Litvak et Baumler, 2019**). D'autres études ont noté que bien qu'il y ait une influence à long terme des espèces fondatrices, l'assemblage de la communauté de succession au fil du temps réagit aux changements environnementaux d'une manière qui atténue les effets de l'exposition initiale (**McCafferty et al., 2013**).

Les produits métaboliques du microbiote peuvent empêcher activement l'expansion pathogène dans le intestin; par exemple, l'acétate prévient l'infection

d'*Escheria coli* dans l'épithélium intestinal (Samuel *et al.*, 2008 ; Kau *et al.*, 2011). De plus, on pense que le microbiote protéger l'hôte de certains contaminants environnementaux ; il y a par exemple suggestion qu'un microbiote intestinal sain limite la charge de plomb en métaux lourds (Jérôme Breton *et al.*, 2013).

III.5.3 Microbiote intestinal et l'obésité

Le microbiote intestinal semble jouer un rôle dans le développement et la progression de l'obésité. La plupart des études sur les personnes en surpoids et obèses montrent une dysbiose caractérisée par une moindre diversité (Manichanh *et al.*, 2006). Les souris sans germes qui reçoivent des microbes fécaux d'humains obèses prennent plus de poids que les souris qui reçoivent des microbes d'humains en bonne santé. (Goodrich *et al.*, 2014). Une vaste étude sur des jumeaux britanniques a révélé que le genre *Christensenella* était rare chez les personnes en surpoids et, lorsqu'il était administré à des souris sans germes, empêchait la prise de poids (Goodrich *et al.*, 2014). Ce microbe et d'autres comme *Akkermansia* sont en corrélation avec des dépôts de graisse viscérale plus faibles (Beaumont *et al.*, 2016).

Bien que la plupart des preuves de confirmation proviennent de modèles de souris, le gain de poids à long terme (sur 10 ans) chez l'homme est corrélé à une faible diversité du microbiote, et cette association est exacerbée par un faible apport en fibres alimentaires (Menni *et al.*, 2017).

La dysbiose du microbiote intestinal favorise probablement l'obésité induite par l'alimentation et les complications métaboliques par une variété de mécanismes, y compris la dérégulation immunitaire, la régulation énergétique altérée, la régulation hormonale intestinale altérée et les mécanismes pro-inflammatoires (tels que les endotoxines lipopolysaccharidiques traversant la barrière intestinale et pénétrant dans la circulation porte) (Baothman *et al.*, 2016).

Le microbiome intestinal est essentiel à de nombreux aspects de la santé humaine, notamment les traits immunitaires, métaboliques et neurocomportementaux. Des preuves à des degrés divers provenant de modèles animaux (De Palma *et al.*, 2017 ; Wiley *et al.*, 2017) et d'études humaines 11-13 soutiennent le rôle du microbiome intestinal dans la santé humaine. Les modèles animaux peuvent aider à identifier les microbes et les mécanismes, bien que la mesure dans laquelle les résultats se traduisent chez l'homme ne soit pas claire. Chez l'homme, les études observationnelles peuvent montrer des

associations transversales entre les microbes et les traits de santé, mais sont limitées par l'incapacité de mesurer la cause et l'effet

Les interactions mutualistes entre le microbiote entérique et l'hôte humain sont essentielles pour la santé (Falony et al., 2016). En effet, le microbiote entérique peut sécréter des molécules (appelées « pharmabiotiques ») (Vogtmann et al., 2016) qui inhibent les agents pathogènes de l'hôte, métabolisent les composés nocifs pour l'hôte en substances moins toxiques et produisent une gamme de composés bioactifs tels que les composés linoléiques conjugués (CLA), les acides gras à chaîne courte (SCFA) et l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) qui peuvent jouer un rôle dans la protection contre les maladies liées au mode de vie telles que le cancer, l'obésité et les maladies cardiovasculaires (Ranjan et al., 2016). De plus, le microbiote contribue à des voies biochimiques que l'homme ne peut pas traiter en raison du manque de gènes appropriés (Zhao et al., 2017), telles que la fermentation de polysaccharides alimentaires indigestes, le métabolisme de protéines complexes et la synthèse de vitamines

(Ranjan et al., 2016 ; Wong et al., 2006). Le microbiote intestinal du nourrisson peut également influencer de manière significative la maturation du système immunitaire au cours des premiers jours de la vie (De Vadder et al., 2013). Remarquablement, la colonisation de l'intestin du nouveau-né joue un rôle clé dans le développement et le réglage fin des réponses immunitaires intestinales. La perturbation de ce processus, due par exemple à une antibiothérapie, peut avoir des conséquences à long terme sur la santé, entraînant des troubles immunitaires tels que l'eczéma, la rhinite allergique et les maladies inflammatoires de l'intestin (MICI), (Frost et al., 2014).

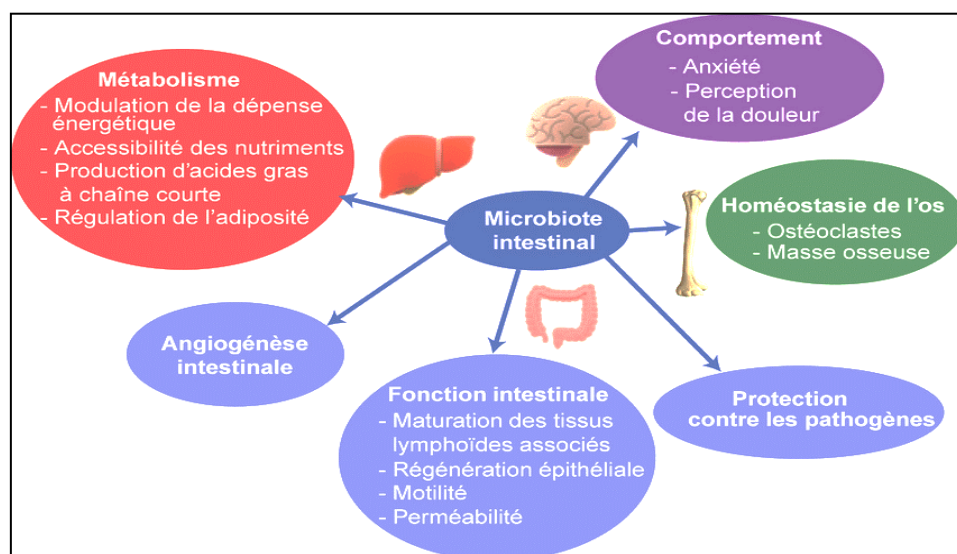


Figure 23. Microbiote intestinal et ses rôles multiples chez son hôte adaptée (Sommer et Backhed 2013).

Il participe à la digestion des aliments. Le microbiote fermente les restes alimentaires indigestes dans le côlon. Il nous permet également d'absorber certains nutriments et de synthétiser les acides gras à chaîne courte indispensables à notre santé, ainsi que les vitamines K, B12 et B8. Il régule également l'absorption des acides gras, du calcium et même du magnésium (**Sender et al., 2016**).

Le microbiote intestinal remplit **un rôle de protecteur** : il colonise le système digestif et prend ainsi l'espace qui pourrait autrement servir au développement de cellules pathogènes. Il opère un tri naturel entre les micro-organismes bénéfiques et ceux qui peuvent être néfastes pour la santé. Par ailleurs, le microbiote **contribue au maintien d'une muqueuse intestinale en bonne santé** pour assurer son double rôle d'absorption des nutriments et de barrière à l'invasion de substances pathogènes, irritantes ou allergènes (**Burcelin et al., 2016**).

III.5.4 Perspectives

Au cours des dernières années, il y a eu une augmentation de la recherche sur le microbiome et l'accent a commencé à se déplacer des études corrélationnelles vers des études mécanistes et cliniques pour comprendre comment le microbiome est capable d'influencer la santé humaine et la progression de la maladie (**Fischbach, 2018**). Cependant, ce n'est pas sans ses limites et ses améliorations doivent être apportées afin d'améliorer notre compréhension du microbiome et de pouvoir traduire cette compréhension pour nous aider à moduler le microbiome pour améliorer notre santé.

Compte tenu de la diversité, de la variabilité et de la complexité du microbiome intestinal, les interactions entre les espèces microbiennes peuvent jouer un rôle clé dans la santé humaine par opposition à la seule influence d'une seule espèce ou souche (**Kashyap et al., 2017**) et doivent être prises en compte lors de l'étude des voies mécanistes (**Joglekar et Segre, 2017**).

Une approche «ascendante», basée sur l'analyse des interactions par paires dans une communauté de microbiomes intestinaux synthétiques à l'aide d'un modèle Lotka-Volterra généralisé, a été suggérée pour compléter la compréhension de l'écologie microbienne intestinale et de la manière dont les vastes communautés bactériennes interagissent les unes avec les autres. L'utilisation d'interactions par paires peut être plus appropriée pour prédire la capacité de probiotiques spécifiques à persister dans l'intestin, ou pour déterminer les effets de l'élimination d'une espèce particulière, par

opposition aux interactions d'ordre supérieur. (Abreu et al.,2018 ; Venturelli et al., 2018). Les probiotiques synbiotiques et multi-souches ont également été proposés pour conférer des avantages plus durables par rapport aux probiotiques monospécifiques souvent utilisés dans les études actuelles et pourraient constituer un domaine de recherche intéressant à l'avenir (Bambury et al., 2018).

Le « Saint Graal » de la recherche sur le microbiome est de pouvoir manipuler le microbiome de manière sûre et efficace pour améliorer la santé. La capacité d'adapter les thérapies en fonction du microbiome personnel d'un individu, tout en tenant compte des variations interindividuelles, est un idéal noble mais en fait un bras indispensable de la médecine personnalisée (Kashyap et al., 2017). Bien que séduisante, la promesse des thérapies basées sur le microbiome est encore limitée par le manque de littérature explorant les relations causales entre le microbiome et l'état de la maladie (Mimee et al.,2016). De plus, bien que les effets des probiotiques aient été explorés dans des études cliniques, les rapports sur les méfaits font encore défaut et ne permettent pas de déterminer la sécurité des interventions probiotiques (Bafeta et al., 2018).

Le rôle fonctionnel du microbiome intestinal chez l'homme a été démontré à l'aide de la transplantation de microbiote fécal (DeFilipp et al., 2018). Cette procédure est efficace dans les cas d'infection sévère à *Clostridium difficile* réfractaire aux médicaments et est maintenant couramment utilisée à cette fin dans le monde entier (Schneider et al., 2018). Pour d'autres pathologies, les greffes fécales ne sont pas encore des pratiques cliniques mais ont été explorées (Cammara et al., 2017).

Par exemple, la transplantation de matières fécales d'un donneur sain maigre (allogénique) à des receveurs atteints du syndrome métabolique a entraîné une meilleure sensibilité à l'insuline, accompagnée d'une composition altérée du microbiote, que l'utilisation de matières fécales autologues (Kootte et al., 2017).

Les effets néfastes sur le microbiome des médicaments et des ingrédients alimentaires transformés ne peuvent plus être ignorés. Compte tenu des lacunes actuelles dans les connaissances, nous avons besoin de preuves cliniques pouvant être traduites en pratique clinique, idéalement par le biais d'études contrôlées randomisées qui utilisent des matrices cohérentes de prébiotiques ou de probiotiques ou une transplantation de microbiote fécal pour évaluer les changements dans la composition du microbiote intestinal et les résultats pour la santé.

Conclusion

VII. Conclusion

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

Le microbiote n'est pas distribué de façon homogène, sa composition varie tout au long du tractus et se densifie de l'intestin grêle au côlon

Le microbiote intestinal humain est composé de 10^{14} bactéries ainsi que d'autres micro-organismes comme les virus, les champignons et les archées.

L'étude du microbiote intestinal a dévoilé le rôle fondamental qu'il joue dans la physiologie intestinale mais aussi dans la santé humaine de façon plus générale. Dans ce travail, nous exposons la structure et le rôle du microbiote intestinal ainsi que son implication en pathologie humaine et d'autres phénomènes biologiques. Après la colonisation bactérienne du tube digestif chez le nourrisson, la composition du microbiote intestinal est unique à chaque individu.

Des approches culture-indépendantes et, plus récemment, l'avènement du séquençage haut débit ont permis de décrire précisément la structure et la diversité du microbiote intestinal ainsi que son altération en pathologie. Le microbiote intestinal est impliqué dans la maturation du système immunitaire et dans de nombreuses voies métaboliques fondamentales. Le déséquilibre des populations du microbiote intestinal ou dysbiose a des conséquences fonctionnelles importantes et est impliqué dans de nombreuses pathologies.

L'impact du microbiote sur le développement fait aujourd'hui l'objet de travaux de plus en plus nombreux. Ceux-ci démontrent le caractère dynamique du dialogue entre l'hôte et son microbiote, et suggèrent de façon inattendue le rôle prépondérant d'un nombre limité de bactéries dans l'activation du système immunitaire, notamment dans l'intestin. Le microbiote intestinal remplit un rôle de protecteur : il colonise le système digestif et prend ainsi l'espace qui pourrait autrement servir comme un tri naturel entre les micro-organismes bénéfiques et ceux qui peuvent être néfastes pour la santé.

Compte tenu des lacunes actuelles dans les connaissances, le besoin de preuves cliniques pouvant être traduites en pratique clinique, idéalement par le biais d'études contrôlées randomisées qui utilisent des matrices cohérentes de prébiotiques ou de probiotiques ou une transplantation de microbiote fécal pour évaluer les changements dans la composition du microbiote intestinal et les résultats pour la santé.

Références bibliographiques

Adachi S, Yoshida H, Kataoka H, Nishikawa S. Three distinctive steps in Peyer's patch formation of murine embryo. *Int Immunol.* (1997) 9:507–14. doi: 10.1093/intimm/9.4.507

Ahuja, M. et al. Orai1-mediated antimicrobial secretion from pancreatic acini shapes the gut microbiome and regulates gut innate immunity. *Cell Metab.* 25, 635–646 (2017).

Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *J Cell.* (2006) 124:783–801. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.015

Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473:174-80.

ASP, Agence Science Presse. Actualité en périnatalité, A la découverte des cellules du lait maternel. Agence Science Presse. [En ligne] (octobre 2013). 99

Balmer ML, Schürch CM, Saito Y, Geuking MB, Li H, Cuenca M, et al. Microbiota-derived compounds drive steady-state granulopoiesis via MyD88/TICAM signaling. *J Immunol.* (2014) 193:5273–83. doi: 10.4049/jimmunol.1400762

Bansal, T., Alaniz, R. C., Wood, T. K. & Jayaraman, A. The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 228–233 (2010).

Barrett E, R.R., O'Toole PW, Fitzgerald GF, Stanton C, A-aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J Appl Microbiol*, 2012. 113: p. 411–7

Beaumont M, Goodrich JK, Jackson MA, et al. Heritable components of the human fecal microbiome are associated with visceral fat. *Genome Biol* 2016;17:189. doi:10.1186/s13059-016-1052-7

Becattini, S., Taur, Y. & Pamer, E. G. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends Mol. Med.* 22, 458–478 (2016).

Belkaid, Y. & Naik, S. Compartmentalized and systemic control of tissue immunity by commensals. *Nat. Immunol.* 14, 646–653 (2013).

Bernink JH, Krabbendam L, Germar K, de Jong E, Gronke K, Kofoed-Nielsen M, et al. Interleukin-12 and -23 control plasticity of CD127+ group 1 and group 3 innate lymphoid cells in the intestinal lamina propria. *Immunity.* (2015) 43:146–60. doi: 10.1016/j.immuni.2015.06.019

Bernink JH, Peters CP, Munneke M, Te Velde AA, Meijer SL, Weijer K, et al. Human type 1 innate lymphoid cells accumulate in inflamed mucosal tissues. *Nat Immunol.* (2013) 14:221. doi: 10.1038/ni.2534

Beutler BA (2009) TLRs and innate immunity. *Blood* 113:1399–1407. doi: 10.1182/blood-2008-07-019307

Bevins, C. L. & Salzman, N. H. Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 356–368 (2011).

BIOCODEX <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/intestinal>

Bishehsari, F. et al. Abnormal eating patterns cause circadian disruption and promote alcohol-associated colon carcinogenesis. *Cell Mol. Gastroenterol. Hepatol.* 9, 219–237 (2020)

Björklund ÅK, Forkel M, Picelli S, Konya V, Theorell J, Friberg D, et al. The heterogeneity of human CD127+ innate lymphoid cells revealed by singlecell RNA sequencing. *Nat Immunol.* (2016) 17:451. doi: 10.1038/ni.3368

BJORKSTEN B., NAABER P. et al. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. Linköping, Sweden : Blackwell Science Ltd, 1999.

Bourdichon, F. et al. Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. *International journal of food microbiology* 154, 87–97 (2012).

Bourgault, A M, J E Rosenblatt, et R H Fitzgerald. 1980. Peptococcus Magnus: a Significant Human Pathogen . *Annals of Internal Medicine* 93 (2) (août): 244-248.

Brandes R, Lang F, Schmidt R (Ed). *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie.* Berlin: Springer; 2019

Brandtzaeg P, Kiyono H, Pabst R, Russell M. Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. *Mucosal Immunol.* (2008) 1:31. doi: 10.1038/mi.2007.9

Bull MJ, Plummer NT. Part 1: The human gut microbiome in health and disease. *Integr Med (Encinitas)* 2014;13:17-22.

Burcelin R., Zitvogel L., Fond G., Sokol H.Inserm, la science pour la santé. 2016 [consulté le 1 décembre 2020]. Disponible : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>.

Burcelin, R., Nicolas, S. & Blasco-Baque, V., 2016. Microbiotes et maladies métaboliques - De nouveaux concepts pour de nouvelles stratégies thérapeutiques. *médecine/sciences*, 32(11), pp. 952-960.

Byndloss MX, Olsan EE, Rivera-Chávez F, et al. Microbiota-activated PPAR- γ signaling inhibits dysbiotic Enterobacteriaceae expansion. *Science* 2017;357:570-5. doi:10.1126/science.aam9949

Caligiuri MA. Human natural killer cells. Blood. (2008) 112:461– 9. doi: 10.1182/blood-2007-09-077438

Carvalho, F. A. et al. Transient inability to manage proteobacteria promotes chronic gut inflammation in TLR5-deficient mice. *Cell Host Microbe* 12, 139–152 (2012).

Cerovic V, Bain CC, Mowat AM, Milling SW. Intestinal macrophages and dendritic cells: what’s the difference? *Trends Immunol.* (2014) 35:270– 7. doi: 10.1016/j.it.2014.04.003

Cheng, L. et al. High fat diet exacerbates dextran sulfate sodium induced colitis through disturbing mucosal dendritic cell homeostasis. *Int. Immunopharmacol.* 40, 1–10 (2016).

Christ, A., Lauterbach, M. & Latz, E. Western diet and the immune system: An inflammatory connection. *Immunity* 51, 794–811 (2019).

Cignarella, F. et al. Intermittent fasting confers protection in CNS autoimmunity by altering the gut microbiota. *Cell Metab.* 27, 1222–1235 (2018).

CINQUIN, C. Développement et validation d'un nouveau modèle de fermentation colique in vitro avec cellules immobilisées. Québec : Thèse de recherche, 2005.

Clark WR., W., 2008. *In defense of self. How the immune system really works.* Oxford: Oxford University Press, pp.3,4.

Clin . Métabolisme fermentaire par le microbiote intestinal humain. *Gastroenterol Clin Biol* 2010. 34: p. S16–22.

CNGOF. Ecologie bactérienne vaginale : nature, exploration et prise en charge des déséquilibres 2006. [En ligne] Disponible sur : www.cngof.asso.fr/d_livres/2006_GO_005_quentin.pdf. Consulté le 05/10/2017

Colonna M. Innate lymphoid cells: diversity, plasticity, and unique functions in immunity. *Immunity.* (2018) 48:1104– 17. doi: 10.1016/j.immuni.2018.05.013

Coombes JL, Siddiqui KR, Arancibia-Cárcamo CV, Hall J, Sun C-M, Belkaid Y, et al. A functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T cells via a TGF- β -and retinoic acid– dependent mechanism. *J Exp Med.* (2007) 204:1757–64. doi: 10.1084/jem.20070590

De Palma G, Lynch MD, Lu J, et al. Transplantation of fecal microbiota from patients with irritable bowel syndrome alters gut function and behavior in recipient mice. *Sci Transl Med* 2017;9:9. doi:10.1126/scitranslmed.aaf6397

De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell* 2014;156:84-96. doi:10.1016/j.cell.2013.12.016

Devkota, S. et al. Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in *Il10*^{-/-} mice. *Nature* 487, 104–108 (2012).

Dolié, E., 2018. Toulouse(UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES): s.n.

Doré J, C.G., The human intestinal microbiota. *Gastroenterol Clin Biol*, 2010. 34: p.(Suppl. 1):S7–15

Doré J, Corthier G. The human intestinal microbiota. *Gastroenterol Clin Biol* 2010;34(Suppl. 1):S7-15.

Doré J., et al. The human gut microbiome as source of innovation for health: Which physiological and therapeutic outcomes could we expect? *Therapies.* 2017; 72 :21-38.

Dubourg G, Lagier JC, Armougom F, et al. The gut microbiota of a patient with resistant tuberculosis is more comprehensively studied by culturomics than by metagenomics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013;32(5):637-45.

Dubourg G, Lagier JC, Robert C, et al. Culturomics and pyrosequencing evidence of the reduction in gut microbiota diversity in patients with broad-spectrum antibiotics. *Int J Antimicrob Agents* 2014;44(2): 117-24

Dunkley M, Husband A. Distribution and functional characteristics of antigen-specific helper T cells arising after Peyer's patch immunization. *J Immunol.* (1987) 61:475.

Ehmann, D. et al. Paneth cell α -defensins HD-5 and HD-6 display differential degradation into active antimicrobial fragments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 116, 3746–3751 (2019).

El Kaoutari A, Armougom F, Raoult D, Henrissat B. Le microbiote intestinal et la digestion des polysaccharides. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 259-65.

Enqvist M, Ask EH, Forslund E, Carlsten M, Abrahamsen G, Béziat V, et al. Coordinated expression of DNAM-1 and LFA-1 in educated NK cells. *J Immunol.* (2015) 194:4518–27. doi: 10.4049/jimmunol.1401972

Erkeller-Yuksel F, Lydyard P, Isenberg D. Lack of NK cells in lupus patients with renal involvement. *Lupus.* (1997) 6:708–12. doi: 10.1177/096120339700600905

Ettwig KF, Butler MK, Le Paslier D, et al. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature* 2010 ; 464 : 543-8.

Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science* 2016;352:560-4. doi:10.1126/science.aad3503

Faust K, Sathirapongsasuti JF, Izard J, Segata N, Gevers D, Raes J, et al. Microbial co-occurrence relationships in the human microbiome. *PLoS Comput Biol* 2012 ;8 :e1002606.

Finegold SM, Attebery HR, Sutter VL. Effect of diet on human fecal flora : comparison of Japanese and American diets. *Am J Clin Nutr* 1974;27(12):1456-69.

Fisher, Katie, et C. Phillips. 2009. The Ecology, Epidemiology and Virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* 155 (6): 1749-1757.

Frayssinhes, L. (2017) Implication du microbiote intestinal dans la santé et enjeux thérapeutiques. Thèse du diplôme docteur en Pharmacie, France : Université Toulouse III Paul Sabatier, 92p

Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun* 2014;5:3611. doi:10.1038/ncomms4611

Fuchs A, Vermi W, Lee JS, Lonardi S, Gilfillan S, Newberry RD, et al. Intraepithelial type 1 innate lymphoid cells are a unique subset of IL12- and IL-15-responsive IFN- γ -producing cells. *Immunity.* (2013) 38:769– 81. doi: 10.1016/j.immuni.2013.02.010

FUJIMURA K.E., SLUSHER N.A. et al. Role of the gut microbiota in defining human health. California, San Francisco : NIH Public Access, 2011.

Ganal SC, Sanos SL, Kalfass C, Oberle K, Johner C, Kirschning C, et al. Priming of natural killer cells by nonmucosal mononuclear phagocytes requires instructive signals from commensal microbiota. *Immunity*. (2012) 37:171–86. doi: 10.1016/j.immuni.2012.05.020

Germond, J.E, O. Mamin, et B. Mollet. 2002. Species Specific Identification of Nine Human Bifidobacterium spp. in Feces . *Systematic and Applied Microbiology* 25 (4):536-543.

Giraffa, Giorgio. 2003. Functionality of enterococci in dairy products . *International Journal of Food Microbiology* 88 (2–3): 215-222.

Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, et al. Human genetics shape the gut microbiome. *Cell* 2014;159:789-99. doi:10.1016/j. cell.2014.09.053 .

Goto Y, Obata T, Kunisawa J, Sato S, Ivanov II, Lamichhane A, et al. Innate lymphoid cells regulate intestinal epithelial cell glycosylation. Science. (2014) 345:1254009. doi: 10.1126/science.1254009

Guo X, Liang Y, Zhang Y, Lasorella A, Kee BL, Fu Y-X. Innate lymphoid cells control early colonization resistance against intestinal pathogens through ID2-dependent regulation of the microbiota. *Immunity*. (2015) 42:731– 43. doi: 10.1016/j.immuni.2015.03.012

Gury-BenAri M, Thaiss CA, Serafini N, Winter DR, Giladi A, LaraAstiaso D, et al. The spectrum and regulatory landscape of intestinal innate lymphoid cells are shaped by the microbiome. *Cell*. (2016) 166:1231–46 e13. doi: 10.1016/j.cell.2016.07.043

Hagan, T. et al. Antibiotics-driven gut microbiome perturbation alters immunity to vaccines in humans. *Cell* 178, 1313–1328 (2019).

Haghikia, A. et al. Dietary fatty acids directly impact central nervous system autoimmunity via the small intestine. *Immunity* 43, 817–829 (2015).

Hakansson A, Molin G. Gut microbiota and inflammation. *Nutrients* 2011;3:637-82. doi:10.3390/nu3060637

Handelsman J. 2004. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68:669-685.

He, B. et al. Resetting microbiota by *Lactobacillus reuteri* inhibits T reg deficiency-induced autoimmunity via adenosine A2A receptors. *J. Exp. Med.* 214, 107–123 (2017).

Hepworth MR, Fung TC, Masur SH, Kelsen JR, McConnell FM, Dubrot J, et al. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria–specific CD4+ T cells. *Science*. (2015) 348:1031– 5. doi: 10.1126/science.aaa4812

Hepworth MR, Monticelli LA, Fung TC, Ziegler CG, Grunberg S, Sinha R, et al. Innate lymphoid cells regulate CD4+ T-cell responses to intestinal commensal bacteria. *Nature*. (2013) 498:113. doi: 10.1038/nature12240

Hoyler T, Klose CS, Souabni A, Turqueti-Neves A, Pfeifer D, Rawlins EL, et al. The transcription factor GATA-3 controls cell fate and maintenance of type 2 innate lymphoid cells. *Immunity*. (2012) 37:634–48. doi: 10.1016/j.immuni.2012.06.020

Huang Q, Seillet C, Belz GT. Shaping innate lymphoid cell diversity. *Front Immunol*. (2017) 8:1569. doi: 10.3389/fimmu.2017.01569

Huang Z, Fu B, Zheng SG, Li X, Sun R, Tian Z, et al. Involvement of CD226+ NK cells in immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Immunol*. (2011) 186:3421–31. doi: 10.4049/jimmunol.1000569

Human Microbiome Project Consortium e. a. (2012b). "Structure, function and diversity of the healthy human microbiome." *Nature* 486(7402): 207-214.

J. H. L. Playfair. Immunology t a Glance. Blackwell Scientific, 1992

Janda JM, Abbott SL. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory : pluses, perils, and pitfalls. *J Clin Microbiol* 2007;45(9):2761-4.

Jeanne Kelley Lydia Schindler, Donna Kerrigan. Understanding the immune system. <http://newscenter.cancer.gov/sciencebehind/immune/immune01.htm>, 2002.

Jean-Victor Lacavé-Lapalun ., 2013 . *Réponse immunitaire induite par l'irradiation colorectale*. UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE,pp. 46-55.

Jetten MS, Strous M, van de Pas-Schoonen KT, et al. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiol Rev* 1998 ; 22 : 421-37.

Jiao Y, Huntington ND, Belz GT, Seillet C. Type 1 innate lymphoid cell biology: lessons learnt from natural killer cells. *Front Immunol*. (2016) 7:426. doi: 10.3389/fimmu.2016.00426

Johansson-Lindbom B, Svensson M, Pabst O, Palmqvist C, Marquez G, Förster R, et al. Functional specialization of gut CD103+ dendritic cells in the regulation of tissue-selective T cell homing. *J Exp Med*. (2005) 202:1063–73. doi: 10.1084/jem.20051100

Julius M. Cruse and Robert E. Lewis. *Illustrated Dictionary of Immunology*. CRC Press, 1995.

Kapel et al. (2014) *Practical implementation of fecal transplantation*. *Clin Microbiol Infect*. 20(11):1098-1105 ; French Group of Faecal microbiota Transplantation (FGFT) (2016) *Faecal microbiota transplantation in recurrent Clostridium difficile infection: Recommendations from the French Group of Faecal microbiota Transplantation*. *Sokol Dig LiverDis*.48(3):242-24

Kawai T, Akira S (2011) Toll-like Receptors and Their Crosstalk with Other Innate Receptors i *Infection and Immunity*. *Immunity* 34:637–650. doi: 10.1016/j.immuni.2011.05.006

Kee, Vicki R. 2012. *Clostridium Difficile Infection in Older Adults: A Review and Update on Its Management* . *The American Journal of Geriatric Pharmacotherapy* 10 (1) (février): 14-24.

Khosravi A, Yáñez A, Price JG, Chow A, Merad M, Goodridge HS, et al. Gut microbiota promote hematopoiesis to control bacterial infection. *Cell Host Microbe*. (2014) 15:374–81. doi: 10.1016/j.chom.2014.02.006

Kim, M. et al. Critical Role for the microbiota in CX3CR1(+) intestinal mononuclear phagocyte regulation of intestinal T cell responses. *Immunity* 49, 151–163 (2018).

Kim, Y. G. et al. Gut dysbiosis promotes M2 macrophage polarization and allergic airway inflammation via fungi-induced PGE(2). *Cell Host Microbe* 15, 95–102 (2014).

Kiss EA, Vonarbourg C, Kopfmann S, Hobeika E, Finke D, Esser C, et al. Natural aryl hydrocarbon receptor ligands control organogenesis of intestinal lymphoid follicles. *Science*. (2011) 334:1561–5. doi: 10.1126/science.1214914

Kiyono H, McGHEE JR, Mosteller LM, Eldridge J, Koopman W, Kearney J, et al. Murine Peyer's patch T cell clones. Characterization of antigenspecific helper T cells for immunoglobulin A responses. *J Exp Med*. (1982) 156:1115–30. doi: 10.1084/jem.156.4.1115

Klose CS, Flach M, Möhle L, Rogell L, Hoyler T, Ebert K, et al. Differentiation of type 1 ILCs from a common progenitor to all helper-like innate lymphoid cell lineages. *Cell*. (2014) 157:340–56. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.030

Konrad, A., Cong, Y., Duck, W., Borlaza, R. & Elson, C. O. Tight mucosal compartmentation of the murine immune response to antigens of the enteric microbiota. *Gastroenterology* 130, 2050–2059 (2006).

Kruglov AA, Grivennikov SI, Kuprash DV, Winsauer C, Prepens S, Seleznik GM, et al. Nonredundant function of soluble LT α 3 produced by innate lymphoid cells in intestinal homeostasis. *Science*. (2013) 342:1243–6. doi: 10.1126/science.1243364

Kurakawa, Takashi, Hiroyuki Kubota, Hirokazu Tsuji, Kazunori Matsuda, Takuya Takahashi, Thandavarayan Ramamurthy, G. Balakrish Nair, Yoshifumi Takeda, et Koji Nomoto. 2013. Intestinal Enterobacteriaceae and Escherichia coli populations in Japanese adults demonstrated by the reverse transcription-quantitative PCR and the clone library analyses . *Journal of Microbiological Methods* 92 (2) (février 15): 213-219.

Kyrpides NC Fifteen years of microbial genomics: meeting the challenges and fulfilling the dream. *Nat Biotechnol* 2009 ; 27 : 627-32

L. Zafrani · G. Monneret · pour la Commission de Recherche Translationnelle de la SRLF
Reçu le 24 septembre 2017 ; accepté le 11 octobre 2017

Lagier JC, Million M, Hugon P, et al. Human gut microbiota : repertoire and variations. *Front Cell Infect Microbiol* 2012;2:136.

Lagier JC, Raoult D. *Culturomics* : une méthode d'étude du microbiote humain. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 923-5

LANDMAN C et QUEVRAIN E. Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *Rev Med Interne* (2015).

Lavin Y, Mortha A, Rahman A, Merad M. Regulation of macrophage development and function in peripheral tissues. *Nat Rev Immunol.* (2015) 15:731. doi: 10.1038/nri3920

Levy M, Kolodziejczyk AA, Thaiss CA, Elinav E. **Dysbiosis** and the immune system. *Nat Rev Immunol* 2017;17:219-32. doi:10.1038/nri.2017.7

Ley RE. **Obesity and the human microbiome.** *Curr Opin Gastroenterol* 2010;26(1):5-11.

Li J, Jia H, Cai X, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol* 2014 ; 32 : 834-41

Liu, C., S. M. Finegold, Y. Song, et P. A. Lawson. 2008. Reclassification of *Clostridium coccoides*, *Ruminococcus hansenii*, *Ruminococcus hydrogenotrophicus*, *Ruminococcus luti*, *Ruminococcus productus* and *Ruminococcus schinkii* as *Blautia coccoides* gen. nov., comb. nov., *Blautia hansenii* comb. nov., *Blautia hydrogenotrophica* comb. nov., *Blautia luti* comb. nov., *Blautia producta* comb. nov., *Blautia schinkii* comb. nov. and description of *Blautia wexlerae* sp. nov., isolated from human faeces . *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 58 (8) (août 1): 1896-1902.

Louis P, H.G., Flint HJ, The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat Rev Microbiol*, 2014. 12: p. 661–72.

Ly NP, Litonjua A, Gold DR, Celedón JC. Gut microbiota, probiotics, and vitamin D: interrelated exposures influencing allergy, asthma, and obesity? *J Allergy Clin Immunol.* (2011) 127:1087–94. doi: 10.1016/j.jaci.2011.02.015

Mabbott NA, Donaldson DS, Ohno H, Williams IR, Mahajan A. **Microfold (M) cells:** important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Mucosal Immunol.* (2013) 6:666. doi: 10.1038/mi.2013.30

Macpherson, A. J. & Uhr, T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 303, 1662–1665 (2004).

Marteau P, S.P., Microbiote intestinal. *EMC - Gastro-entérologi*, 2017. 12: p. 1-8.

Martinez, I. et al. Gut microbiome composition is linked to whole grain-induced immunological improvements. *ISME J.* 7, 269–280 (2013).

Mazmanian, S. K., Round, J. L. & Kasper, D. L. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature* 453, 620–625 (2008).

Mc Loughlin R., PhD et al. Influence of gastrointestinal commensal bacteria on the immune responses that mediate allergy and asthma. *Dublin : American Academy of Allergy, Asthma and Immunology*, 2011

Mebius RE, Rennert P, Weissman IL. Developing lymph nodes collect CD4+ CD3- LTβ+ cells that can differentiate to APC, NK cells, and follicular cells but not T or B cells. *Immunity*. (1997) 7:493–504. doi: 10.1016/S1074-7613(00)80371-4

Mjösberg J, Bernink J, Golebski K, Karrich JJ, Peters CP, Blom B, et al. The transcription factor GATA3 is essential for the function of human type 2 innate lymphoid cells. *Immunity*. (2012) 37:649–59. doi: 10.1016/j.immuni.2012.08.015

Moore, W E, et L V Holdeman. 1974. Human Fecal Flora: The Normal Flora of 20 Japanese Hawaiians . *Applied Microbiology* 27 (5) (mai): 961-979.

Mora JR, Iwata M, Eksteen B, Song S-Y, Junt T, Senman B, et al. Generation of gut-homing IgA-secreting B cells by intestinal dendritic cells. *Science*. (2006) 314:1157–60. doi: 10.1126/science.1132742

Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol*. (2003) 3:331–41. doi: 10.1038/nri1057

Mowat, A. M. To respond or not to respond - a personal perspective of intestinal tolerance. *Nat. Rev. Immunol*. 18, 405–415 (2018).

Ohnmacht, C. et al. MUCOSAL IMMUNOLOGY. The microbiota regulates type 2 immunity through RORγ⁺ T cells. *Science* 349, 989–993 (2015).

Pédagogie, Gnis. Les Marqueurs RFLP. Gnis Pédagogie. [En ligne] 2013. <http://www.gnis-pedagogie.org/biotechnologie-amelioration-marqueur-rflp.html> (octobre2013).

Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*. (2014) 14:141. doi: 10.1038/nri3608

Peterson, D. A., McNulty, N. P., Guruge, J. L. & Gordon, J. I. IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. *Cell Host Microbe* 2, 328–339 (2007).

PFEFFERLE P. I., PRESCOTT S. L., PhD et al. Microbial influence on tolerance and opportunities for intervention with prebiotics/probiotics and bacterial lysates. Marburg, Lübeck and Perth : Clinical reviews in allergy and immunology, 2013.

Pfleiderer A, Lagier JC, Armougom F, et al. Culturomics identified 11 new bacterial species from a single anorexia nervosa stool sample. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013;32(11):1471-81.

Pickert G, Neufert C, Leppkes M, Zheng Y, Wittkopf N, Warntjen M, et al. STAT3 links IL-22 signaling in intestinal epithelial cells to mucosal wound healing. *J Exp Med*. (2009) 206:1465–72. doi: 10.1084/jem.20082683

Pineau I, Lacroix S (2009) Endogenous signals initiating inflammation in the injured nervous system. *Glia* 57:351–361. doi: 10.1002/glia.20763

Price, A. E. et al. A map of Toll-like receptor expression in the intestinal epithelium reveals distinct spatial, cell type-specific, and temporal patterns. *Immunity* 49, 560–575 (2018).

Puxeddu I, Bongiorno F, Chimenti D, Bombardieri S, Moretta A, Bottino C, et al. Cell surface expression of activating receptors and co-receptors on peripheral blood NK cells in systemic autoimmune diseases. *Scand J Rheumatol.* (2012) 41:298–304. doi: 10.3109/03009742.2011.648657

Qin, J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464, 59–65 (2010).

Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., Nielsen, T., et al. (2010b). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464(7285), 59–65.

Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D. R., Li, J., Xu, J., Li, S., Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., Xie, Y., Tap, J., Lepage, P., Bertalan, M., Batto, J. M., Hansen, T., Le Paslier, D., Linneberg, A., Nielsen, H. B., Pelletier, E., Renault, P., Sicheritz-Ponten, T., Turner, K., Zhu, H., Yu, C., Li, S., Jian, M., Zhou, Y., Li, Y., Zhang, X., Li, S., Qin, N., Yang, H., Wang, J., Brunak, S., Doré, J., Guarner, F., Kristiansen, K., Pedersen, O., Parkhill, J., Weissenbach, J., MetaHIT, C., Bork, P., Ehrlich, S. D. and Wang, J. 2010. "A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing." *Nature* 464(7285): 59-65.

Rajilic-Stojanovic M, Smidt H, de Vos WM. Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. *Environ Microbiol* 2007;9(9):2125-36.

Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S. & Medzhitov, R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 118, 229–241 (2004).

Rangan, P. et al. Fasting-mimicking diet modulates microbiota and promotes intestinal regeneration to reduce inflammatory bowel disease pathology. *Cell Rep.* 26, 2704–2719 (2019).

Ranjan R, Rani A, Metwally A, McGee HS, Perkins DL. Analysis of the microbiome: Advantages of whole genome shotgun versus 16S amplicon sequencing. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;469:967-77. doi:10.1016/j.bbrc.2015.12.083

Rath CM, Dorrestein PC. The bacterial chemical repertoire mediates metabolic exchange within gut microbiomes. *Curr Opin Microbiol* 2012;15:147-54. doi:10.1016/j.mib.2011.12.009

Redondo, L.M., M. Farber, A. Venzano, B.H. Jost, Y.R. Parma, et M.E. Fernandez-Miyakawa. 2013. Sudden death syndrome in adult cows associated with *Clostridium perfringens* type E. *Anaerobe* 20 (avril): 1-4.

Reinert P., Leroux M., N’Guyen G., et Gaudichon C. 1997. Influence de la consommation de laits fermentés au *Lactobacillus casei* (Danone strain 001) sur les diarrhées de l’enfant sain en crèche. *Archives de Pédiatrie* 3 (12): 1291-1291.

Rizzello V, Bonaccorsi I, Dongarra ML, Fink LN, Ferlazzo G. Role of natural killer and dendritic cell crosstalk in immunomodulation by commensal bacteria probiotics. *BioMed Res Int.* (2011) 2011:473097. doi: 10.1155/2011/473097

Roediger B, Kyle R, Yip KH, Sumaria N, Guy TV, Kim BS, et al. Cutaneous immunosurveillance and regulation of inflammation by group 2 innate lymphoid cells. *Nat Immunol.* (2013) 14:564. doi: 10.1038/ni.2584

Rosselló-Mora, R., & Amann, R. (2001). The species concept for prokaryotes. *FEMS microbiology reviews*, 25(1), 39–67.

Rothschild D, Weissbrod O, Barkan E, et al. Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature* 2018;555:210-5. doi:10.1038/nature25973

Sanos SL, Bui VL, Mortha A, Oberle K, Heners C, Johner C, et al. ROR γ t and commensal microflora are required for the differentiation of mucosal interleukin 22–producing NKp46+ cells. *Nat Immunol.* (2009) 10:83. doi: 10.1038/ni.1684

Sato, H. et al. Antibiotics suppress activation of intestinal mucosal mast cells and reduce dietary lipid absorption in Sprague-Dawley rats. *Gastroenterology* 151, 923–932 (2016).

Satoh-Takayama N, Vosshenrich CA, Lesjean-Pottier S, Sawa S, Lochner M, Rattis F, et al. Microbial flora drives interleukin 22 production in intestinal NKp46+ cells that provide innate mucosal immune defense. *Immunity.* (2008) 29:958–70. doi: 10.1016/j.immuni.2008.11.001

Savage D. C. (1977). "Microbial ecology of the gastrointestinal tract." Annual review of microbiology 31: 107-133.

Sawa S, Cherrier M, Lochner M, Satoh-Takayama N, Fehling HJ, Langa F, et al. Lineage relationship analysis of ROR γ t+ innate lymphoid cells. *Science.* (2010) 330:665–9. doi: 10.1126/science.1194597

Sawa S, Lochner M, Satoh-Takayama N, Dulauroy S, Bérard M, Kleinschek M, et al. ROR γ t+ innate lymphoid cells regulate intestinal homeostasis by integrating negative signals from the symbiotic microbiota. *Nat Immunol.* (2011) 12:320. doi: 10.1038/ni.2002

Schulz O, Jaensson E, Persson EK, Liu X, Worbs T, Agace WW, et al. Intestinal CD103+, but not CX3CR1+, antigen sampling cells migrate in lymph and serve classical dendritic cell functions. *J Exp Med.* (2009) 206:3101–14. doi: 10.1084/jem.20091925

Scott, N. A. et al. Antibiotics induce sustained dysregulation of intestinal T cell immunity by perturbing macrophage homeostasis. *Sci. Transl. Med.* 10, eaao4755 (2018).

Séminaire Ketty Schwartz . *Inflammation et maladies : clés de compréhension*.pp.8,9.

Sender R. et al. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the body. *PLOS Biol.* 2016; 14:e1002533

Setlow .2007. I will survive: DNA protection in bacterial spores . *TRENDS in Microbiology* 15 (4)

Shan, M. et al. Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals. *Science* 342, 447–453 (2013).

Shaw TN, Houston SA, Wemyss K, Bridgeman HM, Barbera TA, ZangerleMurray T, et al. Tissue-resident macrophages in the intestine are long lived and defined by Tim-4 and CD4 expression. *J Exp Med.* (2018) 215:1507– 18. doi: 10.1084/jem.20180019

Siddiqui K, Powrie F. CD103+ GALT DCs promote Foxp3+ regulatory T cells. *Mucosal Immunol.* (2008) 1(Suppl. 1):S34-8. doi: 10.1038/mi.2008.43

Simon C, Daniel R. 2011. Metagenomic analyses: past and future trends. *Applied and Environmental Microbiology* 77:1153-1161.

Sommer F. and Bäckhed F. (2013). "The gut microbiota-masters of host development and physiology." *Nature reviews. Microbiology* 11(4): 227-238.

Sonnenberg GF, Monticelli LA, Alenghat T, Fung TC, Hutnick NA, Kunisawa J, et al. Innate lymphoid cells promote anatomical containment of lymphoid-resident commensal bacteria. *Science.* (2012) 336:1321– 5. doi: 10.1126/science.1222551

Sonnenberg GF, Monticelli LA, Elloso MM, Fouser LA, Artis D. CD4+ lymphoid tissue-inducer cells promote innate immunity in the gut. *Immunity.* (2011) 34:122–34. doi: 10.1016/j.immuni.2010.12.009

Sonnenburg ED, Sonnenburg JL. Starving our microbial self: the deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates. *Cell Metab* 2014;20:779-86. doi:10.1016/j.cmet.2014.07.003

Souza-Fonseca-Guimaraes F, Parlato M, de Oliveira RB, Golenbock D, Fitzgerald K, Shalova IN, et al. Interferon- γ and granulocyte/monocyte colony-stimulating factor production by natural killer cells involves different signaling pathways and the adaptor stimulator of interferon genes (STING). *J Biol Chem.* (2013) 288:10715–21. doi: 10.1074/jbc.M112.435602

Spanogiannopoulos, P., et al., 2016. The microbial pharmacists within us: a metagenomic view of xenobiotic metabolism. *Nat. Rev. Microbiol.* 14 (5), 273–287. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrmicro.2016.17>.

Spencer S, Wilhelm C, Yang Q, Hall J, Bouladoux N, Boyd A, et al. Adaptation of innate lymphoid cells to a micronutrient deficiency promotes type 2 barrier immunity. *Science.* (2014) 343:432–7. doi: 10.1126/science.1247606

Takeuchi O, Akira S (2010) Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 140:805–820. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.022

Tan J, M.C., Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol*, 2014. 121: p. 661–72.

Tannock G. W. (1999). "Analysis of the intestinal microflora: a renaissance." *Antonie Van Leeuwenhoek* 76(1-4): 265-278.

Thaiss CA, Zmora N, Levy M, Elinav E. The microbiome and innate immunity. *Nature*. (2016) 535:65–74. doi: 10.1038/nature18847

Thio CL-P, Chi P-Y, Lai AC-Y, Chang Y-J. Regulation of type 2 innate lymphoid cell–dependent airway hyperreactivity by butyrate. *J Allergy Clin Immunol*. (2018) 142:1867–83. e12. doi: 10.1016/j.jaci.2018.02.032

Tsuji M, Suzuki K, Kitamura H, Maruya M, Kinoshita K, Ivanov II, et al. Requirement for lymphoid tissue-inducer cells in isolated follicle formation and T cell-independent immunoglobulin A generation in the gut. *Immunity*. (2008) 29:261–71. doi: 10.1016/j.immuni.2008.05.014

Ubeda, C. et al. Familial transmission rather than defective innate immunity shapes the distinct intestinal microbiota of TLR-deficient mice. *J. Exp. Med.* 209, 1445–1456 (2012).

Viant C, Guia S, Hennessy RJ, Rautela J, Pham K, Bernat C, et al. Cell cycle progression dictates the requirement for BCL2 in natural killer cell survival. *J Exp Med*. (2017) 214:491–510. doi: 10.1084/jem.20160869

Viennois, E., Merlin, D., Gewirtz, A. T. & Chassaing, B. Dietary emulsifier-induced low-grade inflammation promotes colon carcinogenesis. *Cancer Res.* 77, 27–40 (2017).

Vijay-Kumar, M. et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science* 328, 228–231 (2010).

Vivier E, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, et al. Innate lymphoid cells: 10 years on. *Cell*. (2018) 174:1054– 66. doi: 10.1016/j.cell.2018.07.017

Vogtmann E, Hua X, Zeller G, et al. Colorectal cancer and the human gut microbiome: Reproducibility with whole-genome shotgun sequencing. *PLoS One* 2016;11:e0155362. doi:10.1371/journal.pone.0155362

Vojdani, A. A potential link between environmental triggers and autoimmunity. *Autoimmune Dis.* 2014, 437231 (2014).

Von Burg N, Turchinovich G et Finke D (2015) Maintien de l'homéostasie immunitaire par les interactions cellulaires ILC/T. *Devant. Immunol.* 6:416

Vyas U, Ranganathan N. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: gut and beyond. *Gastroenterol Res Pract* 2012;2012:872716. doi:10.1155/2012/872716

Wang J, Thingholm LB, Skieceviciene J, Rausch P, Kummen M, Hov JR, et al. ~ Genome-wide association analysis identifies variation in vitamin D receptor and other host factors influencing the gut microbiota. *Nat Genet.* (2016) 48:1396. doi: 10.1038/ng.3695

Wen, L. et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes. *Nature* 455, 1109–1113 (2008).

WIKIPEDIA. Temperature gradient gel electrophoresis. WIKIPEDIA. [En ligne] 2013.http://en.wikipedia.org/wiki/Temperature_gradient_gel_electrophoresis (octobre 2013).

Wiley NC, Dinan TG, Ross RP, Stanton C, Clarke G, Cryan JF. The microbiota-gut-brain axis as a key regulator of neural function and the stress response: Implications for human and animal health. *J Anim Sci* 2017;95:3225-46.

Wong JM, de Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol* 2006;40:235-43. doi:10.1097/00004836-200603000-00015

Wu H-J, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes.* (2012) 3:4–14. doi: 10.4161/gmic.19320

Xu J. and Gordon J. I. (2003). "Honor thy symbionts." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(18): 10452-10459.

Yamamoto-Hanada, K., Yang, L., Narita, M., Saito, H. & Ohya, Y. Influence of antibiotic use in early childhood on asthma and allergic diseases at age 5. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 119, 54–58 (2017).

Yatsunenko, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M., Heath, A. C. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486(7402), 222-227. Doi: 10.1038/nature11053.

Yu Y, Tsang JC, Wang C, Clare S, Wang J, Chen X, et al. Single-cell RNA-seq identifies a PD-1 hi ILC progenitor and defines its development pathway. *Nature.* (2016) 539:102. doi: 10.1038/nature20105

Zelante T, Iannitti RG, Cunha C, De Luca A, Giovannini G, Pieraccini G, et al. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22. *Immunity.* (2013) 39:372–85. doi: 10.1016/j.immuni.2013.08.003

Zhang H, Sparks JB, Karyala SV, Settlage R, Luo XM. Host adaptive immunity alters gut microbiota. *ISME J* 2015;9:770-81. doi:10.1038/ismej.2014.165

Zhao L, Ni Y, Su M, et al. High throughput and quantitative measurement of microbial metabolome by gas chromatography/mass spectrometry using automated alkyl chloroformate derivatization. *Anal Chem* 2017;89:5565-77. doi:10.1021/acs.analchem.7b00660

Zheng Y, Valdez PA, Danilenko DM, Hu Y, Sa SM, Gong Q, et al. Interleukin22 mediates early host defense against attaching and effacing bacterial pathogens. *Nat Med.* (2008) 14:282. doi: 10.1038/nm1720intérieur systématique des culicidae.

Master Académique

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

CHEHHAT ABDELGHAFOUR KHORCHI AMIRA BOUZAIANE BOUTHAINA

Thème : *Exploration des interactions entre le microbiote intestinal et le système immunitaire.*

Résumé

Le microbiote intestinal est l'ensemble des micro-organismes non pathogènes dits commensaux, vivant dans l'intestin de l'organisme. Plusieurs facteurs influents sur les interactions entre le microbiote intestinale et le système immunitaire. Le but de cette étude est d'explorer les interactions entre le microbiote intestinal et le système immunitaire. Dans ce travail, nous avons réalisé une revue bibliographique sur la caractérisation de microbiote par des différentes méthodes d'identification et ses interactions avec le système immunitaire intestinale et les facteurs qui affectent ce dernier et aussi les rôles de microbiote intestinale vis-à-vis du système immunitaire et différents phénomènes biologiques tel que la nutrition, la santé et environnement

Mots- clés : *Microbiote ; Intestin ; Immunité. Exploration intestinal.*

Devant le jury :

Président : Dr. Maamar Hichem MCB *Université de Abèss Laghrour- Khenchela*

Examinatrice : Dr. Leulmi Nassima MCA *Université de Abèss Laghrour- Khenchela*

Encadreur : Dr. Merabti Ryma MCA *Université de Abèss Laghrour- Khenchela*

Lieu de travail :

Departement de BMC, Faculté de SNV, Université Abèss Laghrour- Khenchela

Année Universitaire 2021-2022