

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

**Soutenue publiquement le 20 janvier 2023
Par Mlle JONQUOIS Gabrielle**

**Les protozoaires intestinaux : Un effet bénéfique sur le microbiote ?
-
Zoom sur *Blastocystis* spp.**

Membres du jury :

Président : Dr CHABÉ Magali, MCU, HDR - Université de Lille

Assesseur(s) : Pr FOLIGNÉ Benoit, PhD, HDR, PU - Université de Lille

Membre(s) extérieur(s) : Dr VIGIER Patrice, Docteur en Pharmacie – Marquette-lez-Lille

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements

À Madame le Docteur Magali Chabé, qui a accepté d'assurer la direction de cette thèse, qui m'a guidée tout au long de sa rédaction, et qui a su me motiver durant ces longs mois. Je la remercie de sa disponibilité invariable, de sa bienveillance ainsi que de sa grande gentillesse.

Au Pr. Foligné, qui m'a fait l'honneur de participer au jury de thèse. Je le remercie de l'intérêt porté à cette dernière ainsi que de sa disponibilité.

Au Dr Vigier, qui m'a tant appris lors de mon tout premier stage de 2^{ème} année, ainsi que lors de mon stage de fin d'études de 6^{ème} année, qui a été extrêmement formateur. Sa pédagogie lors de ces deux stages me sera d'une grande aide dans l'exercice de mes fonctions.

À toute l'équipe de la pharmacie Jonquois, ainsi que de la pharmacie Vauchel, qui m'ont toutes épaulées pendant mes années d'étude, et ont aussi grandement participé à ma formation. C'est un immense plaisir de travailler avec ces personnes.

À ma famille,

Je remercie de tout cœur, et particulièrement mes parents qui m'ont donné envie de faire ce beau métier de pharmacien, et qui m'ont énormément apporté lors de mes études.

Merci à mes frères et sœurs : Aurélien, Anaïs, Raphaëlle et Fabien, qui m'ont encouragée durant mes 6 années de formation, ainsi que dans la rédaction de ma thèse.

Merci à Hugo pour le soutien apporté le long de la rédaction de ce manuscrit, ainsi que de m'avoir supportée pendant mes longues heures de travail, pendant lesquelles je ne devais pas être de très bonne compagnie.

Merci à mes grands-parents et à leur intérêt porté sur mes études et ma thèse. Merci à Mamy Francine pour son courage immuable. Merci à Papy Francis, Mamy Paulette et Papy Gilbert pour tous les bons souvenirs gravés dans mon esprit, vous resterez à jamais dans mon cœur.

Merci à toute ma famille, sans exception, d'être une famille incroyable. On ne choisit pas sa famille, mais même si c'était le cas, c'est vous que j'aurais choisi.

À mes amis,

Je remercie tous mes amis pour le soutien apporté. Merci à mes amies d'enfance : Clémence, Amélie, Manon, Sophie, Marie, Pauline qui ont toujours été présentes pour moi, du début jusqu'à la fin de mes études, et après pendant la rédaction de ce manuscrit. Merci à mes amis de fac, notamment Nolwen, pour ces années inoubliables. Je suis fière d'être ta consœur. Et merci à tous mes autres amis, que ce soit mes amis médecins, mes amis de l'équipe du spectacle de la cathédrale, mes amis de convention : vous êtes une force pour moi.

Université de Lille

Président	Régis BORDET
Premier Vice-président	Etienne PEYRAT
Vice-présidente Formation	Christel BEAUCOURT
Vice-président Recherche	Olivier COLOT
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens	Kathleen O'CONNOR
Vice-président Ressources humaines	Jérôme FONCEL
Directrice Générale des Services	Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen	Dominique LACROIX
Premier Vice-Doyen	Guillaume PENEL
Vice-Doyen Recherche	Éric BOULANGER
Vice-Doyen Finances et Patrimoine	Damien CUNY
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires	Sébastien D'HARANCY
Vice-Doyen RH, SI et Qualité	Hervé HUBERT
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie	Caroline LANIER
Vice-Doyen Territoires-Partenariats	Thomas MORGENROTH
Vice-Doyenne Vie de Campus	Claire PINÇON
Vice-Doyen International et Communication	Vincent SOBANSKI
Vice-Doyen étudiant	Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen	Delphine ALLORGE
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études	Benjamin BERTIN
Assesseur aux Ressources et Personnels	Stéphanie DELBAERE
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté	Emmanuelle LIPKA
Responsable des Services	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82

M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26

Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85

Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85

Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87

M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

I- Civ.	II- Nom	III- Prénom	IV- Service d'enseignement	V- Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80

Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
-----	-------	---------	---	----

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière

Table des matières

I-	Introduction.....	14
II-	Le microbiote intestinal.....	14
1)	Présentation du microbiote intestinal.....	14
2)	Mise en place du microbiote.....	15
3)	Composition du microbiote.....	17
a)	Espèces prédominantes.....	17
b)	Gradient du microbiote.....	17
c)	Les études MetaHit et Human Microbiome Project.....	19
d)	Le microbiote : Des bactéries, mais pas seulement !.....	22
4)	La notion d'eucaryome.....	23
a)	Qu'est-ce que l'eucaryome ?.....	23
b)	L'eucaryome, un biome peu étudié.....	24
c)	L'eucaryome, un biome en danger.....	24
d)	L'eucaryome, un biome essentiel pour la diversité microbienne.....	25
5)	Rôle du microbiote.....	26
a)	Synthèse de vitamines.....	26
b)	Maintien de l'intégrité de la barrière mucoale.....	27
c)	Rôle dans la digestion et production d'AGCC*.....	28
d)	Protection contre les pathogènes.....	30
e)	Modulation du système immunitaire et TGF- β	31
6)	Le microbiote sain.....	35
a)	Définition(s).....	35
b)	Composition du microbiote sain : la notion de « fonctionnal core ».....	37
7)	Dysbiose* : Causes et conséquences sur la santé.....	38
a)	Définition de la dysbiose*.....	38
b)	Causes.....	38
c)	Conséquences.....	40
-	Troubles digestifs : Syndrome de l'intestin irritable*.....	40
-	Maladies métaboliques.....	41
-	Maladies auto-immunes : les MICI.....	42
-	Autres.....	42
8)	Outils d'étude du microbiote.....	43
a)	Microscopie.....	43
b)	Séquençage ciblé du gène de l'ARN ribosomal 16S.....	44
c)	Shotgun metagenomics.....	44
III-	Les protozoaires intestinaux et autres eucaryotes.....	45
1)	Classification.....	45

2)	Les principaux protozoaires intestinaux.....	46
a)	Les protozoaires pathogènes	46
b)	Les protozoaires commensaux	47
3)	Différence entre les protozoaires pathogènes et commensaux.....	48
a)	Durée d'infection	48
b)	Localisation	48
c)	Contexte.....	48
4)	Interactions des parasites intestinaux avec le microbiote (et <i>vice versa</i>)	49
a)	Modifications du mucus intestinal.....	49
b)	Réponses immunitaires innées et adaptatives	51
c)	Interactions directes	51
IV-	Focus sur <i>Blastocystis spp.</i> : Un protozoaire pathogène, commensal, ou un ami du microbiote ?	55
1)	Présentation du protozoaire	55
2)	Répartition	56
3)	Cycle de vie et différentes formes	57
4)	Colonisation par <i>Blastocystis</i> : facteurs et durabilité	62
5)	Détection de <i>Blastocystis</i>	63
a)	Microscopie optique* :	63
b)	Séquençage :	63
c)	Shotgun métagénomique	64
6)	<i>Blastocystis</i> : différents sous-types.....	65
a)	Les STs retrouvés chez l'humain	65
b)	Répartition des différents STs	66
7)	<i>Blastocystis</i> : <i>Blastocystis</i> et les pathologies digestives	69
8)	Un effet bénéfique sur l'organisme	70
a)	Exemple de différentes études, par ordre chronologique	71
b)	Pourquoi ces différences avec les recherches précédentes ?	99
c)	Une augmentation de la diversité du microbiote / Eubiose.....	101
d)	Un effet positif sur les comorbidités métaboliques	103
e)	Effet sur l'obésité.....	103
f)	Absorption intestinale	104
g)	Production d'AGCC*	104
h)	Effet anti-inflammatoire	105
i)	Rôle dans la physiopathologie des encéphalopathies hépatiques	106
j)	Des « ingénieurs de l'écosystème ».....	107
k)	Potentiel thérapeutique	109
9)	Un autre protozoaire qui serait bénéfique au microbiote intestinal : <i>Entamoeba spp.</i>	109

V- Conclusion.....	112
Lexique :.....	113
VI- Bibliographie	117

I- Introduction

Notre corps abrite un certain nombre de microbiotes : le microbiote cutané, le microbiote bucco-dentaire, le microbiote vaginal, et le plus étudié et le plus peuplé : le microbiote intestinal.

Ce microbiote intestinal est composé majoritairement de bactéries. Néanmoins, d'autres microorganismes en font également partie : des fungi, virus, archées, ainsi que des protozoaires.

Les protozoaires intestinaux retrouvés dans le microbiote intestinal, donc commensaux, sont encore très peu étudiés. En effet, lorsqu'un protozoaire intestinal est retrouvé, il est souvent considéré comme pathogène et éliminé par un traitement.

Cependant, de récentes études se penchent sur le rôle de certains de ces protozoaires dans notre microbiote intestinal et mettent en évidence que ceux-ci, lorsqu'ils colonisent nos intestins pendant de longues périodes, pourraient avoir un rôle bénéfique pour notre santé intestinale.

Parmi ces protozoaires, un en particulier sort du lot : il s'agit de *Blastocystis* spp., un protozoaire intestinal dont la pathogénicité* est très controversée depuis quelques années. Ce dernier est un des rares protozoaires retrouvés communément dans les populations industrialisées, qui sont souvent dépourvues d'eucaryotes intestinaux.

Nous allons tout d'abord décrire le microbiote intestinal, afin de démontrer son importance et son impact sur la santé de son hôte. Ensuite, nous développerons le rôle des protozoaires intestinaux dans l'écosystème microbien, et enfin nous nous focaliserons sur le protozoaire *Blastocystis* spp.

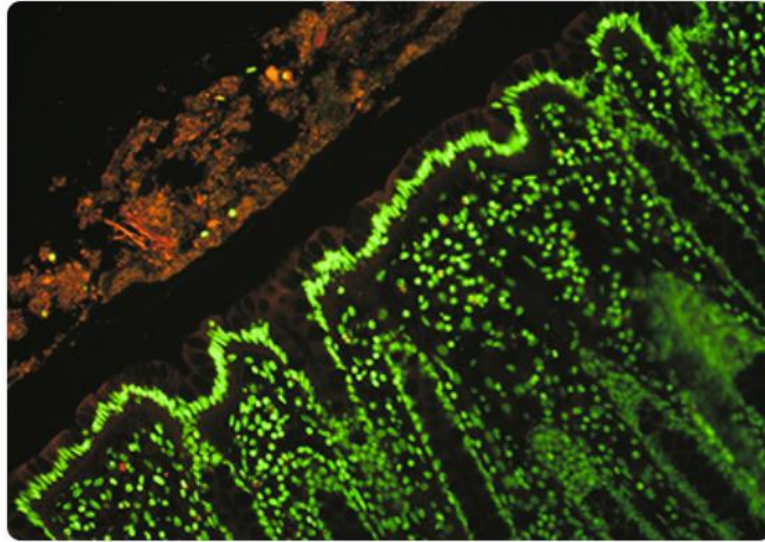
II- Le microbiote intestinal

1) Présentation du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est un ensemble de micro-organismes non-pathogènes que l'on dit « commensaux ». C'est le microbiote le plus important du corps humain, comportant entre 10^{12} à 10^{14} microorganismes, soit 2 à 10 fois plus que le nombre de cellules constituant le corps humain, ce qui représente plus de 2kg de notre masse totale (1,2). Néanmoins, ce microbiote n'est pas aussi diversifié que les communautés microbiennes de certains autres sites corporels et révèle un degré élevé de redondance fonctionnelle (2).

Les bactéries, archées et eucaryotes qui colonisent le tractus gastro-intestinal ont co-évolué avec l'être humain pendant des milliers d'années, afin d'établir une relation mutuellement bénéfique (2).

Le microbiote se localise le long de l'appareil digestif, et de manière prédominante dans l'intestin grêle, ainsi que le côlon. On le trouve entre la lumière du tube digestif et le mucus intestinal, qui forme un biofilm protecteur sur la paroi intérieure de l'épithélium intestinal. (1)



©Inserm, T. Pédrón

Microbiote marqué en rouge par la méthode FISH*, intestin marqué en vert par méthode DAPI*. (1)

On peut voir ici que le microbiote et l'épithélium intestinal ne sont pas en contact : La « bande » noire est la couche de mucus intestinal.

2) Mise en place du microbiote

Le microbiote se constitue dès la naissance de l'individu, au contact de la flore de la mère, et diffère en fonction du mode de naissance de l'enfant. Par voie basse, l'enfant est au contact de la flore vaginale : le microbiote de ces enfants contient des lactobacilles de manière plus abondante pendant leurs premiers jours, en reflet de la concentration importante de lactobacilles dans la flore vaginale. Par césarienne, l'enfant est au contact des micro-organismes de l'environnement ainsi qu'au contact du microbiote cutané, et le microbiote de ces enfants est moins riche en *Bacteroides* et colonisé par des bactéries anaérobies strictes comme les *Clostridium* (1–3).

Certaines études ont même détecté des bactéries avant la naissance, dans les tissus utérins, comme dans le placenta. Néanmoins, le nombre de ces études reste limité à l'heure actuelle, pour des raisons techniques et éthiques (2,3). Le méconium (premières selles du bébé, excrétées dans les 24 heures suivant la naissance, et provenant de la digestion du liquide amniotique) n'est pas stérile et présente un microbiote différent de celui trouvé dans les fèces, ce qui pourrait indiquer la présence d'un microbiote dans les tissus utérins (3).

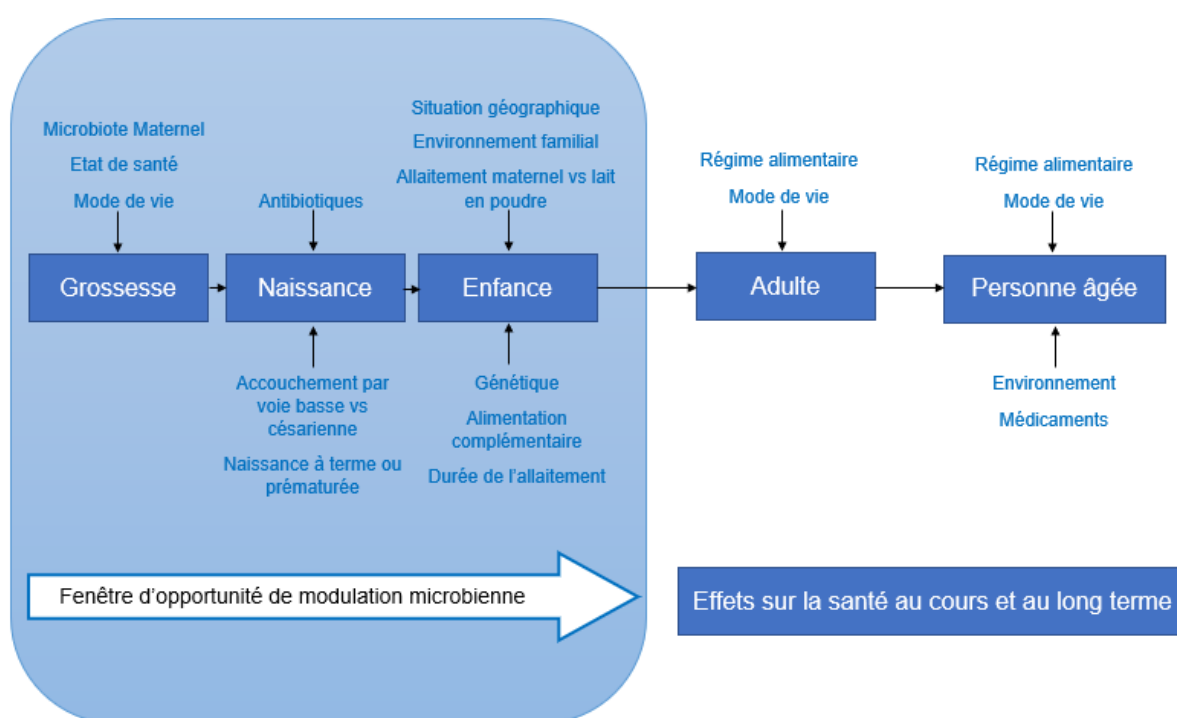
Ensuite, pendant les premières années de vie, la composition du microbiote va évoluer, en fonction de différents facteurs : le terme de la naissance, l'allaitement (maternel ou lait maternisé), la diversification alimentaire, la génétique de l'individu, le niveau d'hygiène, les maladies, les traitements médicaux reçus et l'environnement ; pour se stabiliser par la suite. La composition, la diversité et les capacités fonctionnelles du microbiote ressemblent à ceux d'un microbiote adulte à la fin des 3 à 5 premières années de vie. (1–4)

La colonisation va se faire de façon progressive et rapide. Tout d'abord les bactéries aérobies et anaérobies facultatives vont se multiplier, puis, consommant

l'oxygène présent dans la lumière intestinale, elles vont favoriser la multiplication des bactéries anaérobies strictes comme *Bacteroides*, *Clostridium* et *Bifidobacterium*. (1,3)

Les méthodes d'allaitement affectent l'abondance de certaines bactéries dans le microbiote des enfants. Par exemple, les oligosaccharides fucosylés, présents dans le lait maternel, sont utilisés par les *Bifidobacterium longum* et plusieurs espèces de *Bacteroides*, leur permettant de concurrencer d'autres bactéries comme *E. coli* et *Clostridium perfringens*. (2,5)

Lors de l'arrêt de l'allaitement et du début de la diversification alimentaire, le microbiote intestinal de l'enfant change de façon significative. Le microbiote, originellement caractérisé par une majorité de Lactobacilles, de Bifidobactéries et d'Enterobacteriaceae, devient un microbiote avec pour espèces majoritaires les *Clostridium* spp. et les *Bacteroides* spp..(4)



Les facteurs influençant le développement du microbiote intestinal tout au long de la vie (3).

Une fois adulte, la composition du microbiote est relativement stable, mais peut être perturbée par certains événements : les régimes alimentaires à long terme, les maladies, la prise d'antibiotiques, la chirurgie, le mode de vie, le tabagisme...(2,3)

Des études suggèrent que l'alimentation a un effet important sur le microbiote intestinal. En effet, la mise en forme du microbiote est dépendante de la disponibilité en MACs : Carbohydrates (ou Glucides) accessibles au microbiote (Microbiota-Accessible Carbohydrates), ces derniers étant apportés par les fibres alimentaires (donc d'origine végétale). Par conséquent, un régime extrême à base de plantes ou à base de viandes a pour effet d'importantes altérations du microbiote intestinal. (2)

Les traitements antibiotiques perturbent de manière importante, au court terme et parfois au long terme, l'équilibre microbien, notamment en diminuant la richesse et la diversité microbienne. Il a été démontré que la clindamycine, la clarithromycine, le métronidazole et la ciprofloxacine altèrent la structure du microbiote, pour des durées différentes. Les effets de ces perturbations ainsi que la durée de rétablissement du microbiote diffèrent en fonction des individus (2).

3) Composition du microbiote

a) Espèces prédominantes

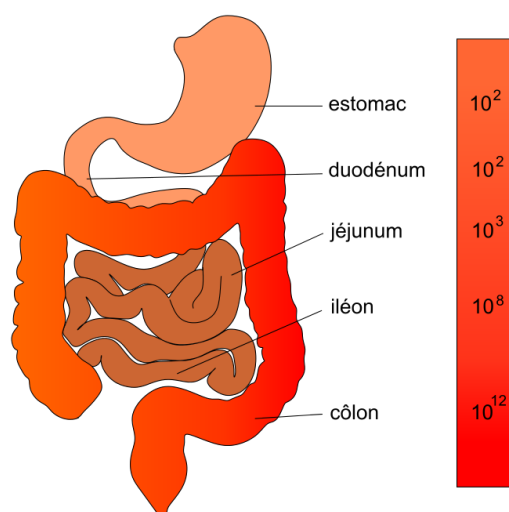
En moyenne, le microbiote d'un individu sain comporte 160 espèces de bactéries différentes (1). La plupart des bactéries appartiennent à différents phyla : *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* et *Verrumicrobia*. (6)

Les Firmicutes et les Bacteroidetes sont les deux phyla dominants, représentant 90% du microbiote. (7)

b) Gradient du microbiote

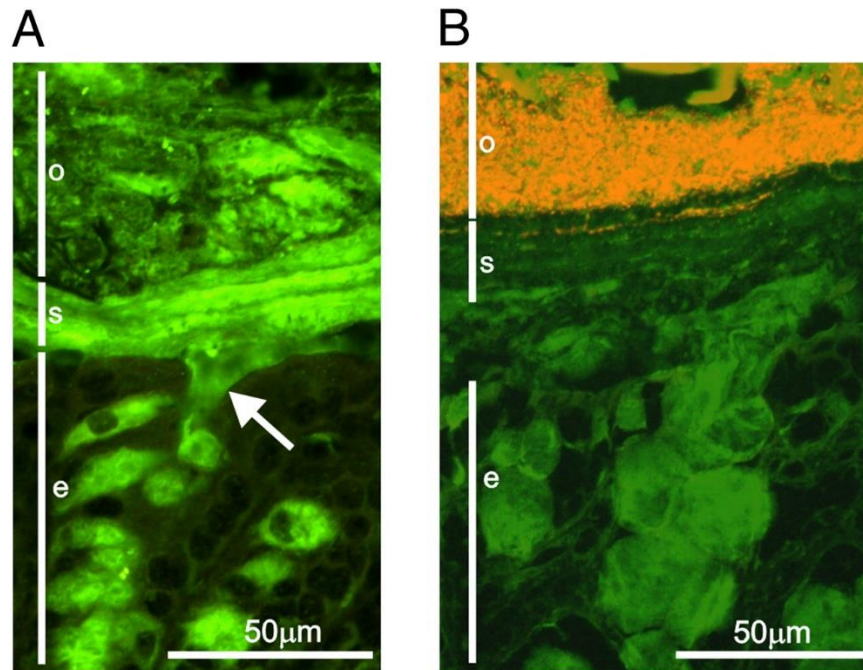
Le microbiote n'est pas le même en fonction de la localisation dans le système digestif. Il varie de manière quantitative et qualitative, de manière transverse (de l'épithélium intestinal au lumen) et de manière longitudinale (le long de l'intestin). (2,8)

En effet, il existe tout d'abord un gradient de concentration longitudinal. Dans l'estomac, la concentration en bactéries est faible : on trouve 10 à 1000 bactéries / mL. Ceci est dû principalement à l'acidité gastrique. Ensuite, dans l'intestin grêle, on trouve 10 000 à 10 millions de bactéries / mL. L'intestin grêle est caractérisé par un haut niveau d'acidité, d'oxygène et un temps de transit rapide à ce niveau, propriétés qui limitent la multiplication bactérienne. Enfin, dans le côlon, on passe à 10 milliards à 10 000 milliards de bactéries / mL. Ainsi, plus le milieu se raréfie en oxygène et diminue en acidité, plus il y a de bactéries qui le colonisent (1,2).



Concentration des espèces bactériennes du microbiote intestinal (adapté de Sartor, Gastroenterology, 2008) (9)

Ce gradient existe aussi de manière transverse. En effet, le mucus intestinal est divisé en 2 couches : une couche interne dense et imperméable, ainsi qu'une couche externe plus « lâche » et pénétrable par les bactéries. Ainsi, la couche interne est très pauvre en bactéries (voire stérile), tandis que la couche externe est colonisée : cette dernière fournit une source d'énergie et des sites de fixation pour certaines bactéries commensales, grâce à son répertoire de O-glycanes (polymères de monosaccharides) présents dans les mucines constituant le mucus. (2,10)

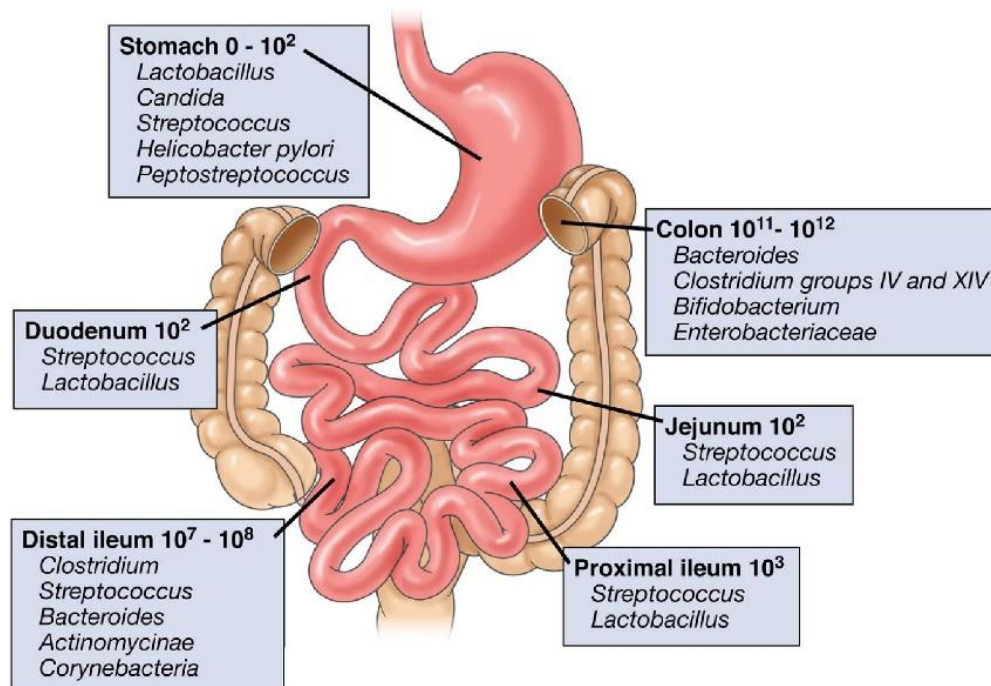


Les différentes couches de mucus intestinal dans le colon de la souris. (11)

A : Immunocoloration de la protéine Muc2 constituant du mucus intestinal. On observe ici une couche interne (s) dense et stratifiée, attachée à l'épithélium intestinal (e), et une couche externe plus lâche (o).

B : Par méthode FISH*, grâce à une sonde spécifique aux bactéries, on peut visualiser les bactéries (en rouge, image B) combinées aux protéines Muc2. La couche interne de mucus forme une barrière imperméable aux bactéries. (11)

Il existe aussi un gradient en diversité. En effet, en fonction de la localisation dans l'intestin, on retrouve différentes bactéries. Dans le duodénum, le jéjunum et l'iléum proximal, on retrouve principalement des lactobacilles (anaérobies facultatives). (2) Ce gradient de diversité est, lui aussi, longitudinal et transversal.



Composition et concentrations lumenales des espèces microbiennes dominantes dans les différentes régions du tractus gastrointestinal (9)

Comme pour le gradient de concentration, le gradient de diversité est aussi transversal. En effet, le microbiote de la couche externe du mucus intestinal est différent du microbiote luminal (2,12). Cette couche constitue une véritable niche microbienne. Les bactéries du microbiote mucosal présentent différents modes de prolifération ainsi que de nutrition par rapport aux bactéries lumenales : seulement certaines espèces bactériennes ont un répertoire suffisant d'enzymes capables de désassembler les glycanes complexes du mucus et d'en faire une source suffisante de carbone. Pour ces bactéries mucolytiques, le mucus est une niche microbienne bien distincte (12).

De plus, les niveaux d'oxygène dans le mucus sont bas, suffisamment pour permettre le développement de bactéries anaérobies (12).

c) Les études MetaHit et Human Microbiome Project

- **MetaHit :**

Le projet MetaHit, ou Metagenomics of the Human Intestinal Tract (Métagénomique du tractus intestinal humain), est un projet Européen coopératif qui a été conduit entre 2008 et 2012, rassemblant 15 instituts de 8 pays différents (13). Ce dernier a été coordonné par l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) (14). Ce projet avait pour but de définir le métagénome intestinal, soit tous les microorganismes habitant le tractus intestinal humain. (15)



Le projet MetaHit avait plusieurs objectifs :

- Etablir un « catalogue » des gènes et génomes microbiens présents dans le microbiote intestinal, grâce au séquençage métagénomique des microorganismes. (13,15)
- Etablir des outils permettant de déterminer quels gènes et génomes du « catalogue » sont présents chez les différents individus et à quelle fréquence (13,15)
- Développer des outils bio-informatiques pour stocker, organiser et interpréter toutes les informations récoltées, afin d'établir des liens de corrélation entre le microbiote et la santé / les pathologies. (13)

Les chercheurs ont tout d'abord analysé le métagénome des bactéries issues d'échantillons intestinaux de 39 individus de nationalités différentes (français, danois, italiens, espagnols, américains et japonais). L'analyse a ensuite été étendue à 85 échantillons prélevés chez des populations danoises puis 154 issus de populations américaines. (14) Les chercheurs ont ainsi pu reconstituer le génome complet de 238 bactéries intestinales dont 75% étaient alors encore inconnues (16). L'analyse des échantillons de selles a permis de répartir 3,9 millions de gènes en 7381 groupes de co-abondances de gènes. (16)

- **Le Human Microbiome Project (HMP) :**

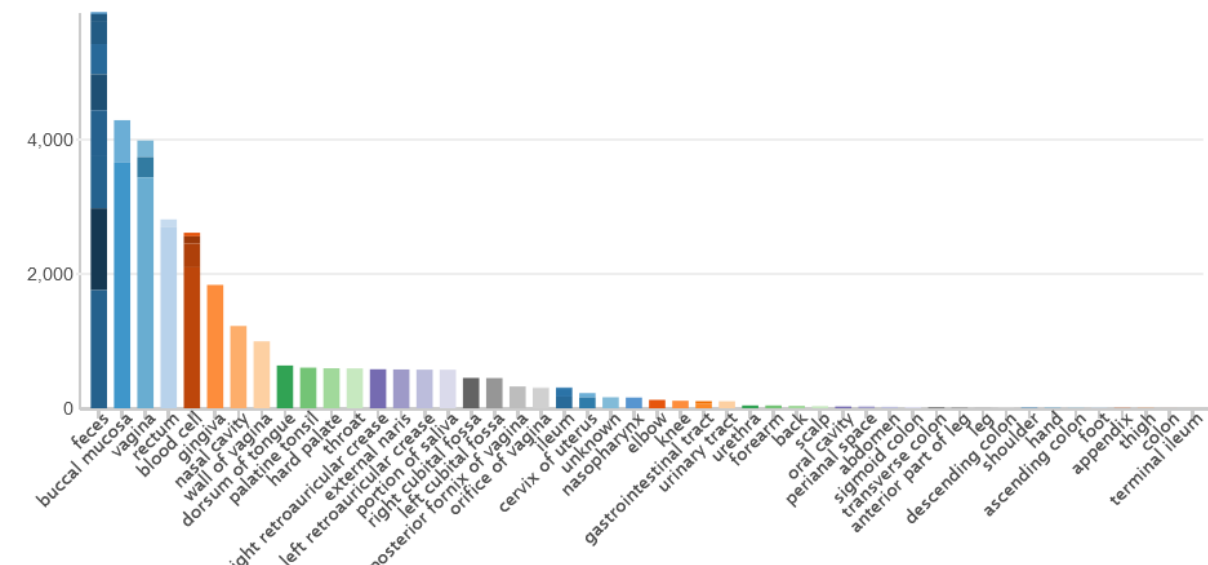
Ce projet a été soutenu par la NIH (National Institute of Health = Institut Américain de la Santé) de 2007 à 2016. Il comporte 2 phases. La première est appelée HMP1, ayant été conduite de 2008 à 2013 (17). La deuxième phase du HMP est le iHMP (i pour « integrative ») (18,19)

La mission principale du HMP était de générer des ressources permettant de faciliter la caractérisation du microbiote humain. Tandis que le projet MetaHit ne concernait que le microbiote intestinal, le HMP concerne tout le microbiote humain (nasal, oral, cutané, gastro-intestinal, urogénital). (17)

La phase initiale du projet (HMP1), a été menée sur 300 individus sains. Les prélèvements ont été faits sur différents sites du corps humain. Pour chaque partie du corps, les prélèvements ont été analysés par séquençage de l'ARNr 16S*, afin de caractériser la complexité de chaque communauté microbienne sur chaque zone du corps. Au total, 32 terabytes de données ont été générées durant cette 1^{ère} phase du projet, regroupant (17) :

- 18 études
- 48 sites de prélèvements différents
- 31 596 échantillons

Ces données sont disponibles sur : <https://portal.hmpdacc.org/>



Nombre d'échantillons par site de prélèvement dans le HMP (20)

La seconde phase du projet (iHMP ou HMP2), regroupe des études sur les dynamiques du microbiome, sous différentes conditions :

- La grossesse
- Les maladies inflammatoires intestinales
- Le pré-diabète (19)

Cette phase se concentre plus sur les interactions hôte-microbiome.

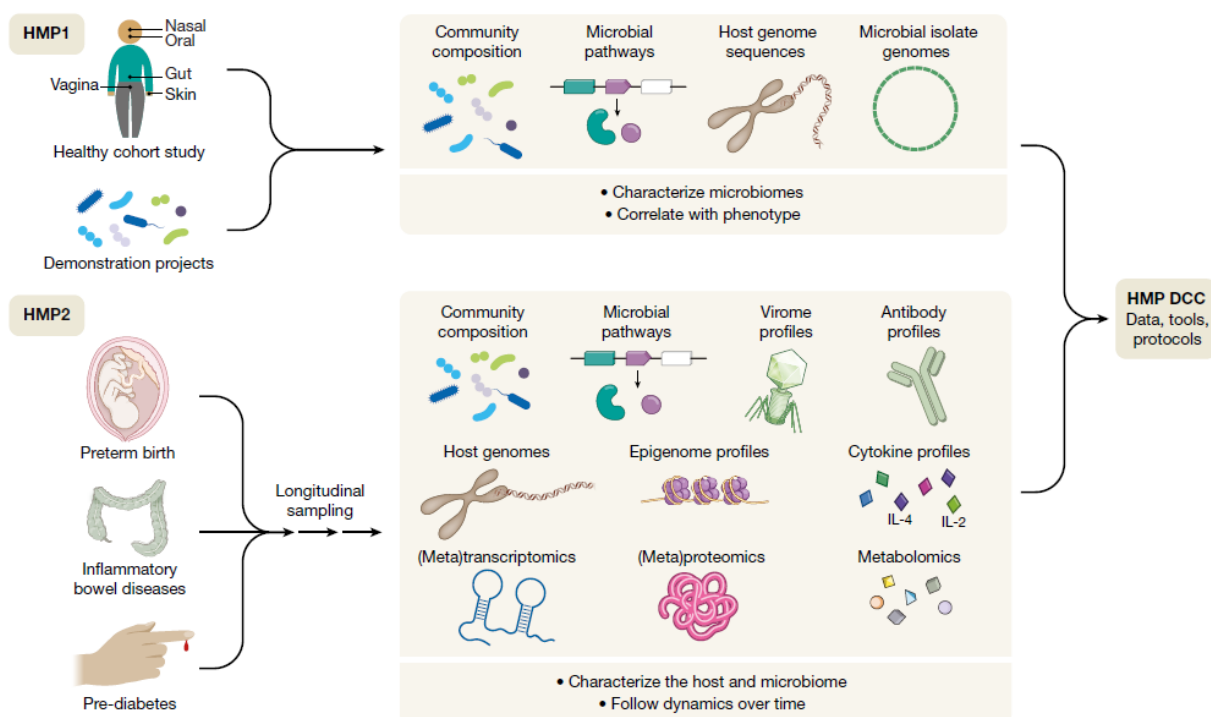


Schéma des première et secondes phases du HMP. (19)

Ce projet a permis d'établir une base de données importante, de développer des outils d'étude du microbiote ainsi que des protocoles analytiques et statistiques.

d) Le microbiote : Des bactéries, mais pas seulement !

Lorsque l'on parle de microbiote, le premier mot qui nous vient à l'esprit est « bactérie ». Néanmoins, les bactéries ne représentent « que » 93% de la flore intestinale : elle abrite aussi des virus (5.8%) qui composent le « virome », des archées (0.8%) ainsi que des fungi et autres eucaryotes unicellulaires ou multicellulaires (protistes et helminthes) (environ 0.5% du microbiome). (7,21)

Les données combinées de MetaHit et du Human Microbiome Project ont fourni la vue la plus complète du répertoire du microbiote humain à ce jour. En tout, 2 172 espèces différentes ont été isolées chez l'Homme, et classifiées en 12 phyla différents, dont 93.5% appartiennent aux Proteobacteria, aux Firmicutes, aux Actinobacteria et aux Bacteroidetes (2)

Néanmoins, le microbiote ne contient pas uniquement des bactéries : il contient aussi des Eucaryotes et des Archées. (22)

Les Archées :

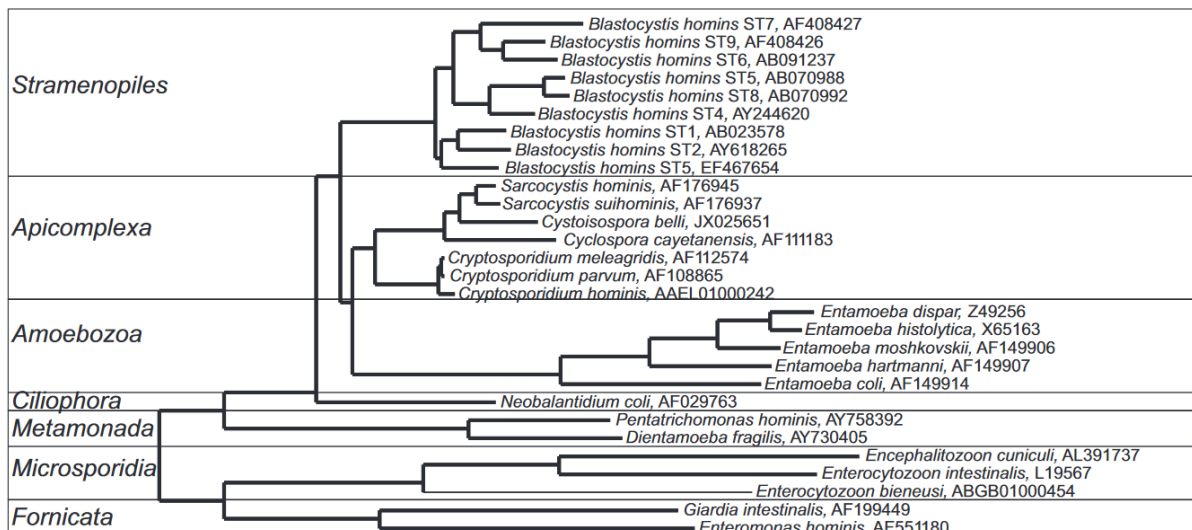
Les archées, principalement les méthanogènes, sont des microorganismes relativement abondants dans le microbiote intestinal, avec une densité pouvant aller jusqu'à 10^{10} cellules par gramme de fèces. Au total, 7 espèces d'archées ont été associées au tractus gastrointestinal. Ces archées méthanogènes transforment le dioxyde de carbone et l'hydrogène en méthane, ce qui permet une réduction du gaz dans le tractus gastrointestinal. Elles permettent de diminuer les ballonnements, et sont réduites chez les sujets atteints du syndrome de l'intestin irritable* dont les flatulences sont un des symptômes. (22)

Les Eucaryotes :

Différentes espèces de microeucaryotes peuvent être détectées dans le tractus intestinal. Les principaux eucaryotes intestinaux sont les levures ainsi que les parasites. Bien que les parasites intestinaux soient souvent le résultat d'une infection par de l'eau ou des aliments contaminés, certaines espèces font partie du microbiote intestinal sain. (22)

Les Fungi : 57 espèces de levures ont été identifiées dans le microbiote intestinal et sont réparties en 2 phyla : *Ascomycota* et *Basidiomycota*. La levure du microbiote la plus connue et prévalente est *Candida albicans*. Bien que ces levures soient commensales, sous certaines circonstances spécifiques ces organismes peuvent provoquer des candidoses dans d'autres organes du corps humain. Ceci est certainement dû à l'augmentation de la prise de médicaments (notamment les antibiotiques), la transformation des aliments ainsi que des polluants, ce qui cause une prolifération anormale des *Candida* et donc à des candidoses. Les autres levures les plus retrouvées sont les levures *Saccharomyces* spp., qui comprend *Saccharomyces cerevisiae*. (22)

Les parasites intestinaux : Le tractus gastro-intestinal humain peut être habité par des eucaryotes des phyla : *Apicomplexa*, *Amoebozoa*, *Ciliophora*, *Metamonada*, *Microsporidia*, *Parabasalia*, et *Stramenopiles*. Certains de ces organismes sont pathogènes et peuvent provoquer des symptômes intestinaux, c'est pourquoi peu d'attention leur a été donnée en termes de rôle dans l'écosystème intestinal.



Arbre phylogénétique des eucaryotes gastrointestinaux retrouvés chez l'Homme (22)

NB : *Encephalitozoon* et *Enterocytozoon* sont actuellement considérés comme des Fungi et non des protozoaires, ceci étant basé sur leurs séquences nucléotidiques.

Les eucaryotes classés dans les phyla Apicomplexa et Microsporidia sont des microorganismes pouvant sporuler et causer des infections du tractus gastro-intestinal.(22)

Les *Blastocystis* spp. (Stramenopiles) sont des protozoaires. Ils ont été isolés la première fois en 1911 et ont d'abord été identifiés comme des levures. L'étude de leur ARNr permet de différencier 28 sous-types. Ces eucaryotes sont retrouvés fréquemment dans le tractus gastrointestinal d'individus sains. (22)

Neobalantidium coli est le seul représentant du phylum Ciliophora. Malgré le fait que cet organisme cilié peut se reproduire dans le lumen intestinal des humains, son hôte naturel est le cochon.(22)

Les Amoebozoa pouvant être détectés dans le tractus gastrointestinal humain sont *Endolimax nana*, *Iodamoeba bütschlii*, et 6 *Entamoeba* spp. dont *Entamoeba coli* et *Entamoeba hartmanni*, 2 espèces fréquemment retrouvées dans le tractus gastrointestinal d'individus sains.(22)

4) La notion d'eucaryome

a) Qu'est-ce que l'eucaryome ?

Comme vu dans la précédente partie, divers eucaryotes habitent le tractus intestinal humain :

- Des fungi
- Des protistes
- Des Helminthes

Cet ensemble d'eucaryotes forment ce que l'on appelle l'eucaryome. (21)

b) L'eucaryome, un biome peu étudié

Les études du microbiote intestinal humain sont principalement axées sur l'étude des bactéries ainsi que des archées et des virus, négligeant la présence d'eucaryotes unicellulaires comme *Blastocystis*, bien que souvent présent dans le tractus gastro-intestinal. (23,24)

De plus, historiquement, n'importe quel protiste ou Helminthe retrouvé dans l'intestin humain était considéré directement comme un parasite, et par conséquent, considéré automatiquement comme un pathogène pour l'hôte. (21,24)

Il est vrai que certains protistes intestinaux sont pathogènes, comme par exemple *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium* spp., ou les Helminthes *Ascaris lumbricoïdes* et *Strongyloïdes stercoralis*, dont la pathogénicité* s'exprime d'autant plus que l'hôte est immunodéprimé. Néanmoins, une large gamme de protistes et d'Helminthes ne sont pas pathogènes. (21)

c) L'eucaryome, un biome en danger

De nos jours, l'eucaryome, partie importante de la flore intestinale, est un biome menacé. En effet, sa diversité est nettement diminuée dans les populations industrialisées, par rapport aux populations avec des modes de vie traditionnels, et ceci à cause de facteurs majeurs :

- Augmentation de l'hygiène : accès à l'eau potable, campagnes de déparasitage, hygiène personnelle, assainissement de la nourriture... (24,25)
- Elimination systématique des eucaryotes, du fait de leur rôle pathogène supposé (24,25)
- Utilisation accrue des antibiotiques (24)

Les populations ayant un mode de vie occidental (soit moderne), présentent une diversité eucaryotique nettement diminuée comparée aux populations ayant des modes de vie non-occidentaux et des régimes à base de nourriture non industrielle. (26,27)

Nous avons évoqué le fait que les eucaryotes soient systématiquement vus comme des parasites, des organismes pathogènes. Par conséquent, ils sont systématiquement éliminés dès qu'ils sont détectés chez un patient, même s'il est asymptomatique. (21)

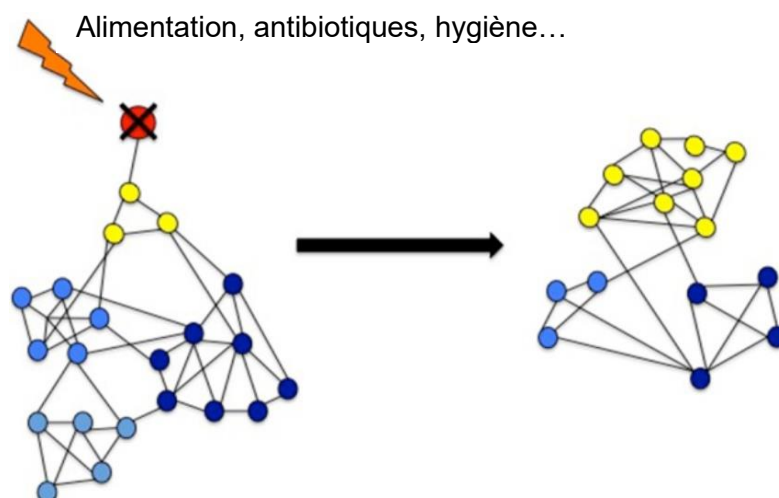
Cette éradication dans les pays industrialisés aurait une influence néfaste sur la santé, du fait de l'interruption des interactions écologiques dans l'écosystème intestinal (28). En effet, la diminution voire disparition des eucaryotes intestinaux mène à une diminution de la diversité bactérienne, marqueur d'un microbiote sain. (24)

La prise d'antibiotiques est aussi un facteur de diminution de l'eucaryome. Dans une étude de 2022, la prévalence de *Blastocystis* a été évaluée chez des patients ayant été traités par antibiotique, et chez des patients ne l'ayant pas été. La prévalence de *Blastocystis* est diminuée de manière significative chez les patients traités par antibiotique : 16%, contre 55% chez les non traités (29). Les antibiotiques traitant spécifiquement les procaryotes (structures et molécules), il est probable que cette

diminution soit secondaire à la diminution de certaines bactéries, dont *Blastocystis* « dépendrait » (29).

d) L'eucaryome, un biome essentiel pour la diversité microbienne

Cette diminution de diversité de l'eucaryome présente aussi un danger pour le microbiote entier : les eucaryotes ayant un rôle de « prédateurs » sur certaines bactéries, cela peut entraîner une diminution de la diversité bactérienne, tout comme dans les macro-écosystèmes, les prédateurs sont essentiels au maintien de l'écosystème. En effet, les prédateurs empêchent la monopolisation de l'environnement par une espèce en particulier, qui deviendrait dominante et qui limiterait les ressources pour les autres espèces, diminuant d'autant plus la diversité. (30)

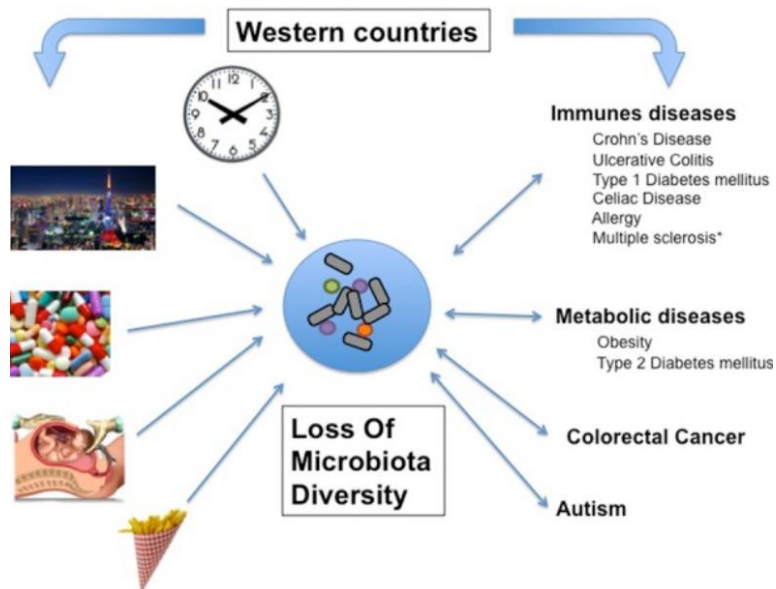


Les facteurs environnementaux réduisent la diversité microbienne *via* la perte d'espèces prédatrices (30)

Le microbiote intestinal peut être vu comme un réseau complexe d'espèces (représentés par des points sur le schéma), interagissant entre elles (liens). Les prédateurs (en rouge) maintiennent la diversité en régulant la multiplication de leurs proies (en jaune), permettant aux autres espèces (en bleu) de mieux se développer. La perte d'un prédateur entraîne une augmentation de leurs proies mais une diminution de la diversité. (30)

Les amibes ont par exemple un rôle de prédateur sur les bactéries intestinales, notamment sur les bactéries de moyenne taille. En plus de leur rôle prédateur, elles ont aussi un rôle de régulation *via* la compétition pour les substrats énergétiques. (30)

Ainsi, le mode de vie occidental est un danger pour la diversité du microbiote, de manière directe *via* l'usage excessif d'antibiotiques, l'alimentation, l'augmentation des accouchements par césarienne, l'hygiène excessive... Mais aussi indirectement par l'élimination des eucaryotes qui sont très importants dans le maintien de l'écosystème bactérien *via* leur rôle de prédation. (30)



Le mode de vie occidental : Un danger pour le microbiote. (30)

Le mode de vie occidental cause une perte de la diversité microbienne (→).
Mais aussi, beaucoup de pathologies de plus en plus prévalentes causent cette perte, entraînant elles-mêmes ces pathologies (↔). (30)

Ainsi, la perte de microeucaryotes « clés » peut résulter en un effet domino sur la diversité de la communauté bactérienne, et ainsi impacter l'immunité de l'hôte. (25)

5) Rôle du microbiote

L'existence du microbiote intestinal est connue depuis plus d'un siècle, mais son rôle n'est assidument étudié que depuis une dizaine d'années, grâce à l'apparition de techniques de séquençage haut débit du matériel génétique des bactéries.

Aujourd'hui, on sait qu'il joue un rôle dans de nombreuses fonctions du corps humain : digestive, métabolique, immunitaire et neurologique (1,2,31).

a) Synthèse de vitamines

Les vitamines sont des nutriments essentiels : ce sont des précurseurs de nombreuses enzymes nécessaires à de nombreuses réactions biochimiques vitales. L'être humain est incapable de synthétiser la plupart des vitamines, et par conséquent elles doivent être apportées de manière exogène.

Le microbiote digestif est crucial pour la synthèse *de novo** de vitamines essentielles, vitamines qui ne peuvent pas être synthétisées par le corps humain (2). Les bactéries productrices d'acide lactique, comme les *Bifidobacteria*, qui sont apportées par l'alimentation, permettent la production d'acide B12, qui ne peut être synthétisée par les animaux, les plantes ou les champignons. (2,32).

La vitamine B9, ou acide folique, est une vitamine essentielle impliquée dans la réplication de l'ADN, sa réparation, la méthylation, la synthèse de nucléotides de certains acides aminés. Les bactéries des espèces *Bifidobacterium bifidum* et

Bifidobacterium longum sont des bactéries productrices d'acide folique à haut niveau. Ce sont ainsi les principaux producteurs de folates (2,32).

Toutes ces vitamines peuvent être apportées par l'alimentation, mais de mauvaises habitudes alimentaires ne permettent pas un bon apport en ces vitamines : La source majeure d'apport de ces dernières sont donc les bactéries commensales. (32)

Le microbiote synthétise également d'autres vitamines, comme la plupart des vitamines hydrosolubles du groupe B (biotine, cobalamine, acide folique, acide nicotinique, acide panthoténique, pyridoxine, riboflavine et thiamine) ainsi que de la vitamine K. (2,32)

b) Maintien de l'intégrité de la barrière muqueuse

Le microbiote intestinal est un élément clé de la modulation de la fonction barrière de l'intestin. Une dysbiose* (c'est-à-dire un déséquilibre du microbiote intestinal, que ce soit dans la diversité ou dans la quantité), peut par conséquent induire une inflammation de l'intestin, en troublant les signaux permettant le maintien cette fonction, et provoquant par conséquent certaines pathologies. (33)

Tout d'abord, le microbiote joue un rôle dans le renouvellement des cellules épithéliales : un équilibre entre la prolifération et l'apoptose* de ces cellules est nécessaire afin de maintenir l'intégrité de la barrière intestinale. Chez les souris axéniques* (c'est-à-dire dépourvues de microbiote), le manque de microbiote impacte de façon importante et négative la morphologie intestinale, son architecture, et les propriétés de renouvellement des cellules. En effet, chez ces souris, les villosités intestinales sont réduites et les cryptes* sont plus petites. De plus, le « turn-over » * des plaques de Peyer est plus bas que chez les souris saines. Huit jours après la colonisation par des bactéries du microbiote, le renouvellement cellulaire est totalement restauré. (2,33)

Néanmoins, le mécanisme moléculaire exact par lequel les bactéries régulent le renouvellement cellulaire n'est pas encore élucidé. Il est suggéré que ce mécanisme passe par les PAMPs (« Pathogen Associated Molecular Patterns » ou Motifs Moléculaires Associés aux Pathogènes) qui induiraient des signaux entraînant la fortification de la barrière intestinale. (33)

Ensuite, il permet aussi de maintenir la perméabilité intestinale : lors d'un stress psychologique, une dysfonction de la barrière intestinale est observée et est caractérisée par une augmentation du flux macromoléculaire et une augmentation de la sécrétion d'ions. L'administration orale de probiotiques*, contenant notamment des lactobacilles, permet de prévenir ces changements dans la barrière intestinale. (33) Certaines espèces bactériennes, comme *Akkermansia muciniphila* ou *Lactobacillus plantarum* favorisent l'intégrité épithéliale (2).

Enfin, les bactéries du microbiote modulent les propriétés ainsi que le renouvellement du mucus intestinal (2). En effet, chez les souris axéniques*, la couche de mucus est très fine, mais lorsqu'elles sont exposées à des produits bactériens comme les peptidoglycanes ou les LPS (LipoPolySaccharides), l'épaisseur redevient normale (2).

Une fonction défaillante de la barrière intestinale est l'origine de nombreuses maladies, pouvant aller du syndrome du côlon irritable* au syndrome métabolique*. La barrière intestinale joue un rôle crucial en protégeant les cellules intestinales des bactéries lumineuses, *via* le turnover* de mucus (synthèse et dégradation), la production d'IgA*, et la sécrétion de peptides antimicrobiens. Les mucines, composant majeur du mucus intestinal, sont une source de nutriments pour les bactéries intestinales. Certaines bactéries possèdent la machinerie enzymatique nécessaire pour dégrader les chaînes oligosaccharidiques des mucines, libérant en retour des petits oligosaccharides qui peuvent être par la suite métabolisés par les autres bactéries commensales (34).

Par exemple, *Akkermansia muciniphila* est une bactérie intestinale spécialisée dans la dégradation des mucines, ce qui en fait un organisme clé de l'interface mucosale entre le lumen et les cellules épithéliales. En plus de dégrader les mucines, *Akkermansia* est aussi capable de stimuler la production de ces dernières, ce qui permet un turnover* de la barrière mucosale (34). De plus, il a été démontré que cette bactérie adhère à l'épithélium intestinal et renforce l'intégrité de la couche d'entérocytes, prouvant une capacité de cette bactérie à fortifier une barrière intestinale abîmée (35). De plus, chez les patients atteints de maladies inflammatoires de l'intestin, comme le syndrome de l'intestin irritable*, seulement de faibles quantités de cette bactérie sont retrouvées, ce qui suggère qu'elle posséderait des propriétés anti-inflammatoires (34).

c) Rôle dans la digestion et production d'AGCC*

Le microbiote joue un rôle direct dans la digestion. Il assure la fermentation des aliments non digestibles, facilite l'assimilation des nutriments grâce à la sécrétion d'enzymes dont l'organisme humain n'est pas pourvu, hydrolyse l'amidon/la cellulose/les polysaccharides, participe à la synthèse des vitamines B et K, et régule l'absorption des acides gras (1).

Les bactéries du microbiote expriment des enzymes actives sur les carbohydrates, ce qui leur procure la capacité de fermenter des carbohydrates complexes, et de générer des métabolites comme les acides gras à chaîne courte (AGCC*) (2,36). En effet, les sucres complexes (les polysaccharides) ne sont pas digestibles par l'être humain qui ne possède pas la machinerie enzymatique nécessaire (37).

Trois acides gras à chaîne courte* prédominent dans le tractus digestif : le propionate (produit principalement par les Bacteroidetes), le butyrate (produit principalement par les Firmicutes) et l'acétate (dont la production est faite par un large spectre de bactéries intestinales), dans les proportions suivantes : 1:1:3 (2,38).

Ces acides gras sont absorbés par les cellules épithéliales de l'intestin et sont impliqués dans la régulation de certains processus cellulaires, comme l'expression des gènes, la chimiotaxie*, la différenciation et la prolifération cellulaire, ainsi que l'apoptose* (2). Ces molécules agissent comme un « lien » entre le microbiote et le système immunitaire (39).

Les AGCC*, et le butyrate en particulier, sont des substrats essentiels pour maintenir l'intégrité de l'épithélium intestinal : ils sont la source principale d'énergie des cellules épithéliales intestinales, en étant une source d'ATP* (38,39). Ils ont un rôle qui peut être qualifié de paradoxal : il induit la prolifération des colonocytes (cellules intestinales) sains, mais induit l'apoptose* des cellules anormales. De plus, les AGCC* permettent la régulation des protéines des jonctions serrées* de la barrière intestinale, et ainsi indirectement la régulation du flux moléculaire entre le lumen et le système porte. Une perméabilité augmentée de l'épithélium est associée à la translocation de bactéries (ou de leur composants membranaires comme le LPS), ce qui peut conduire à l'activation de cascades inflammatoires, qui sont associées à l'obésité et une résistance accrue à l'insuline (38). Ainsi, *via* la production d'AGCC*, les bactéries commensales ont un rôle bénéfique impactant plusieurs aspects de l'organisme. (38)

Les AGCC* **modulent la régulation de l'appétit et la consommation d'énergie** *via* leur fixation à des récepteurs. (2) Ces récepteurs sont couplés à des protéines G : FFAR 2 et FFAR 3 (Free Fatty Acid Receptor). Leur activation entraîne la libération d'hormones anorexigènes comme la leptine ou le GLP-1. (40)

Les AGCC* ont aussi un rôle dans la **régulation de l'homéostasie du glucose** (*via* FFAR 2/3). Dans le foie, le propionate est néoglucogène, alors que l'acétate et le butyrate sont lipogènes : ils inhibent la lipolyse des adipocytes, réduisant ainsi le flux d'acides gras libres vers le foie. De plus, un taux élevé d'acétate plasmatique est inversement corrélé au taux d'insuline plasmatique : en effet, l'activation de FFAR2 induit une meilleure réponse à l'insuline dans les cellules β pancréatiques, et donc un meilleur contrôle de la glycémie. (38)

La production de propionate par les bactéries a des effets positifs sur la fonction des cellules β et atténue le système de récompense de la prise de nourriture *via* la voie striée (2,37).

Les AGCC* provoquent des **effets sur le métabolisme lipidique** à plusieurs niveaux : Dans le foie, l'acétate permet la lipogenèse *de novo** tandis que le propionate l'inhibe. Le propionate diminue la graisse viscérale et hépatique. Les AGCC* inhibent l'accumulation des lipides dans les adipocytes, ce qui résulte en des petits adipocytes plus sensibles, ce qui est associé à des infiltrats inflammatoires adipeux réduits.

Ensuite, l'acétate stimule la sécrétion de leptine dans les adipocytes, la leptine étant une hormone régulant la balance énergétique et l'appétit. L'inhibition de la lipolyse par la leptine résulte en une diminution de la libération en AG libres du tissu adipeux au foie, diminuant le risque de stéatose hépatique. (38)

Les AGCC* permettent de **réguler le système immunitaire** et la réponse inflammatoire. Le butyrate inhibe l'activation du facteur nucléaire NF- κ B dans les macrophages, et jouerait un rôle dans la production des lymphocytes T régulateurs. De plus, avec le propionate, ils inhibent l'expression des cytokines induites par le LPS (IL-6 et IL-12p40) par les cellules dendritiques matures. Ainsi, les AGCC* sont un lien important dans la communication entre le microbiote et le système immunitaire. (38)

Le butyrate en particulier est connu pour ses propriétés antiinflammatoires et anticancéreuses, il est aussi une source d'énergie importante pour les colonocytes (2). Il peut aussi atténuer la translocation bactérienne depuis le tube digestif, ainsi que de renforcer la barrière intestinale en augmentant l'assemblage de jonctions serrées* et la synthèse des mucines. (2)

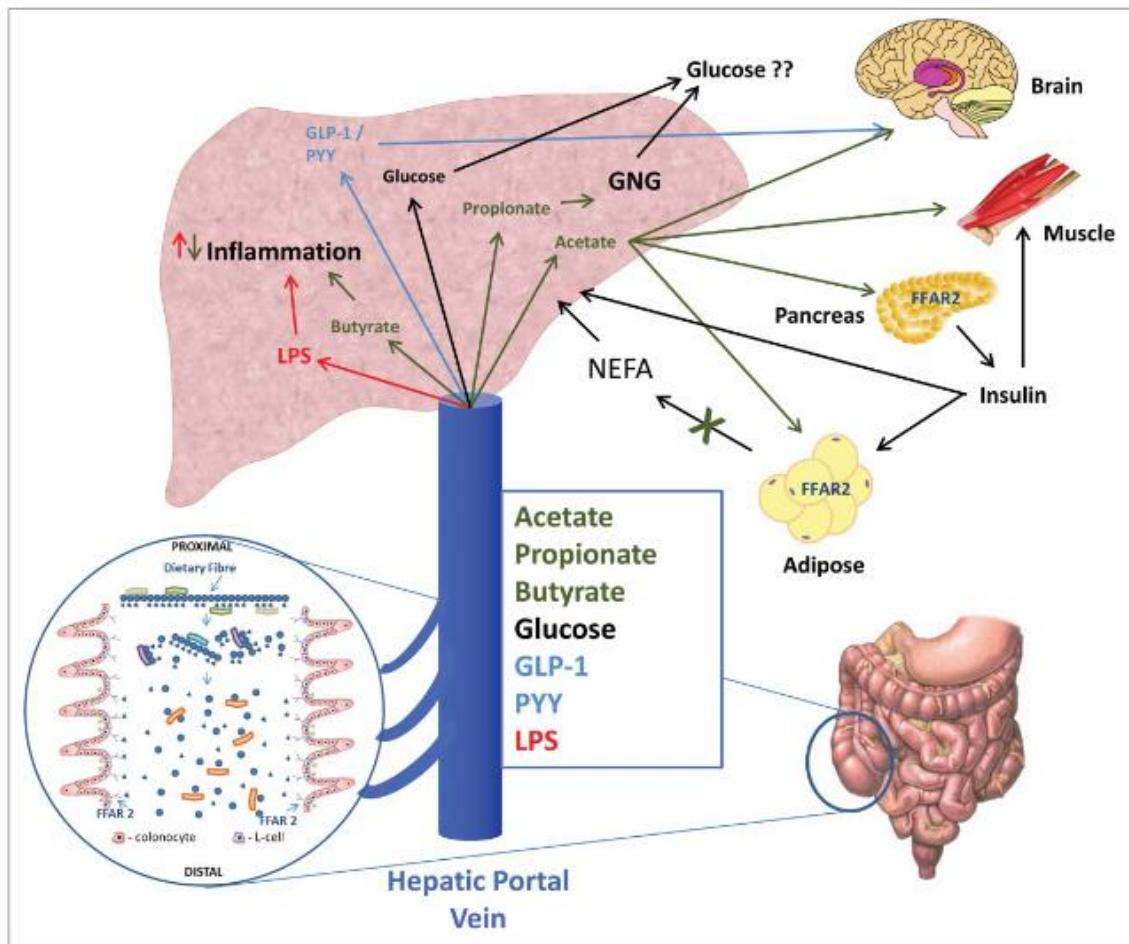


Schéma illustrant le rôle important des AGCC* dans l'organisme. Les AGCC*, ainsi que d'autres métabolites, entrent dans le système porte hépatique et sont rapidement transportés dans le foie. Une fois dans le foie, ils agissent sur les macrophages résidents ainsi que les hépatocytes. Ce système permet de maintenir un foie sain, via la régulation du métabolisme hépatique, le contrôle de l'inflammation ainsi que le contrôle du flux d'acides gras libres (AGL) dérivants du tissu adipeux. Les AGCC* ont aussi des effets périphériques : ils régulent l'insuline, le flux d'AGL des adipocytes, le centre de l'appétit, et sont une source d'énergie pour le muscle. (38)

d) Protection contre les pathogènes

L'organisme maintient une vigilance constante contre des antigènes potentiellement délétères, tout en empêchant le développement d'une inflammation incontrôlée. La barrière intestinale est la première ligne de défense contre les pathogènes, en séparant physiquement l'organisme du lumen intestinal, ainsi que par d'autres mécanismes : reconnaissance microbienne, production de peptides antimicrobiens, production de mucus, sécrétion d'anticorps. (33)

Le microbiote intestinal permet de limiter la colonisation par des pathogènes, ceci via plusieurs mécanismes. Par exemple, les bactéries du microbiote entrent en compétition avec les pathogènes pour les sites de liaisons, ou bien pour les sources

de nutriments. Elles sont aussi capables de produire des substances antimicrobiennes (2).

Les protéines antimicrobiennes ont un double rôle : limiter l'invasion par des pathogènes, ainsi que moduler la composition du microbiote intestinal. Certaines protéines antimicrobiennes sont sécrétées par les cellules épithéliales intestinales de manière indépendante, et d'autres sont influencées par le microbiote intestinal. Il existe donc une interaction bidirectionnelle entre le microbiote intestinal et la barrière intestinale. Par exemple, le lysozyme est sécrété en l'absence de germes, alors que les α -défensines sont sécrétées en plus grande quantité et en meilleure qualité chez les souris ayant un microbiote normal. (33)

La couche de mucus et les mucines sont essentielles pour empêcher les bactéries luminales d'adhérer ou de pénétrer l'épithélium intestinal. Les souris axéniques* ont un nombre nettement réduit de cellules caliciformes productrices de mucines, comparé aux souris ayant un microbiote normal. De plus, ces souris axéniques* ont un mucus plus fin, moins stable et moins compact comparé aux autres souris. L'exposition à des produits bactériens comme le LPS et le peptidoglycane entraîne une augmentation de l'épaisseur de la couche de mucus chez ces souris, à un niveau similaire aux souris saines. (33)

Un argument supplémentaire à ce rôle du microbiote est l'impact des antibiotiques : ces derniers impactent de manière importante le microbiote, induisant une dysbiose*, et peuvent par conséquent conduire à l'expansion de populations pathogènes. Par exemple, les bactéries *Salmonella typhimurium* et *Clostridioides difficile* utilisent de l'acide sialique et le fucose en tant que nutriments. Les niveaux d'acide sialique augmentent après traitement antibiotique, ce qui favorise le développement et la colonisation par ces bactéries pathogènes dans l'intestin (2).

De plus, le microbiote intestinal, *via* ses composants structurels et ses métabolites, stimule la production par les cellules de Paneth de l'hôte de plusieurs peptides antimicrobiens (PAM), comme les cathélicidines, les lectines de type C et les défensines, et ce *via* les PRRs* (Pattern Recognition Receptor) (41).

Les bactéries commensales peuvent adhérer au mucus intestinal et ainsi empêcher l'adhésion d'entéropathogènes, par inhibition compétitive. De plus, elles peuvent produire des bactériocines et des acides gras à chaîne courte*, composants capables d'inhiber la prolifération d'autres microorganismes (31).

e) Modulation du système immunitaire et TGF- β

Dès les premières années de vie, le microbiote intestinal permet « d'apprendre » à l'immunité intestinale de l'individu de distinguer les espèces bactériennes commensales des espèces pathogènes (1,31). En effet, le fonctionnement correct du système immunitaire requiert une régulation constante afin de garder un équilibre entre la protection contre les agents pathogènes, et la tolérance des auto-antigènes (42). Ce processus passe principalement par la reconnaissance des PRRs* des cellules épithéliales, capables de reconnaître les molécules produites par les microbes intestinaux. (31)

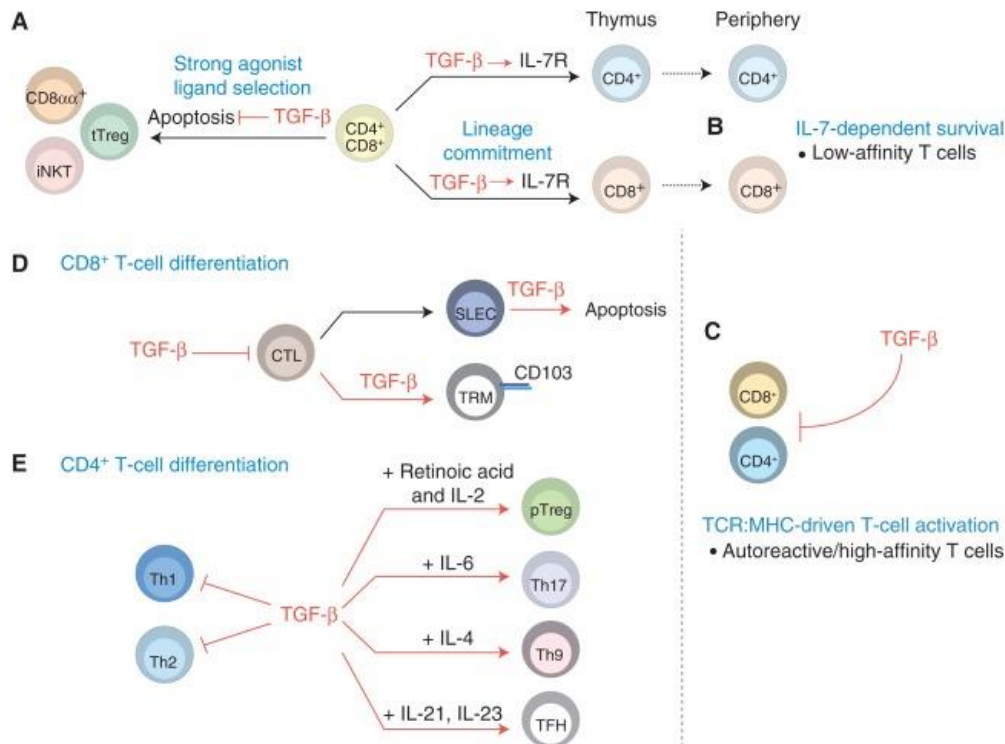
Les personnes atteintes de la maladie de Crohn montrent une dysbiose* caractérisée par une diversité moindre et une abondance moindre en Firmicutes, notamment *Faecalibacterium prausnitzii*, cette dernière pouvant être par conséquent un biomarqueur pouvant aider au diagnostic de cette maladie (2,43). Il a été découvert récemment que cette bactérie commensale sécrète une protéine anti-inflammatoire, la MAM (pour Microbial Anti-inflammatory Molecule = Molécule Microbienne Anti-inflammatoire), qui inhibe l'activation de la voie NF- κ B (voie inflammatoire) et la production d'IL-8 dans les cellules épithéliales intestinales, et ce avec un effet dose-dépendant (13,14). D'autres bactéries, comme *A. muciniphila*, ont un rôle de protection contre plusieurs maladies inflammatoires, ce qui suggère que cette souche possède aussi des propriétés anti-inflammatoires. Cependant, le mécanisme impliqué n'a pas encore été complètement élucidé (2).

Comme vu dans la partie 5) c), les bactéries du microbiote permettent la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC*) à partir de la fermentation de carbohydrates complexes. Cette production a un rôle important dans la modulation du système immunitaire, que ce soit le système immunitaire intestinal ou le système immunitaire systémique (2).

Il a été démontré que des espèces du genre *Clostridium* majoritairement, mais également du genre *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, induisent la différenciation et l'expansion des lymphocytes T régulateurs, cellules qui limitent l'expansion des cellules immunitaires effectrices, *via* cette production d'acides gras à chaîne courte* (42,43). Parmi ces bactéries, *Faecalibacterium prausnitzii* (du genre *Clostridium*) est principalement celle qui induit la production de ces lymphocytes Treg* (46,47).

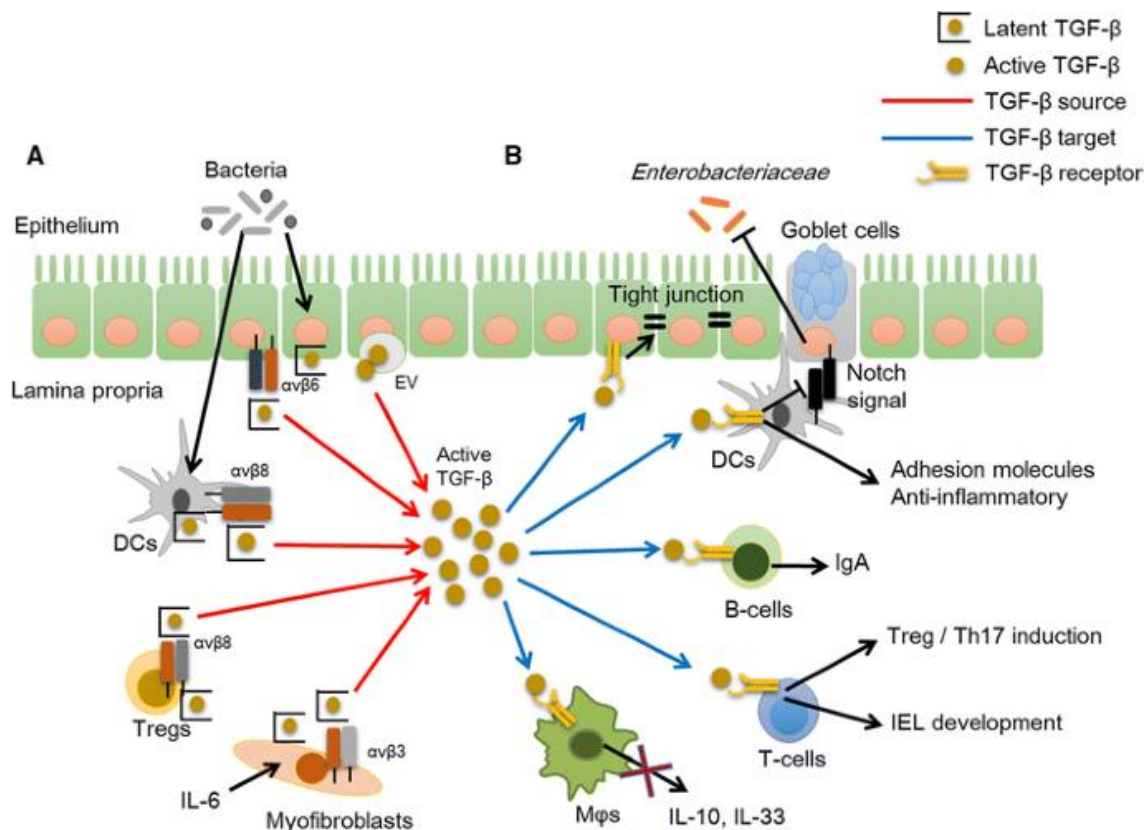
En effet, cette production d'AGCC* permet de stimuler la production de TGF- β * par les cellules épithéliales. TGF- β est une cytokine cruciale dans l'homéostasie et la tolérance immunitaire* : elle inhibe le développement de nombreux composants du système immunitaire, et induit la différenciation des lymphocytes T régulateurs (*cf schéma ci-dessous*) (42,43).

Les lymphocytes Treg* sont des lymphocytes T CD4 qui se différencient en réponse à la présentation d'autoantigènes* ou de bactéries commensales, et permettent de prévenir les réponses immunitaires contre l'hôte ainsi qu'à maintenir l'homéostasie. Ils produisent l'interleukine* 10, une cytokine anti-inflammatoire (43).



Régulation des cellules de l'immunité par TGF- β .

TGF- β promeut le développement de multiples lignées de cellules T et permet la survie d'autres cellules comme les lymphocytes Treg* (A). Il régule les lymphocytes T périphériques (B), inhibe les récepteurs des cellules T auto-réactives (C), Inhibe le développement des lymphocytes T cytotoxiques (D) et permet le développement des lymphocytes T régulateurs (E) (48).



Les sources et les cibles de TGF- β – Ihara et al. (2017)(49)

DC = Dendritic cells = cellules dendritiques

IEL = IntraEpithelial Lymphocytes = Lymphocytes intra-épithéliaux

Le TGF- β est produit sous forme latente par les cellules immunitaires et par les cellules épithéliales. Des stimuli, notamment les bactéries de l'intestin (via la production d'AGCC*), entraînent le relargage de TGF- β sous forme active. Ce dernier cible l'intestin : en se liant aux cellules de l'immunité et aux cellules épithéliales, il active/inhibe des voies de transduction intracellulaires, ce qui permet de contribuer à l'homéostasie intestinale, d'exercer un rôle anti-inflammatoire, et de diminuer la perméabilité intestinale en renforçant les jonctions serrées* épithéliales (49).

Différentes bactéries du microbiote influencent ces lymphocytes T-reg* :

Clostridium : Le genre *Clostridium* est un genre majeur dans le microbiote intestinal, et inclut de nombreux taxa commensaux. Des expériences de transplantation microbienne ont montré que certaines souches de *Clostridium* induisent la libération de TGF- β par l'épithélium intestinal et la différenciation des lymphocytes Treg* (43,47,49). Ces *Clostridium* sont moins abondants chez les patients souffrant de MICI par rapport à des patients témoins (49).

Bacteroides : *Bacteroides* est un genre de bactéries gram-négatives anaérobies, et qui représentent une proportion importante de la flore intestinale « normale ». L'abondance de *Bacteroides* est diminuée chez les patients atteints de MICI, par rapport à des témoins sains. Il a été montré que la bactérie *Bacteroides fragilis* induisait la différenciation des cellules Treg* : La monocolonisation de souris axéniques* par cette bactérie permettait de restaurer la production de TGF- β 2 et la production d'IL-10 (cytokine anti-inflammatoire) par les lymphocytes Treg*. (49)

Les *Enterobacteriaceae*, bactéries gram-négatives, représentent une petite proportion du microbiote intestinal. Néanmoins, une prolifération de ces bactéries se produit chez les patients atteints de MICI, et pourrait être associée avec la promotion de l'inflammation intestinale. Le mécanisme exact de cette induction n'est pas encore élucidé, mais la production de dérivés réactifs de l'oxygène causée par ces bactéries contribue en partie à la dysbiose*. Le TGF- β permet, via les cellules dendritiques, de contrôler les *Enterobacteriaceae* via l'interaction de ces cellules avec les cellules épithéliales intestinales (49).

Chez les souris axéniques*, les cellules de l'immunité et les structures lymphoïdes présentent une déficience. De plus, on observe chez ces souris une diminution de l'expansion des lymphocytes T CD4+. Cette déficience est réversible grâce à un traitement par des polysaccharides A provenant de la capsule de *Bacteroides fragilis* (2).

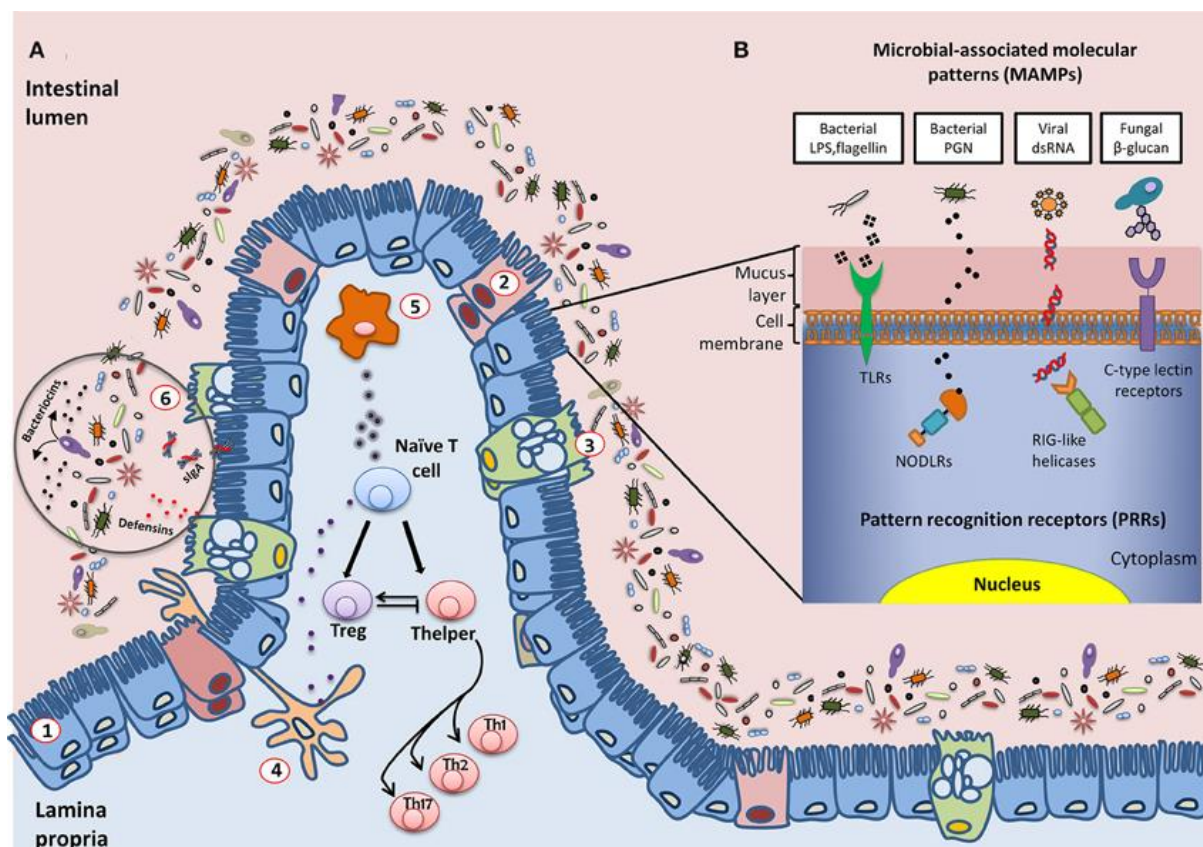
Immunoglobulines A*:

Le microbiote intestinal induit la production d'immunoglobulines A, ou IgA*, première ligne de défense spécifique de l'antigène (2,50).

Les IgA ont un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie des surfaces mucosales, notamment dans le tractus gastro-intestinal : ils permettent de neutraliser les bactéries pathogènes en s'y liant, tout en maintenant une relation mutuellement bénéfique avec les bactéries commensales (50,51). De plus, ces IgA* permettent de signaler les bactéries commensales ayant tendance à provoquer une réponse immunitaire forte et donc induire une colite (51).

En résumé, par la présentation de leurs antigènes aux cellules M des plaques de Peyer, les bactéries induisent la production d'IgA* qui permettent de maintenir l'homéostasie de la flore bactérienne.

Les IgA* sont sécrétées dans le lumen en grandes quantités, et permettent de limiter et contrôler la colonisation bactérienne ainsi que d'empêcher les bactéries de pénétrer l'épithélium intestinal.(31)



Représentation schématique des interactions entre le microbiote et le système immunitaire de l'hôte (31)

Schéma : (1) Entérocytes ; (2) Cellules M ; (3) Cellules caliciformes ; (4) Cellules dendritiques ; (5) Macrophages) ; (6) Défensines/Bactériocines/IgA*

B : Exemples d'interactions moléculaires entre les antigènes microbiens et les cellules hôtes, via les PRR*.

6) Le microbiote sain

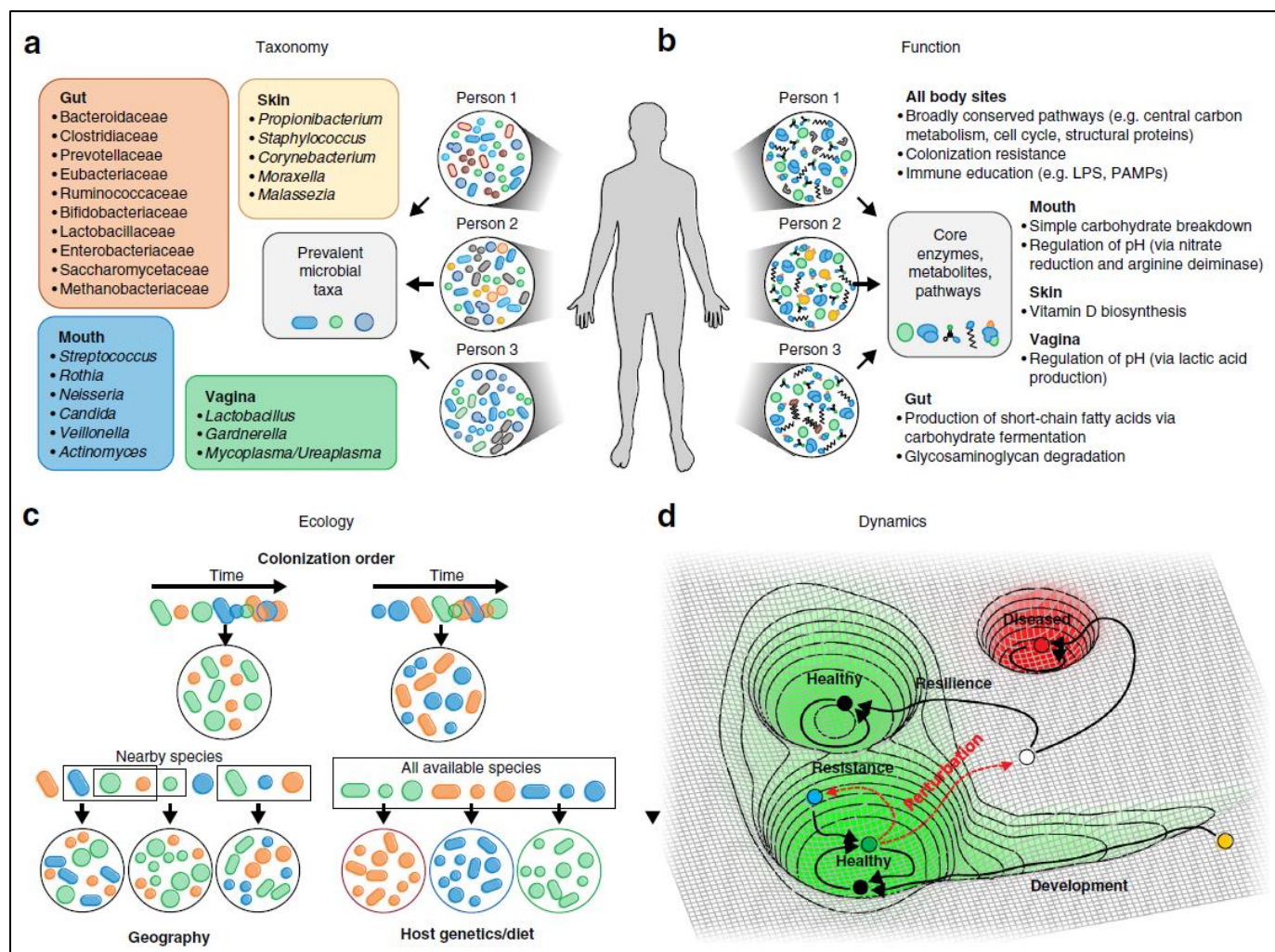
a) Définition(s)

Un microbiote sain, est un microbiote dont la composition permet un bon fonctionnement du système digestif et ne mène à aucun symptôme (52). Une bonne diversité microbienne est marqueur d'un microbiote sain. (52)

Chaque individu possède en moyenne 160 espèces bactériennes différentes dans son microbiote intestinal. Les microbiotes sains sont en général dominés par des

bactéries de deux phyla : Bacteroidetes et Firmicutes, bien que le ratio Firmicutes/Bacteroidetes varie en fonction des individus sains. (52)

Plusieurs définitions d'un « microbiote sain » sont possibles :



Différentes définitions possibles du microbiote sain, tiré de Lloyd-Price et al., 2016 (52)

a : La première définition est la plus « simpliste » et la plus ancienne. Cette définition d'un « microbiote sain » se base sur des listes de taxa qui seraient retrouvées de manière prévalente chez les individus sains. (52)

b : La deuxième définition du « microbiote sain » est basée sur la métagénomique. Cette dernière permet de déterminer le potentiel fonctionnel du microbiote, et ainsi de déterminer les fonctions essentielles à un microbiote sain, c'est ce que l'on appelle le « fonctionnal core » (52). Cette notion sera développée dans la partie suivante.

c : La troisième définition possible se base sur des modèles d'assemblage écologique. Chaque hôte pourrait tirer son microbiote d'une métapopulation (c'est-à-dire un ensemble de populations bactériennes) « typique » de potentiels colonisateurs, via des processus partiellement aléatoires, qui sont l'ordre dans lequel les microbes

ont colonisé leur habitat, la « disponibilité » de ces derniers dans l'environnement de l'hôte, et la sélection de l'hôte (via le régime alimentaire ou leur génétique). (52)

d : La quatrième définition peut se baser sur la dynamique du microbiote. Sur le schéma, le point jaune représente le microbiote infantile, qui est dans un état instable. Ce dernier se développe vers un microbiote sain. Des perturbations (flèches rouges) peuvent amener à une résistance ou bien faire passer le microbiote dans un état instable. De ce point ci, un microbiome résilient va retourner à un état sain (mais pas forcément le même qu'à l'origine), ou bien va passer à un état non sain (en rouge) (52).

b) Composition du microbiote sain : la notion de « fonctionnal core »

Il est difficile de déterminer un microbiote sain « idéal », au vu de la diversité de ses composants. Tous les microbiotes sont différents, même chez des jumeaux. Plutôt que de définir un microbiote sain par sa composition bactérienne, une autre approche est de définir un microbiote sain de par son potentiel fonctionnel. Ainsi, plusieurs microbiotes totalement différents, s'ils ont le même potentiel fonctionnel, peuvent être des microbiotes sains. (52)

Cette notion se nomme le « fonctionnal core ». Le fonctionnal core est un ensemble de fonctions métaboliques et moléculaires, effectuées par le microbiome dans un certain habitat (ici le tractus digestif), mais pas nécessairement par les mêmes organismes chez les différents individus (52). On pourrait traduire cette notion par « noyau fonctionnel ».

Ce noyau fonctionnel doit être présent au niveau du génotype* (donc encodé dans l'ADN du métagénome du microbiome) mais aussi au niveau phénotype* ; ceci de la même manière que le génome humain ne doit pas encoder des mutations délétères afin d'être sain, ou bien ces dernières ne doivent pas être exprimées, tout en exprimant des gènes nécessaires à son bon fonctionnement. (52)

Le « fonctionnal core » sain doit inclure au moins ces fonctions :

- Les fonctions nécessaires au maintien et à l'entretien des bactéries du microbiote (les « housekeeping genes »), fonctions non exécutées par les cellules humaines. Cela inclut la transcription et la traduction des gènes microbiens, la production d'énergie, et les composants structurels (52)
- Des fonctions spécifiques à l'association hôte/microbiote, c'est-à-dire des fonctions d'adhésion aux cellules hôtes, et la production de composants impliqués dans les interactions hôte-microbiote, comme par exemple des vitamines essentielles comme la vitamine K ; la biodégradation des glycosaminoglycanes, la production d'AGCC*, la production d'acides aminés essentiels... (52)
- Une certaine résilience aux changements internes (âge, pathologie...) et externes (alimentation, médicaments...), permettant de retourner à un état sain

après des perturbations (52). En effet cette résilience est nécessaire, sans quoi ces fonctions ne pourraient être maintenues au long terme.

- Une résistance aux perturbations citées ci-dessus. (52)

7) Dysbiose* : Causes et conséquences sur la santé

a) Définition de la dysbiose*

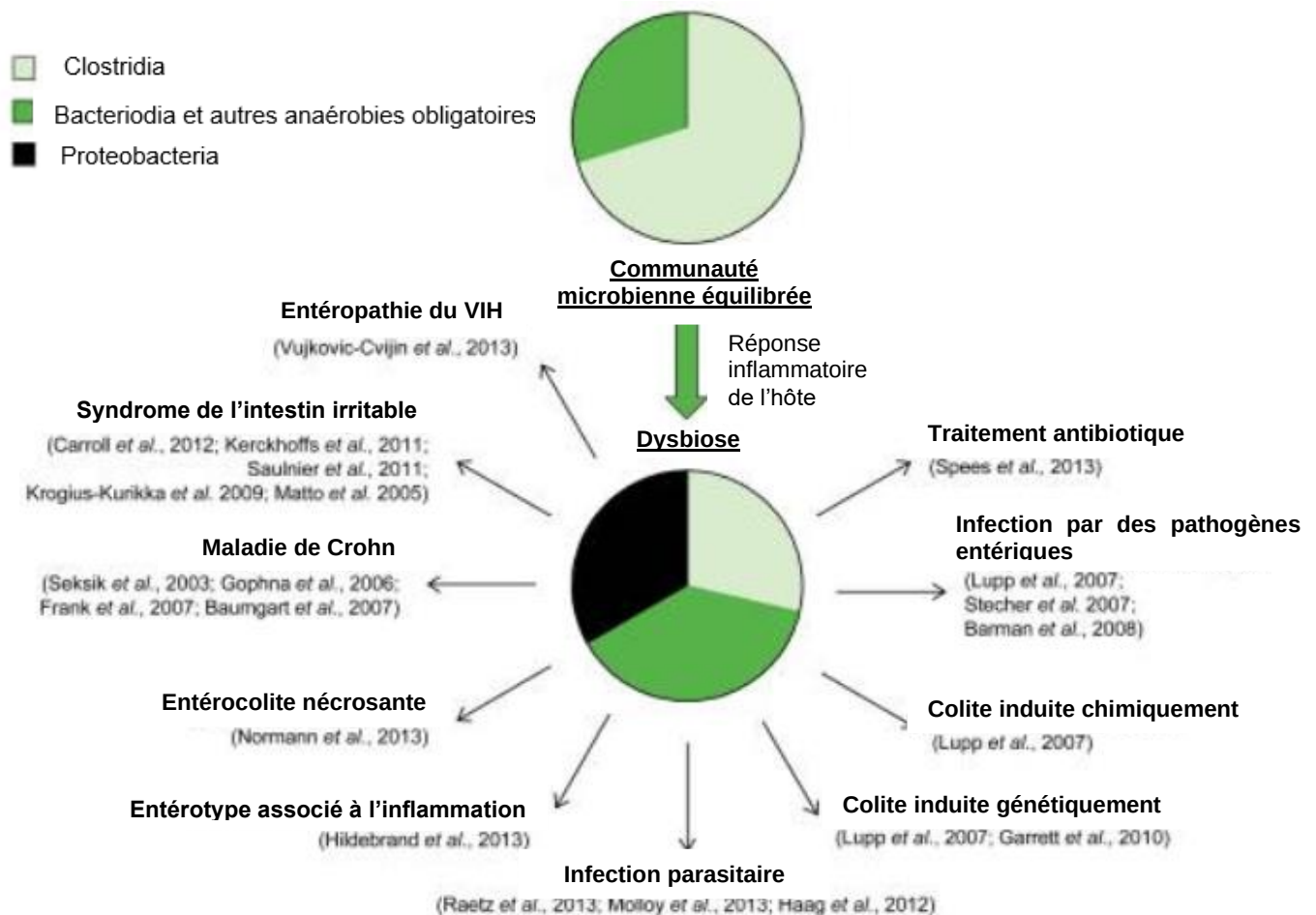
La dysbiose* est une altération qualitative et/ou fonctionnelle de la flore intestinale. (1)

Comme vu précédemment, le microbiote intestinal joue un rôle dans de nombreuses fonctions du corps humain. (1) En conséquence, la perturbation du microbiote intestinal peut avoir un impact important sur la santé et favoriser des pathologies comme le diabète, l'obésité, et des maladies chroniques inflammatoires. (53)

b) Causes

Le niveau de diversité et la composition bactérienne de la flore des individus sains diffère de ceux des patients atteints de maladies métaboliques ou de maladies infectieuses. La dysbiose* est caractérisée par :

- Une réduction de la diversité bactérienne,
- Une abondance diminuée des *Clostridia* (anaérobies obligatoires)
- Un développement de Gammaprotéobactéries anaérobies facultatives comme par exemple les Enterobacteriaceae. (54,55)



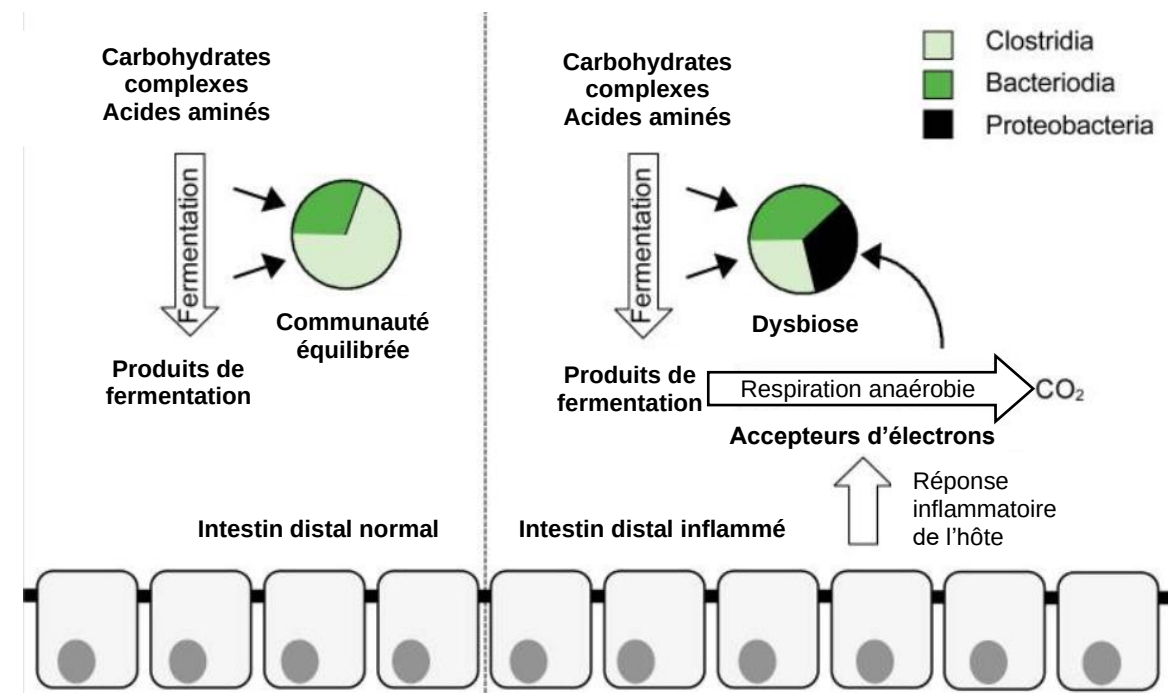
Causes et conséquences possibles de la dysbiose*, par Winter et al (55)

Le mécanisme entraînant ces changements peut être expliqué par plusieurs principes.

L'inflammation intestinale de l'hôte entraîne un développement de bactéries anaérobies facultatives, principalement de la famille des *Enterobacteriaceae* (phylum Proteobacteria). Cette inflammation peut être due à une réponse à une infection par des bactéries pathogènes, par un déclencheur chimique, par les antibiotiques ou par des prédispositions génétiques. Certains pathogènes de la famille des *Enterobacteriaceae* utilisent leurs facteurs de virulence* afin de causer une inflammation et auto-entretenir leur développement.

De plus, la réponse immunitaire entraîne la production de dérivés réactifs de l'oxygène et des dérivés réactifs du nitrogène. Ces composants antimicrobiens diffusent loin de l'épithélium intestinal, et réagissent afin de devenir des accepteurs d'électrons. Ces derniers sont utilisés par des bactéries pathogènes comme *Salmonella enterica* et *Escherichia coli* afin de se nourrir par respiration anaérobie. Cela entraîne leur développement incontrôlé dans le lumen intestinal. Cette respiration anaérobie leur procure dans ce cas un avantage important, permettant à ces bactéries anaérobies facultatives d'utiliser des substrats non fermentables comme source de carbone et de passer outre la compétition alimentaire pour les nutriments fermentables avec les bactéries anaérobies obligatoires comme *Bacteroidia* et *Clostridia*, cette compétition permettant en temps normal de limiter le développement des bactéries pathogènes.

En résumé, en produisant des accepteurs d'électrons, la réponse immunitaire de l'hôte nourrit de manière sélective les bactéries anaérobies facultatives, expliquant ainsi la prévalence augmentée des Proteobacteria durant l'inflammation. (55)



L'inflammation de l'intestin peut conduire à une dysbiose* : mécanisme , par Winter et al (55)

Ces mécanismes ne sont probablement pas les seuls contribuant aux changements dans la structure du microbiote lors d'une dysbiose*. (55)

Des perturbations dues à des traitements, notamment des traitements antibiotiques, peuvent aussi mener à une dysbiose* : en effet, les antibiotiques éliminent certaines espèces bactériennes, laissant la voie libre à d'autres espèces pour se développer de manière incontrôlée, la compétition pour les nutriments ainsi que pour l'espace étant réduite. Ceci mène à un déséquilibre menant à la dysbiose* (29).

c) Conséquences

Comme vu dans la partie 5, le microbiote a un rôle très important dans la santé de l'hôte. Par conséquent, une altération de ce dernier peut causer de divers troubles, allant des troubles métaboliques (diabète de type 2, maladies cardiovasculaires) aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, ainsi qu'au cancer colorectal (2,56).

- Troubles digestifs : Syndrome de l'intestin irritable*

Le syndrome de l'intestin irritable* est caractérisé par des douleurs abdominales ou un inconfort intestinal, ainsi qu'une fonction intestinale altérée (53). Son étiologie est multifactorielle, mais des études ont révélé que des perturbations du microbiote pouvaient avoir un rôle dans l'inflammation de bas grade associée à ce syndrome. Ce

dernier est caractérisé par une augmentation des *Firmicutes*, et à une réduction des *Bifidobacterium* et des *Faecalibacterium* (53).

- **Maladies métaboliques**

Dans une étude de transplantation fécale, des individus ayant un syndrome métabolique* ont été transplantés soit avec le microbiote d'un individu sain, soit avec leur propre microbiote. Après 6 semaines, la sensibilité à l'insuline était augmentée uniquement chez les individus ayant reçu le microbiote d'individus sains : le microbiote sain a permis d'améliorer la sensibilité à l'insuline (34).

De nombreuses études ont été réalisées sur des modèles animaux pour explorer cet aspect positif du microbiote. Parmi elles, plusieurs ont montré une abondance moindre en *Akkermansia* lorsqu'elles avaient une déficience en leptine (hormone anorexigène), ou nourries avec un régime riche en graisses. L'administration d'*A. muciniphila*, dans de nombreuses études, chez ces souris, contre les effets délétères d'un régime riche en graisses, c'est-à-dire la prise de poids. De plus, cette administration permet aussi de restaurer l'intégrité de la barrière épithéliales (c'est-à-dire l'épaisseur de mucus) qui est perturbée par le régime riche en graisses, de contrecarrer l'endotoxémie (LPS sérique), d'améliorer la sensibilité à l'insuline, d'améliorer la tolérance au glucose, et d'améliorer le profil métabolique (34).

Chez l'humain, l'abondance d'*Akkermansia* est diminuée chez les individus obèses ou atteints de diabète de type 2. Plusieurs études montrent une corrélation négative entre cette bactérie et des marqueurs de désordres métaboliques (34,35,57).

Dans une grande étude Danoise de 2013 comparant des personnes obèses et des personnes saines, il a été montré que des sujets avec un métagénome riche étaient en meilleure santé que des individus avec un métagénome pauvre (34,58). Ces derniers étaient caractérisés par une adiposité plus marquée, une résistance à l'insuline, une dyslipidémie et un phénotype* inflammatoire plus prononcé (58). De plus, *A. muciniphila* était présent de manière plus importante dans le groupe sain (34).

Une étude française de 2016 a conclu des résultats similaires : des individus avec un métagénome riche ainsi qu'une présence plus importante de *A. muciniphila* avaient une glycémie à jeun plus basse, un rapport taille/hanches plus bas, et de plus petits adipocytes sous-cutanés, ainsi qu'une meilleure sensibilité à l'insuline. (34,57)

La dysbiose* est aussi un facteur de risque d'obésité. En effet, comme vu précédemment, le microbiote a un rôle important dans l'homéostasie et la formation des réserves de graisses. De plus, les différentes méthodes d'études du microbiote ont permis de montrer l'existence d'un lien entre la composition du microbiote et l'obésité. Certains microorganismes augmentent l'absorption des monosaccharides par l'intestin et entraînent une augmentation de la production hépatique de triglycérides par l'hôte. Ils peuvent aussi influencer d'autres facteurs comme augmenter l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL), la lipogenèse, augmenter la perméabilité intestinale, l'absorption de nutriments (59).

- **Maladies auto-immunes : les MICI**

Les MICI (Maladies Inflammatoires de l'intestin) sont définies comme une inflammation chronique de l'intestin. Elles incluent la Maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Elles sont caractérisées par une réaction immunitaire inappropriée de l'hôte au microbiote intestinal (49).

Des études immunologiques, microbiologiques et génétiques montrent qu'il existe des interactions anormales entre l'hôte et le microbiote dans la maladie de Crohn. En effet, chez les patients atteints de cette maladie, on retrouve une dysbiose* caractérisée par une réduction de la biodiversité bactérienne, et une faible population de bactéries ayant des propriétés anti-inflammatoires, notamment *F. prausnitzii* (cf partie 5)e.), ainsi qu'une augmentation de la population de bactéries pro-inflammatoires comme *Escherichia coli* (44,60). Il a été observé qu'une faible quantité de *F. prausnitzii* dans les fèces était prédictif d'une rechute de la maladie chez les patients en rémission (44).

De plus, certaines espèces bactériennes ont été associées à la maladie de Crohn : *Escherichia coli*, *Campylobacter concisus* et *Helicobacter* sp. (44).

Il a été vu dans la partie 5) e) que certaines bactéries du microbiote induisaient, via la production d'acides gras à chaîne courte*, le TGF- β , une cytokine qui régule la réponse immunitaire, et contribue à l'induction de la tolérance immunitaire*. Une déficience dans l'expression de cette cytokine est observée chez les patients atteints de MICI, et résulte spontanément en une inflammation de l'intestin chez les modèles murins (49).

La dysbiose* pourrait prédisposer les patients atteints de la MC à rechuter. La composition du microbiote de patients atteints de cette maladie a été étudiée afin d'identifier des facteurs prédictifs de rechute clinique après l'arrêt d'infliximab (anti TNF- α). Pour cela, les chercheurs ont comparé la composition bactérienne des différents sujets, à différents moments (au début de l'étude au moment de l'arrêt du traitement, puis à 2 mois, 6 mois et 16 mois). Chez les patients atteints de MC, de faibles quantités de Firmicutes (*Clostridium coccoides*, *Clostridium leptum*, *Faecalibacterium prausnitzii*) ont été retrouvées par rapport à des patients non atteints. Les quantités de Firmicutes retrouvées chez les patients malades qui ont rechuté par la suite étaient plus faibles que les quantités de Firmicutes chez les patients malades en rémission. De plus, de faibles quantités de *F. prausnitzii* et de *Bacteroides* étaient retrouvées chez les patients en rechute, et ce indépendamment des niveaux de CRP (Protéine C réactive). Chez un même patient, la composition du microbiote ne variait pas ou peu au fil du temps. Ainsi, un microbiote caractérisé par une faible quantité de ces bactéries peut représenter un facteur prédictif de rechute après l'arrêt du traitement immunosuppresseur (60).

- **Autres**

Des altérations dans la composition du microbiote intestinal pourrait être associé à la maladie d'Alzheimer, un syndrome neurodégénératif associé à une accumulation de dépôts β -amyloïdes. Certaines bactéries du microbiote peuvent libérer certaines quantités de substances amyloïdes, ainsi que de lipopolysaccharides, qui joueraient un rôle dans la modulation des voies de signalisation et la production de cytokines inflammatoires liées à la pathogénèse de la maladie d'Alzheimer. En effet, ils

pourraient activer des voies de signalisation jouant un rôle dans la pathogénèse de la maladie. (61)

Dans des conditions de dysbiose*, le microbiote intestinal est perturbé et une inflammation chronique se met en place, entraînant un certain nombre de réactions métaboliques et immunogéniques, ce qui contribue au développement de la pathologie.

De plus, les nutriments affectent la composition du microbiote ainsi que la formation de dépôts β -amyloïdes : cela suggère que la modulation du microbiote et de l'amyloïdogenèse *via* des modifications nutritionnelles pourrait réduire le risque de maladie d'Alzheimer. (61)

La dysbiose* intestinale pourrait aussi être impliquée dans la pathogénèse de la polyarthrite rhumatoïde, une maladie inflammatoire chronique qui touche les articulations, et qui résulte d'interactions complexes entre différents facteurs (génétiques, environnementaux, et hormonaux) et le système immunitaire. Certaines recherches mettent en évidence que l'autoimmunité serait reliée au tractus gastrointestinal et plus particulièrement au microbiote : Les sujets atteints de PR ont un microbiote différent des sujets sains, avec une réduction de certaines familles de bactéries (*Bifidobacterium* et *Bacteroides*), et une augmentation des espèces telles que *Prevotella*. De plus, un microbiome altéré se voit restauré chez les patients montrant une amélioration clinique. (62)

Le rôle du microbiote intestinal dans la PR a été démontré par l'induction/exacerbation de l'arthrite chez les modèles murins : des perturbations du microbiote induisent la production de cytokines pro-inflammatoires, ainsi qu'une augmentation des cellules Th17, dans les intestins ainsi que dans les tissus extra-intestinaux. (62)

- **AVC et AIT :**

Le microbiote pourrait jouer aussi un rôle dans les pathologies cérébrovasculaires. Cela passerait par la transformation de la choline et de la L-carnitine par certaines bactéries en triéthylamine : ce métabolite est ainsi oxydé par la suite en N-oxyde de triéthylamine dans le foie, ce qui favorise l'athérogénèse. Une étude a montré que des patients victimes d'AVC ou d'AIT ont un microbiote plus riche en pathogènes opportunistes (*Enterobacter*, *Megasphera*, *Oscillibacter*, *Desulfovibrio*), tandis que les bactéries bénéfiques (*Bacteroides*, *Prevotella*, *Faecalibacterium*) sont diminuées, et ce comparé à des patients témoins asymptomatiques (chez qui il n'y avait pas de différence notable dans le microbiote, qu'ils présentent ou non des plaques d'athérosclérose). La dysbiose* était d'autant plus marquée que l'AVC était sévère. (63)

8) Outils d'étude du microbiote

a) Microscopie

La technique la plus ancienne pour déterminer la composition du microbiote intestinal est une technique basée sur la culture des bactéries (53). Cette technique présente un inconvénient majeur : elle cible uniquement les bactéries pouvant se développer sur des milieux de culture. Ainsi, cette technique est la moins populaire :

seules 10 à 50% des bactéries du microbiote intestinal sont cultivables, et ce malgré l'émergence de nouvelles techniques de culture pouvant permettre l'observation d'autres espèces auparavant non cultivables (53).

b) Séquençage ciblé du gène de l'ARN ribosomal 16S

Depuis une dizaine d'années, l'étude de la composition du microbiote s'est nettement améliorée avec l'apparition de méthodes de séquençage haut débit à moindre coût. L'approche la plus courante est de cibler le gène de l'ARN ribosomal 16S. En effet, ce gène est présent dans toutes les bactéries et archées, et contient 9 régions hautement variables (V1 – V9), ce qui permet de distinguer facilement les différentes espèces (2,53,64).

Historiquement, on considère que plus de 95% de similarité entre deux séquences représente des microorganismes du même genre, et plus de 97% de similarité représente des microorganismes de la même espèce (65).

La méthode la plus courante est de séquencer les régions variables uniquement, mais depuis récemment, il est possible de séquencer le gène entier à haut débit, ce qui permet d'obtenir une plus haute résolution taxonomique. (65)

De plus, les plateformes de séquençage de gènes dans toute leur longueur sont suffisamment précises pour identifier les substitutions de nucléotides, même les plus subtiles, qui existent entre les copies intragénomiques du gène 16S (65).

Le gène de l'ARNr 16S* est aussi exploité par du séquence à haut débit, afin de pouvoir distinguer différentes souches (aussi appelées « sous-espèces »), grâce à la détection de polymorphismes dans le gène (65).

Le séquençage de l'ARN 16s dans l'étude du microbiote intestinal comprend plusieurs étapes. Tout d'abord, il faut collecter la/les échantillons de selles. Ensuite, l'ADN est extrait, puis dénaturé afin de n'être que simple brin. L'ADN d'intérêt est ensuite « marqué » par une amorce spécifique au début du gène que l'on veut étudier. Le gène de l'ARNr 16S* marqué est par la suite amplifié par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) grâce à une Taq polymérase à partir de l'amorce, qui va synthétiser un brin complémentaire. L'échantillon est ensuite séquençé. Les séquences sont alors analysées bioinformatiquement et comparées entre elles afin d'identifier les différentes espèces voire les différentes souches. (66,67)

c) Shotgun metagenomics

La métagénomique globale ou « shotgun » est la manière la plus efficace pour séquencer une grande quantité d'ADN. L'ADN est « cassé » de manière aléatoire en plusieurs petits morceaux d'ADN, et chacun de ces morceaux est séquençé individuellement. Ces séquences sont ensuite analysées informatiquement, en identifiant des parties de séquences identiques : ainsi, ces parties sont « superposées », ce qui permet d'assembler les séquences les unes aux autres, afin d'avoir au final une séquence complète des gènes (68).

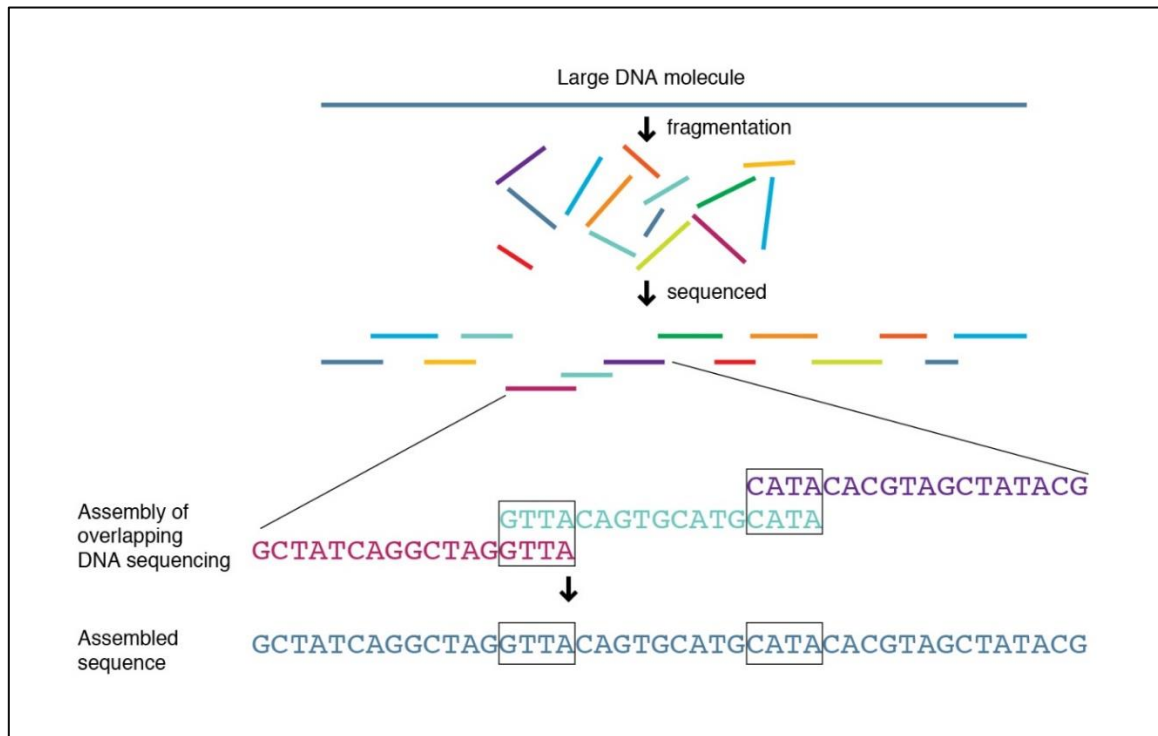


Schéma illustrant le processus de métagénomique « shotgun », Par Eric D. Green (68)

Cette technique permet de séquencer tous les gènes de tous les organismes présents dans un échantillon. Elle permet donc d'évaluer la diversité microbologique d'un environnement. Elle permet aussi d'étudier des organismes incultivables *in vitro* (69). Grâce à cette technique, il est possible d'identifier plusieurs espèces ainsi que de caractériser leur génome (et donc identifier des sous-types), sans avoir recours à des procédures spécifiques à chaque espèce. (28)

III- Les protozoaires intestinaux et autres eucaryotes

Les eucaryotes du microbiome ont un rôle tout aussi important que les procaryotes, mais bien moins reconnu et étudié (21).

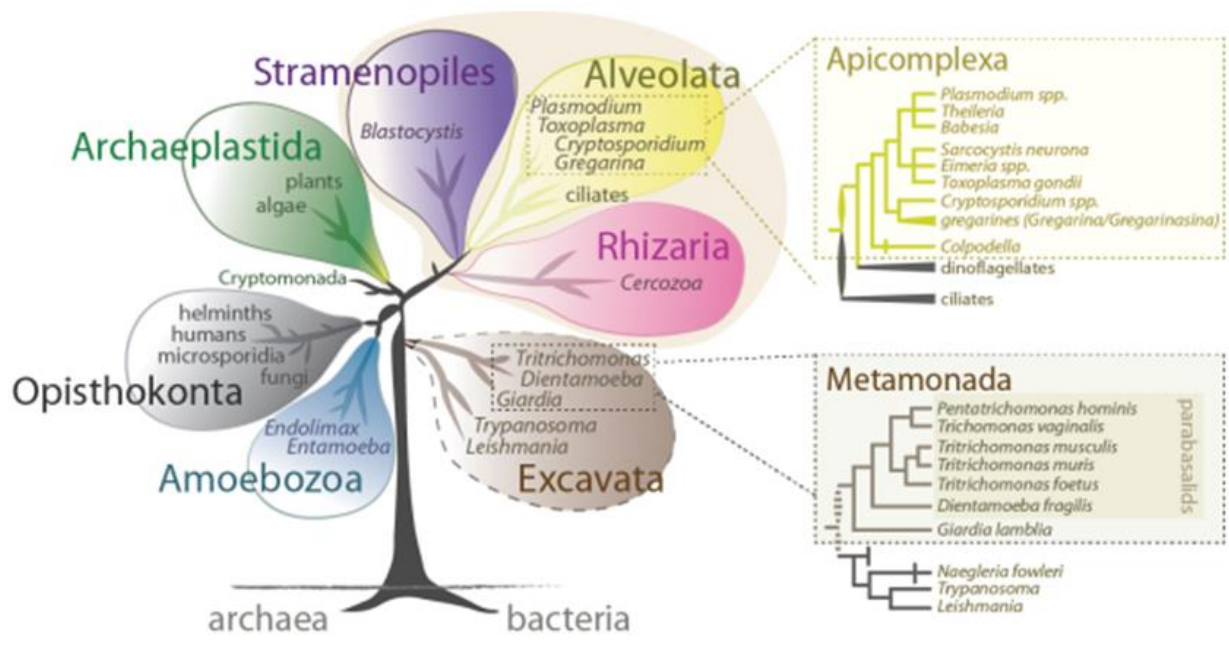
1) Classification

Les protistes sont des eucaryotes unicellulaires, mesurant de 1 à 15 μm . Ce groupe n'est pas monophylétique mais existe pour des raisons pratiques puisqu'il rassemble uniquement des organismes eucaryotes à une seule cellule (70).

Il y a plusieurs groupes chez les protistes, parmi les protozoaires intestinaux les plus courants il y a :

- Les Amoebozoaires = Les amibes (Comme *Entamoeba histolytica*)
- Les Métamonadines = Les flagellés (Comme *Giardia duodenalis*) ; parmi elles les Parabasaliens = Flagellés intestinaux ou urogénitaux (Comme *Trichomonas vaginalis*)
- Les Kinétoplastidés (Comme *Leishmania* spp ou *Trypanosoma*)

- Les Apicomplexa (Comme *Toxoplasma gondii* ou *Plasmodium* spp.)
- Etc.



Arbre phylogénétique des protozoaires, tiré de A. Popoviv, 2022 (71)
 On peut voir sur cette figure que les protozoaires ont une très grande diversité génétique. Les Excavata sont entourés en pointillés, car des études récentes ont remis en cause la monophylie de ce groupe. A droite du schéma, des arbres supplémentaires apportent des détails supplémentaires sur les taxa des Apicomplexa ainsi que des Metamonada.

2) Les principaux protozoaires intestinaux

Plusieurs protozoaires peuvent être retrouvés dans le système digestif. Les plus communs sont *Blastocystis* spp. (2-70%), *Giardia duodenalis* (5-20%), *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar* (2-21%), *Cryptosporidium* spp. (1-17%) (72). Ils sont surtout présents dans les pays en voie de développement, où les conditions d'hygiène et l'accès difficile à l'eau potable augmentent l'exposition aux agents infectieux (28,28,73).

a) Les protozoaires pathogènes

Certains protozoaires sont délétères pour leur hôte ainsi que pour le microbiote, entraînant divers symptômes gastro-intestinaux. Parmi les plus connus il y a :

Giardia duodenalis : Ce protozoaire est responsable de la giardiose (74). Il peut entraîner des changements dans la distribution spatiale des microorganismes du microbiote et créer une dysbiose*, et ceci au long terme. Cela peut entraîner le développement et la multiplication de bactéries opportunistes (comme *E. coli* ou *Enterococcus* spp.) ainsi que des réponses inflammatoires de l'intestin (73).

Entamoeba histolytica : *E. histolytica* est une espèce pathogène du genre *Entamoeba*, responsable de l'amibiase (73,74). Ce protozoaire peut altérer de manière

significative les bactéries prédominantes du microbiote, voire, chez certains patients, supprimer certains genres (comme *Bacteroides*, *Eubacterium* et *Lactobacillus*) (73).

b) Les protozoaires commensaux

Les protozoaires pathogènes sont les protozoaires intestinaux les plus étudiés. Néanmoins, la plupart des eucaryotes intestinaux ne sont pas pathogènes (75).

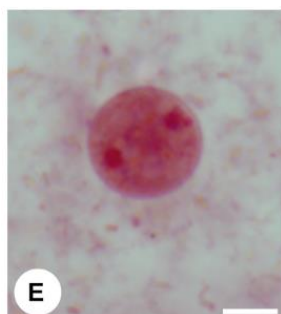
L'Homme a co-évolué avec ces protozoaires, permettant ainsi une colonisation asymptomatique voire bénéfique entre les protozoaires et leur hôte. Des kystes de protozoaires peuvent être retrouvés dans des coprolithes (matières fécales fossilisées) humains, ce qui montre bien qu'ils font partie de la communauté microbienne intestinale depuis des millions d'années (24).

L'étude des flagellés et des ciliés chez les hôtes non humains ont mené à la reconnaissance que ces « parasites » peuvent en réalité aider l'hôte à dégrader la cellulose, et ainsi maintenir des processus métaboliques vitaux chez l'hôte. Il serait même préférable de se référer aux eucaryotes intestinaux comme des « symbiontes » plutôt que des « parasites ». Ainsi, ce terme pourrait couvrir les protozoaires mutualistes, les commensaux, et les parasites à proprement parler (76).

La colonisation à long terme de l'intestin par des eucaryotes est courante chez les individus sains, et moins commune chez les patients atteints de maladies inflammatoires ou fonctionnelles de l'intestin (77).

De plus en plus de preuves montrent que de nombreux eucaryotes du tractus gastro-intestinal humain sont commensaux ou bénéfiques, plutôt que parasites, ou tout du moins dans certains contextes. Par exemple, le protozoaire *Blastocystis* spp. dont on parlera dans la dernière partie, est retrouvé fréquemment chez des individus sains, à des prévalences plus grandes que chez des individus atteints de maladies gastro-intestinales (21).

Un autre protozoaire intestinal a un rôle similaire dans l'écosystème : il s'agit de *Dientamoeba fragilis* (21).



Dientamoeba fragilis. (21)
La barre correspond à 5µm.

Les protozoaires du genre *Entamoeba* peuvent aussi être considérés comme des commensaux, à l'exception d'*Entamoeba histolytica* qui est pathogène (21).

3) Différence entre les protozoaires pathogènes et commensaux

Différents facteurs différencient les protozoaires pathogènes des protozoaires commensaux et mutualistes.

a) *Durée d'infection*

Le premier facteur est la durée d'infection du protozoaire. En effet, les organismes pathogènes, qui provoquent une réaction aigue et une réponse immunitaire, disparaissent vite de l'organisme et une immunité contre eux peut parfois se mettre en place. Les organismes bénéfiques, à l'inverse, colonisent leur hôte sur le long terme, voire sur leur vie entière (21).

Blastocystis par exemple, peut coloniser l'intestin de manière stable sur une durée de 6 à 10 ans environ (7,78).

b) *Localisation*

Le second facteur est la localisation du protozoaire. Les parasites pathogènes, comme *Entamoeba histolytica*, ont la capacité d'envahir les tissus de l'hôte, de traverser la barrière intestinale, et causer des infections extra-intestinales comme des abcès dans différents organes. Les commensaux, eux, restent confinés dans le lumen de l'intestin (21).

c) *Contexte*

La nature de la relation entre l'hôte et le protozoaire peut varier en fonction du contexte : ainsi, un organisme peut être pathogène dans certains cas, et bénéfique dans d'autres (21).

De nombreux organismes « pathogènes » colonisent le corps humain et persistent sans causer de symptômes cliniques. D'autres organismes (comme par exemple la bactérie *E.coli*) peuvent être pathogènes dans un environnement, mais pas dans d'autres. Certaines espèces ne provoquent des symptômes que chez les sujets immunodéprimés et non chez les sujets immunocompétents. Ces organismes sont des pathogènes « opportunistes » (79).

En fonction du contexte, certains protozoaires peuvent causer des pathologies ou bien être mutualistes. Beaucoup peuvent être considérés comme des pathobiontes* : ils ne sont pas délétères habituellement, mais sont capables d'être pathogènes dans certaines situations (80).

Diverses études suggèrent que le contexte dans lequel ces microorganismes vivent est un facteur important expliquant la virulence* pouvant être variable (80).

4) Interactions des parasites intestinaux avec le microbiote (et vice versa)

Les eucaryotes et les procaryotes ont cohabité dans le tractus intestinal des vertébrés depuis des millions d'années, temps durant lequel le système immunitaire a évolué, ainsi ces trois parties ont co-évolué (80).

Les protozoaires intestinaux, qu'ils soient commensaux ou pathogènes, interagissent avec la communauté microbienne de l'intestin ainsi qu'avec l'hôte, impactant grandement la relation hôte/microbiote et influençant les fonctions protectrices et immunomodulatrices du microbiote (73).

Des protistes pathogènes, comme *Giardia* et *Entamoeba histolytica*, sont associés à des changements de la diversité bactérienne intestinale, ou bien avec des changements de sa composition, tout comme les protistes non pathogènes. Pour les protistes pathogènes, cela est probablement dû aux dommages portés au mucus intestinal ou à l'inflammation (81,82).

L'eucaryome peut avoir des effets importants sur la composition et la dynamique du microbiome. Bien que beaucoup moins abondants que les bactéries, les eucaryotes résidents dans l'intestin sont beaucoup plus grands, et par conséquent ont une influence bien plus importante que s'ils étaient de la taille des bactéries, de la même manière que les plus grands animaux ont un impact plus important que les petits sur les écosystèmes, à l'échelle de la nature (21).

Les parasites intestinaux et les bactéries interagissent entre eux, de manière directe ou *via* l'hôte. Ils peuvent interagir de manière positive ou de manière négative.

a) Modifications du mucus intestinal

Les parasites intestinaux sont capables de modifier les aspects physiques de l'écosystème intestinal : la barrière de mucus et la barrière épithéliale. Ceci mène à une modification du paysage écologique de l'intestin. (80)

La couche extérieure de mucus abrite et nourrit de nombreux taxa microbiens. De plus, elle a une fonction barrière qui permet l'accès et les interactions avec les cellules immunitaires de l'hôte. Elle protège l'hôte contre des micro et macroorganismes pathogènes. Les parasites intestinaux ont des effets importants sur la production de mucus, ce qui entraîne des effets sur le microbiote. (80)

Beaucoup d'Helminthes stimulent la sécrétion de mucus, *via* les lymphocytes T helper de type 2*, qui entraînent la production d'interleukines 13 et 22*, entraînant à leur tour la prolifération de cellules caliciformes (cellules productrices de mucus). Ceci est une réponse de l'hôte ayant pour visée d'expulser le parasite. (80)

Les nématodes entraînent des changements structuraux des mucines (la glycoprotéine constituant le mucus). Ceci entraîne une modification des propriétés biochimiques du mucus. (80)

Les protozoaires changent aussi l'abondance de mucus ainsi que sa composition. Certaines espèces comme *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* et *Trichomonas suis* produisent des enzymes mucolytiques qui leur permettent de pénétrer la barrière mucosale. *Toxoplasma gondii* entraîne une augmentation du nombre de cellules caliciformes, et entraîne aussi une production de mucines plus acides et neutres. Ainsi, la fluidité du mucus augmente. (80)

Ces changements dans la production de mucus peuvent modifier la disponibilité des nutriments pour les procaryotes, la clairance microbienne, ainsi que l'accès à l'épithélium. Plusieurs taxons, comme les Bacteroidetes, les Firmicutes, les Actinobactéries ainsi que les Verrucomicrobia, utilisent les carbohydrates du mucus en tant que source de carbone. Ainsi, ils ont tendance à gagner un avantage compétitif lors de l'augmentation de la production de mucus. (80)

Les parasites ont aussi un effet sur la barrière épithéliale elle-même. Par exemple, les Helminthes peuvent entraîner une augmentation du « turnover* » de cellules épithéliales intestinales. Ceci, combiné à l'augmentation du flux de mucus, a pour conséquence la sélection de microbes capables de se multiplier à une fréquence importante, car non éjectés de l'intestin. (80)

Certains protozoaires et certains Helminthes, lors de leur pathogenèse, abiment l'épithélium intestinal *via* la rupture des jonctions serrées*, ou l'invasion et la destruction de cellules. Ceci, combiné avec la mucolyse dont certains protozoaires sont capables, entraîne des contacts plus importants de la flore intestinale avec la barrière épithéliale, voire même parfois la translocation des bactéries vers la circulation porte. (80)

Certains Helminthes améliorent la régénération épithéliale des entérocytes (ainsi que la production de mucus comme vu précédemment) *via* la production d'IL-22* : ceci permet de contenir les bactéries de la flore dans l'intestin et limiter leur accès à l'épithélium. (80)

Ainsi, les parasites ont un rôle d'« ingénieurs de l'écosystème » en modifiant le milieu de vie des bactéries intestinales.

Le microbiote intestinal est capable de moduler l'expression de gènes impliqués dans la biosynthèse des mucines ainsi que la perméabilité de la barrière mucosale. Le mucus étant un élément indispensable de défense de l'hôte contre les parasites intestinaux en empêchant leur adhésion à l'épithélium, il est probable que cela ait des effets sur la colonisation parasitaire, leur persistance et leur prolifération. (80)

Les bactéries commensales gram-positives modulent le turnover* des entérocytes et leur « réparations » *via* la production d'AGCC*. L'augmentation du turnover* agit comme un « tapis roulant » épithélial et aide à l'élimination des parasites hors de l'intestin. (80)

b) Réponses immunitaires innées et adaptatives

Certains Helminthes augmentent l'expression de TLRs* (Toll-Like Receptors). Ceci entraîne une activation des réponses immunitaires contre le microbiote. D'autres induisent la production de TGF- β , cytokine permettant la tolérance immunitaire*. Cela leur permet de réguler l'inflammation et aider à leur survie dans l'hôte. (80)

Le microbiote intestinal peut aussi activer une réponse immunitaire innée en activant ces TLRs*. Ceci mène à une inflammation, permettant de diminuer l'infection parasitaire. De même, les métabolites dérivant du microbiote peuvent activer les inflammasomes*, ce qui mène à un environnement pro-inflammatoire et donc à l'élimination des parasites. (80)

Certains parasites intestinaux augmentent la sécrétion des peptides antimicrobiens par les cellules intestinales comme Ang4* et RegIIIy*. Leurs propriétés microbicides impactent la composition du microbiote. (80)

D'autres parasites modulent l'activation de l'inflammasome*. Certains inhibent leur activation, tandis que d'autres l'activent, modifiant par conséquent la composition du microbiote (80). Par exemple, le parasite *Trichomonas musculus* est capable d'activer l'inflammasome* épithélial de l'hôte. Cela provoque une libération d'IL-18. Une réponse immunitaire Th1* et Th17* est activée, ce qui apporte une protection importante contre les infections bactériennes mucosales. (83)

Plusieurs parasites intestinaux, notamment des Nématodes, induisent un environnement immunitaire régulateur, c'est-à-dire qu'ils induisent l'activation de lymphocytes T régulateurs (ou LTreg*), qui ont pour fonction de réguler et diminuer la réponse inflammatoire. Par exemple, certains sont capables de produire des protéines mimant le TGF- β , qui exploitent le système immunitaire de l'hôte et induisent les LTreg*. Certaines bactéries, comme les *Lactobacillus*, peuvent aussi induire des réponses Treg* tolérogènes. Ainsi, les parasites et les bactéries peuvent interagir de manière mutualiste et promouvoir leur persistance et leur développement dans l'intestin. (80)

c) Interactions directes

Les interactions entre les parasites intestinaux et les procaryotes se font *via* l'hôte mais aussi de manière directe, de manière positive ou négative. Certaines bactéries sécrètent des molécules antiparasitaires. De manière inverse, certains parasites sont capables de sécréter des molécules antibactériennes, qui peuvent dégrader les peptidoglycanes composant la paroi cellulaire des bactéries. (80)

Les deux parties interagissent aussi *via* leurs nutriments. En effet, ils peuvent entrer en compétition pour leurs sources de nutriments, ou bien *via* une alimentation croisée ou cross-feeding*. (80)

Enfin, les eucaryotes intestinaux peuvent jouer le rôle de prédateur sur des procaryotes, *via* phagocytose par exemple. (25,80)

Tableau résumé des différentes interactions entre les parasites et les procaryotes intestinaux : interactions indirectes, tiré de Leung et al., 2018 (80)

Type de mécanisme	Facteurs impliqués	Sens de l'interaction	Description	Conséquences (potentielles)	Exemples
Changements physiques	Mucus intestinal	P → M	Certains helminthes et protozoaires augmentent la production de mucus	Augmentation des bactéries mucolytiques et des bactéries utilisant les mucines comme source de carbone	<i>Trichuris suis</i> ; <i>Trichuris muris</i> ; <i>Eimeria</i>
				Réduit l'attachement des bactéries à l'épithélium intestinal	<i>Trichuris trichiura</i>
		M → P	Les parasites altèrent la composition de mucus et sa structure	Altère la disponibilité des nutriments, les sites d'attachement, le flux intestinal et l'accès à l'épithélium	<i>Trichuris muris</i> , <i>Nippostrongylus brasiliensis</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Giardia</i>
			Le microbiote modifie la synthèse de mucus	Augmente l'expulsion des parasites	
	Barrière épithéliale	P → M	Les parasites endommagent les jonctions serrées* épithéliales	Permet la translocation microbienne à travers l'épithélium intestinal	<i>Heligmosomoides polygyrus</i> , <i>Trichinella spiralis</i> , <i>Strongyloides venezuelensis</i> , <i>Nippostrongylus brasiliensis</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Giardia</i>
		M → P	Le microbiote renforce la perméabilité de la barrière mucosale	Altère le degré de dommages mucosaux et la translocation bactérienne faisant suite à l'infection parasitaire	
	Turnover* des cellules épithéliales	P → M	Les parasites augmentent le turnover* des cellules épithéliales	Sélectionne les procaryotes capables de se diviser rapidement	

Immunité innée	Toll-like receptors (TLRs*)	M → P	Le microbiote permet le turnover* via les AGCC*	Impacte la colonisation et l'expulsion des parasites	
		P → M	Les parasites augmentent l'expression des TLRs*	Augmentent l'activation des réponses contre le microbiote	<i>Heligmosomoides polygyrus, Hymenolepis diminuta</i>
		M → P	Le microbiote peut entraîner des réponses immunitaires via les TLRs*	Protège contre les infections parasitaires via une réponse immunitaire innée	<i>Toxoplasma gondii</i>
		P → M	Les parasites sécrètent des peptides antimicrobiens	Protection contre des réponses immunitaires délétères suscitées par le contact microbien	
	Inflammasomes*	P → M	Les parasites altèrent l'activation de l'inflammasome*	Altération de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires	<i>Trichuris muris</i>
		M → P	Les métabolites dérivés du microbiote activent l'inflammasome*	Création d'un environnement pro-inflammatoire pouvant augmenter la clairance des protozoaires	
	Cellules Th2	P → M	Les parasites augmentent la réponse Th2	Altération de la barrière muqueuse + de la réponse Th1 => Réplication bactérienne non contrôlée	<i>Heligmosomoides polygyrus</i>
		M → P	Les microbes intestinaux inhibent ou renforcent la réponse Th2	Altération de la survie parasitaire.	<i>Trichuris muris</i>
Immunité adaptative	Cellules T reg	P → M	Les helminthes augmentent la réponse Treg* / sécrètent des analogues de TGF-β	Régulation négative de la réponse inflammatoire contre le microbiote	<i>Heligmosomoides polygyrus, Teladorsagia circumcincta</i>
		M → P	Les procaryotes induisent une réponse T reg	Augmentation de la persistance et de la survie des parasites	<i>Heligmosomoides polygyrus</i>

P → M = Effet des parasites sur le microbiote bactérien ; M→P = Effet du microbiote bactérien sur les parasites

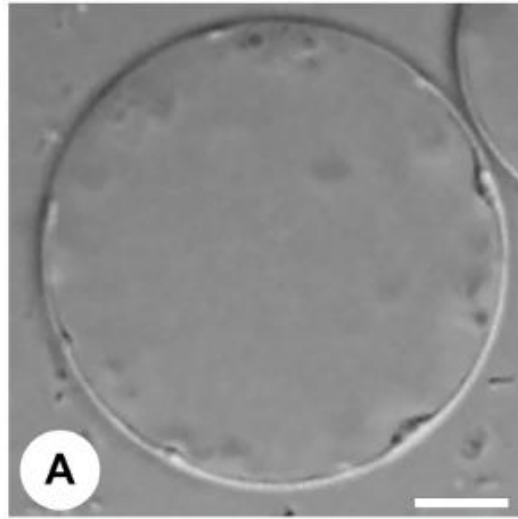
Tableau résumé des différentes interactions entre les parasites et les procaryotes intestinaux : interactions directes, tiré de Leung et al., 2018 (80)

Type de mécanisme	Sens de l'interaction	Description	Conséquences (potentielles)	Exemples
Hétérophagie	M → P	Bactéries pathogènes phagocytées par un parasite induisent sa virulence*	Augmentation de la virulence* du parasite	<i>Entamoeba histolytica</i>
Endosymbiose	M → P	Bactéries entériques englouties par le parasite (mais non ingérées)	Altération de l'interaction immunitaire hôte-parasite	<i>Giardia</i>
Sécrétions	P → M	Les parasites sécrètent des molécules antibactériennes ou bactériolytiques	Perturbation du microbiote	
	M → P	Les microbes intestinaux sécrètent des molécules inhibant les parasites	Diminution des infections parasitaires	<i>Cryptosporidium</i> , <i>Giardia</i> , <i>Eimeria tenella</i>
Ingestion	P → M	Ingestion des bactéries	Restructuration des communautés microbiennes	<i>Trichuris muris</i>

P → M = Effet des parasites sur le microbiote bactérien ; M→P = Effet du microbiote bactérien sur les parasites

IV- Focus sur *Blastocystis* spp. : Un protozoaire pathogène, commensal, ou un ami du microbiote ?

1) Présentation du protozoaire



Blastocystis (21)
Barre = 5µm

Blastocystis spp. est un eucaryote unicellulaire anaérobie (84,85). Il appartient au phylum des Straménopiles. (82,86,87) C'est le seul représentant de ce phylum présent dans l'intestin humain. (87,88) Il est non flagellé (54). C'est le protozoaire le plus commun colonisant le système digestif des vertébrés (82). Il peut coloniser les mammifères, les oiseaux, les reptiles, les amphibiens et les insectes (82).

Les Straménopiles sont un groupe d'organismes incluant les algues brunes et les diatomées, en se basant sur l'analyse phylogénétique de la petite sous unité ribosomale (SSU rDNA). *Blastocystis* est une exception parmi ce groupe, de par sa nature anaérobie ainsi que son absence de flagelle (89).

Il a été décrit pour la première fois en 1911, par Alexeieff, mais était d'abord considéré comme une forme kystique de *Trichomonas intestinalis* (22,82,84,90). Ensuite, il a été considéré comme une levure (22). C'est seulement en 1996 qu'il a été classé au sein du phylum des Straménopiles (84). Ce phylum englobe une très grande diversité d'organismes : flagellés, parasites de plantes / d'animaux, des lignées photosynthétiques... (86)



Illustration de *Blastocystis* comme observé par Alexeieff en 1911 (90)

C'est l'eucaryote unicellulaire le plus commun trouvé dans les échantillons de matières fécales humaines (54).

Depuis sa découverte il y a plus de 100 ans, il a toujours été étudié comme un organisme pathogène. Néanmoins, son potentiel pathologique est controversé et ceci à cause de diverses raisons (76) :

- Les colonisations asymptomatiques sont très fréquentes
- Les preuves suggérant la pathogénicité* de *Blastocystis* ont été déduites en majorité par des études *in silico* et *in vitro*
- Il ne présente pas de propriétés phénotypiques de virulence* frappantes, comme la présence de flagelles, lectines, de rhoptries...
- Il n'y a pas d'épidémies de *Blastocystis* qui ont été déclarées (76)

Blastocystis est un habitant commun de l'intestin des humains et des animaux, même si sa prévalence varie entre les populations. Il est plus présent dans les pays en développement, où il peut atteindre jusqu'à 100% de prévalence. Ceci est probablement dû à de mauvaises conditions d'hygiène et la consommation d'eau contaminée (86).

2) Répartition

Blastocystis est trouvé plus communément dans le tractus gastrointestinal d'individus sains. En effet, la diversité du microbiote ainsi que sa richesse est plus importante chez les personnes colonisées par ce protozoaire (91).

Sa prévalence chez l'être humain varie :

- De 0.5% à 30% dans les pays industrialisés
- De 30 à 76% dans les pays en voie de développement (54)

Dans les pays en développement, comme au Sénégal, *Blastocystis* peut atteindre les 100% de prévalence (54,82,86). Au sein de ce même pays, il existe une variation importante des prévalences entre les différents villages, allant de 51.7% à 100% (92)

Chez les fermiers Camerounais, il est présent à 95.5% (28). Dans la population syrienne, sa prévalence est de 63.7% (93). En Guinée, elle est de 78% (94).

Au Japon, sa prévalence n'est que de 0.5%. Elle est de 7% en Italie et au Royaume-Uni. (82)

Néanmoins, il est aussi commun dans les populations industrialisées, avec 20 à 50% de prévalence dans des cohortes saines en Europe. Étonnamment, au Danemark, où il a une prévalence de 24%, il est associé à un haut niveau de vie (81,82,95).

Si l'on extrapole les résultats des différentes études de prévalence menées sur ce protozoaire, on pourrait estimer que 1 à 2 millions d'êtres humains dans le monde seraient colonisés par *Blastocystis* (93,94).

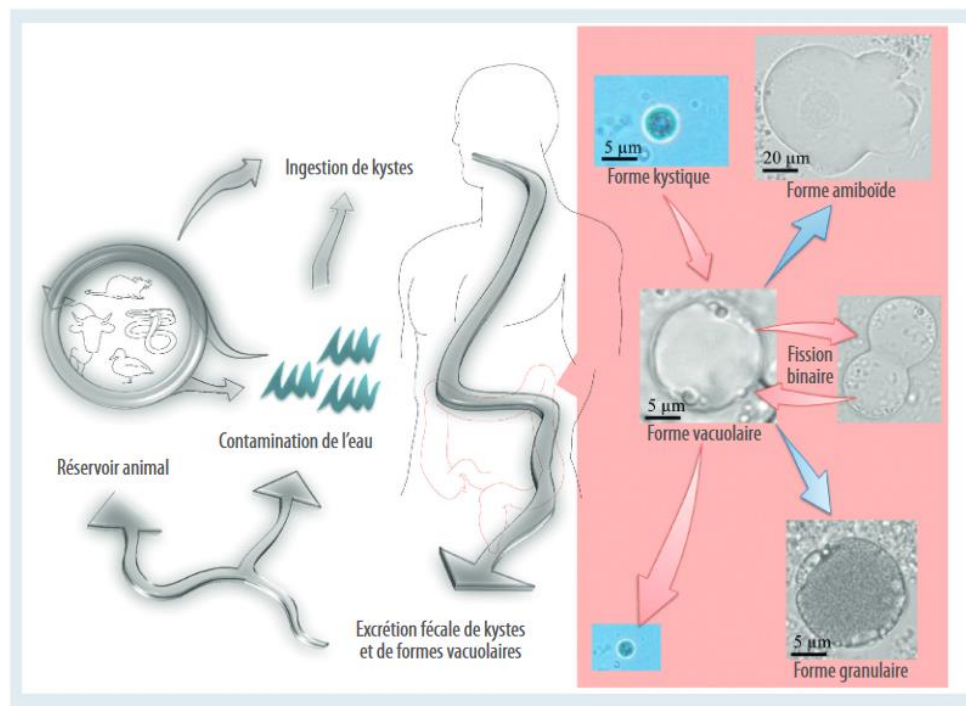
3) Cycle de vie et différentes formes

Le cycle de vie de *Blastocystis* est, à l'heure actuelle, incertain.

Ce parasite a un mode de contamination féco-oral : Le parasite est excrété par les fèces de l'hôte, puis est ingéré par ingestion d'eau ou de matière contaminée par ces selles. En effet, sa colonisation est liée à une hygiène pauvre, aux contacts avec les animaux, ainsi qu'à la contamination des sources de nourriture/d'eau. Ceci explique sa prévalence augmentée dans les pays en voie de développement, ayant de mauvaises conditions d'hygiène (56,81,82,96,97). Ceci explique aussi qu'il est retrouvé plus communément, au sein de ces mêmes populations, chez les fermiers que chez les pêcheurs (28).

Le cycle de vie de *Blastocystis* n'est pas encore totalement élucidé, notamment le stade infectieux. Différentes formes de ce parasite ont été identifiées dans des échantillons de selles : forme kystique, forme vacuolaire, forme granulaire et forme amiboïde (84,96).

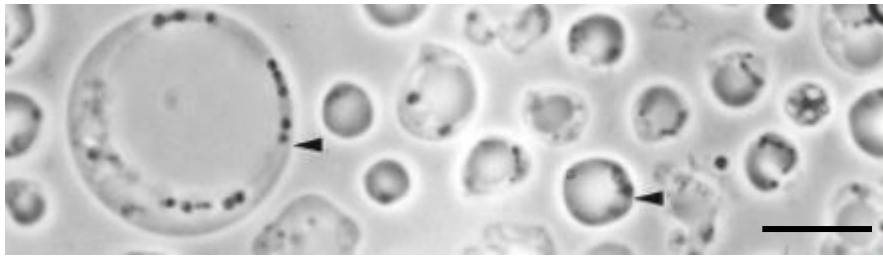
Les formes les plus présentes sont les formes vacuolaires et kystiques. Les autres formes morphologiques (amiboïde, granulaire) ont déjà été identifiées dans des échantillons de selles ou dans des cultures, mais leur rôle biologique reste peu connu. (84,96)



Cycle parasitaire hypothétique de *Blastocystis* et différentes formes, tiré de Poirier et al. (84)

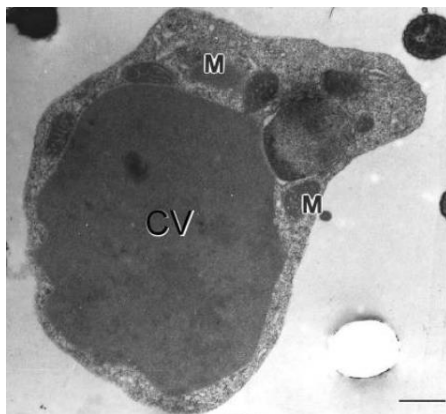
La forme vacuolaire : Cette forme est de taille variable (de 5 à 40 µm, parfois plus grand). Elle est la forme prédominante dans les échantillons de selles humaines (96). Il est probable que cette forme soit la forme trophiquement active, ainsi que celle capable de fission binaire. (84)

La forme vacuolaire comprend une large vacuole occupant plus de 90% du volume total de la cellule. Le cytoplasme contient 1 noyau et plusieurs organites, « poussés » à la périphérie de la cellule (89).



Formes vacuolaires de *Blastocystis*, observé en microscopie en contraste de phase* (98)

Barre = 10 μ m

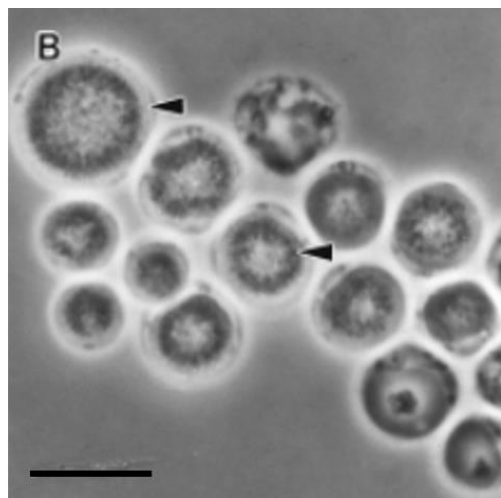


Forme vacuolaire de *Blastocystis* observée en microscopie électronique en transmission * (98)

CV = Central Vacuole / Vacuole centrale. M = mitochondrie. Barre = 1 μ m

Forme granulaire :

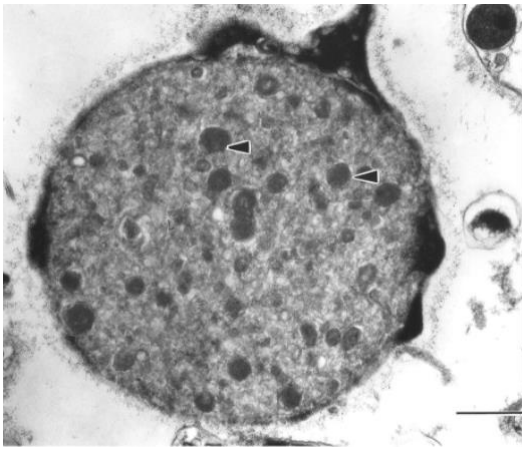
Des granules se forment au centre du parasite. (99)



Formes granulaires de *Blastocystis* en microscopie à contraste de phase* (98)

On peut observer des inclusions granulaires dans la vacuole centrale

Barre = 10 μ m

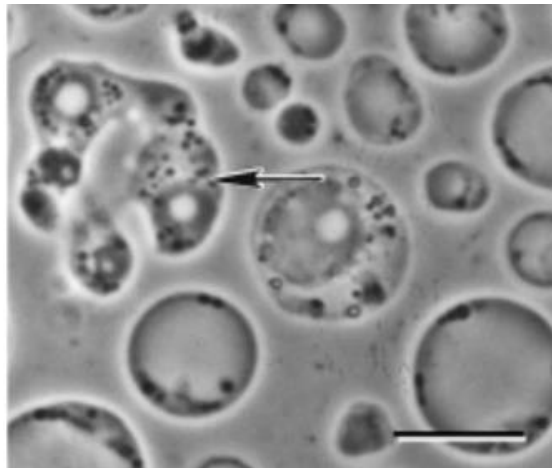


Forme granulaire de *Blastocystis* observée par microscopie électronique en transmission* (98)

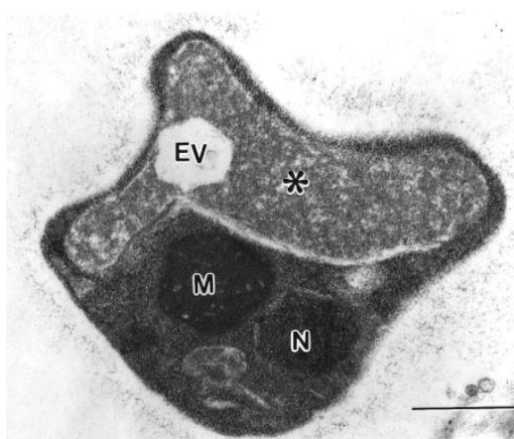
Les flèches correspondent aux granules denses.
Barre = 1µm

Forme amiboïde :

La forme du parasite devient irrégulière. Cette forme permettrait la phagocytose de bactéries afin d'apporter les nutriments nécessaires à l'enkystement (99).



Forme amiboïde de *Blastocystis* en microscopie en contraste de phase* (98)
Barre = 10 µm

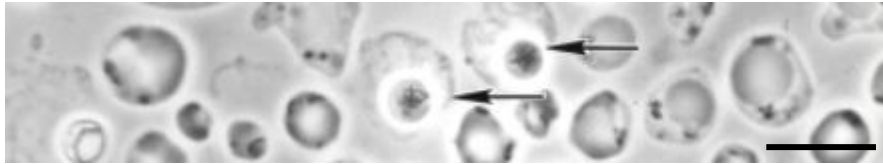


Forme amiboïde de *Blastocystis* observée par microscopie électronique en transmission* (98)

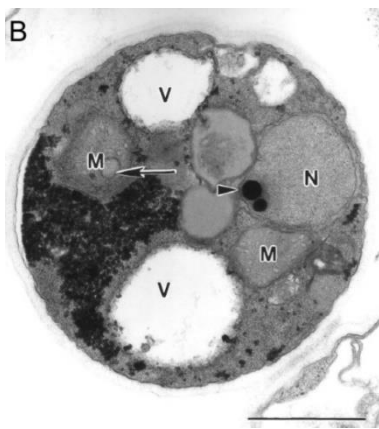
* = Vacuole centrale
EV = Empty vacuole / Vacuole vide
M = Mitochondrion-like organelle
N = Noyau
Barre = 1m

La forme kystique :

Cette forme mesure de 3 à 5 μm . Il est supposé que cette forme soit une forme infectieuse, bien que cela ne soit pas encore confirmé à l'heure actuelle (96). Elle est capable de résister dans l'environnement pendant au moins 1 mois, où elle peut être ingérée. Les kystes se désenkysteraient dans l'organisme après ingestion pour donner la forme vacuolaire (84). La paroi kystique est plus épaisse que pour la forme pré-kystique (99).



Formes kystiques de *Blastocystis* en microscopie en contraste de phase* (98)
Barre = 10 μm

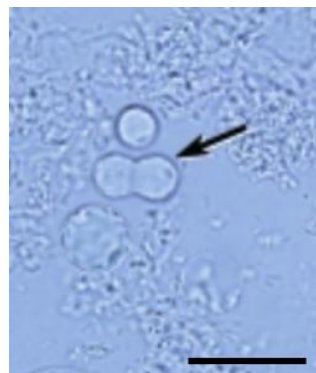


Forme kystique de *Blastocystis* observée en microscopie électronique en transmission*. (98)
V = Vacuoles, N = Noyau, > = Chromatine condensée, M = Mitochondrion-like organelles, → = Crête mitochondriale
Barre = 1 μm

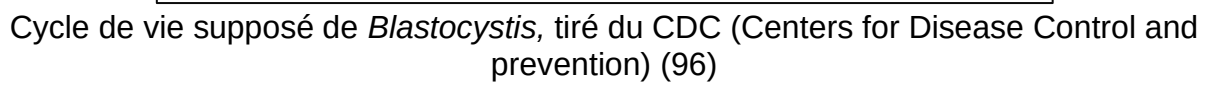
Les formes vacuolaires sont capables de s'enkyster à nouveau, afin de pouvoir se disséminer dans l'environnement. (84)

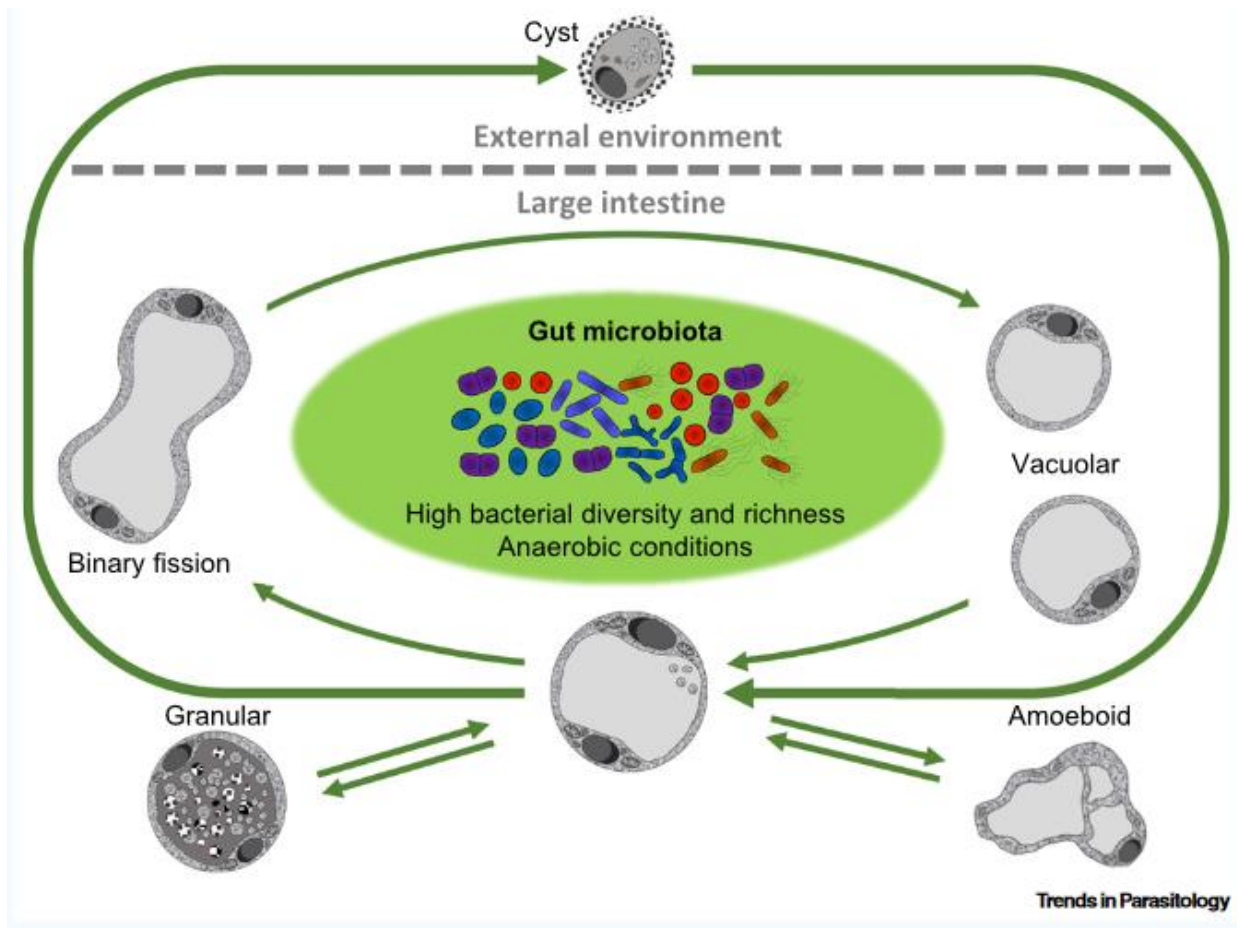
Une forme pré-kystique a aussi été décrite. *Blastocystis* prend une forme arrondie, le cytoplasme se remplit de ribosomes, et une production active de protéines se produit afin de former la paroi de la forme kystique. (99)

La réplication de ce parasite semble s'effectuer par fission binaire. (84,91,96)



Fission binaire de *Blastocystis* en microscopie optique*. (98)
Barre = 20 μm





Cycle de vie de *Blastocystis*. (91)

La forme majoritaire dans l'environnement extérieur serait la forme kystique, forme « résistante » du parasite. Cette forme serait donc la forme infectieuse. Dans l'intestin, la forme majoritaire est la forme vacuolaire, et ce serait cette forme qui pourrait se répliquer par fission binaire. Sous certaines circonstances, la forme vacuolaire pourrait devenir une forme granulaire ou amiboïde, mais les causes de cette transformation ne sont toujours pas identifiées.

4) Colonisation par *Blastocystis* : facteurs et durabilité

Certaines personnes, en fonction de leur environnement et de leur mode de vie, sont plus enclines à être colonisées par *Blastocystis*.

Tout d'abord, il a été montré que les personnes consommant régulièrement des produits étiquetés « bio », venant de petits producteurs locaux utilisant des engrais naturels sont plus facilement colonisées. Cela est facilement explicable par le mode de contamination féco-oral du protozoaire (100).

Ensuite, le lieu de vie est aussi un facteur déterminant pour la prévalence de *Blastocystis*. Comme évoqué précédemment, *Blastocystis* est nettement plus prévalent dans les pays en voie de développement, avec de moins bonnes conditions d'hygiène, que dans les pays industrialisés (54). Sa prévalence est encore plus importante dans les pays en développement comme le Sénégal (86). Ceci est également explicable par son mode de contamination féco-oral.

Une seule exposition brève à *Blastocystis* ne semble pas suffisante pour aboutir à une colonisation du parasite, le système immunitaire et la flore intestinale jouant un rôle important dans l'élimination de ce dernier. Néanmoins, après avoir colonisé le tractus intestinal, il peut rester plus d'une dizaine d'années, devenant ainsi un membre stable de l'écosystème intestinal et modulant sa composition (100).

Blastocystis, selon des modèles murins et porcins, se localise dans le lumen et la surface mucosale du gros intestin, majoritairement dans le caecum et le colon. Il peut être retrouvé occasionnellement dans l'intestin grêle, chez des modèles porcins immunodéprimés (89,101). Dans le caecum, les formes vacuolaires et granulaire sont prédominantes, tandis que les formes kystiques sont plutôt retrouvées dans le colon (89).

Chez les hôtes asymptomatiques, la colonisation par *Blastocystis* est stable sur 6 à 10 ans. (82)

La transmission de *Blastocystis* est surtout interhumaine, notamment pour le sous-type ST3, retrouvé principalement chez les humains (92). Néanmoins, certains STs (comme les STs de ST1 à ST8) étant retrouvés chez les humains et chez les animaux, une transmission zoonotique est aussi probable. (102)

Une étude de 2017 menée dans deux zoos français a évalué le risque de transmission de *Blastocystis* par les animaux. Il s'avère que les primates non humains, les artiodactyles (ou paradigités, comme les girafes, les bovins ou les hippopotames par exemple), ainsi que les oiseaux sont susceptibles d'être un réservoir pour la transmission humaine (102).

Dans une autre étude de 2018 menée dans un abattoir de volailles, 54% des employés étaient positifs à *Blastocystis*, dont deux positifs au ST6, un ST très courant chez les volailles, suggérant aussi une transmission de l'animal à l'Homme, notamment chez les personnes travaillant avec les animaux et donc ayant des contacts prolongés et répétés avec ces derniers (103).

5) Détection de *Blastocystis*

a) Microscopie optique* :

La méthode de détection « traditionnelle » de *Blastocystis* est l'observation microscopique (grossissement x400) d'échantillons fécaux concentrés, ce qui permet d'observer les formes vacuolaires (les autres formes étant plus rarement retrouvées). Cette méthode est de sensibilité faible par rapport aux études basées sur la détection d'acides nucléiques (28,76,84).

De plus, la sensibilité de cette méthode varie en fonction de l'opérateur : en effet, elle est très observateur-dépendante (104).

b) Séquençage :

La PCR et le séquençage Sanger sont les méthodes les plus utilisées pour détecter *Blastocystis* ainsi que pour identifier ses sous-types.

La prévalence de *Blastocystis* dans différentes études semble être influencée par la méthode d'extraction de l'ADN. En effet, la prévalence des différents sous-types est plus haute lorsque de des méthodes combinant lyse chimique et lyse mécanique sont utilisées. Cela peut s'expliquer par le fait que les formes kystiques, plus résistantes du fait de leur paroi épaisse, nécessitent une méthode d'extraction adaptée. (86)

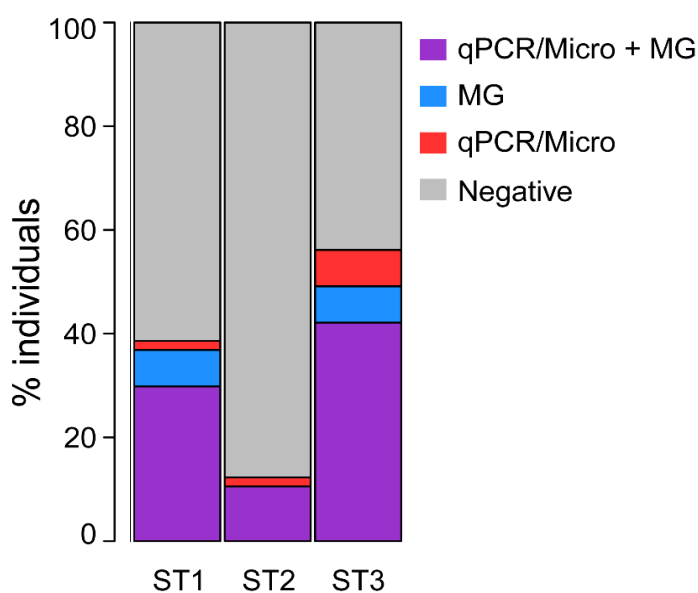
c) Shotgun métagénomique

Le séquençage par shotgun métagénomique a pour avantage de pouvoir détecter la colonisation par différents sous-types ainsi que de les différencier (28).

Statistiquement parlant, la métagénomique et le séquençage PCR se valent en ce qui concerne la sensibilité de détection de *Blastocystis*. Néanmoins, la PCR semble légèrement plus sensible que la métagénomique (principalement pour la détection des colonisations par un seul sous-type), selon une étude de 2019 comparant les différentes méthodes de détection des protozoaires intestinaux (28).

En ce qui concerne les colonisations par plusieurs sous-types, la métagénomique est plus susceptible de les détecter par rapport à la PCR. (28)

(Pour plus de détails sur le séquençage par shotgun métagénomique, se référer à la partie II, 8)c)



Concordance entre les méthodes de détection de *Blastocystis* chez des sujets Camerounais. (Tiré de Lokmer et al., 2019) (28)

Sont représentées ici les proportions d'individus positifs aux deux méthodes (PCR/Microscope + Métagénomique), ou à une seule des deux (ou aucune).

Sur la figure ci-dessus, nous retrouvons ce qui a été évoqué précédemment : la majorité des individus positifs ont été détectés par les deux méthodes. Néanmoins, quelques cas ont été détectés par une seule des deux méthodes, et de manière plus importante par PCR (28).

Ainsi, la PCR est légèrement plus sensible que le diagnostic métagénomique (mais cela n'est pas statistiquement significatif), mais ce dernier capture mieux la biodiversité de *Blastocystis*. (28)

6) *Blastocystis* : différents sous-types

Il existe une grande diversité génétique parmi les *Blastocystis*, bien qu'ils soient morphologiquement à peu près identiques (84,85). La classification s'est tout d'abord basée sur les espèces chez qui les différentes souches étaient isolées. Le sous type retrouvé chez l'Homme a été nommé *Blastocystis hominis*, et *Blastocystis ratti* pour celui retrouvé chez le rat par exemple. Néanmoins, il a ensuite été découvert que chaque espèce n'est pas liée à un seul hôte : c'est ainsi que les *Blastocystis* ont été classés en sous types (« ST ») (84).

Blastocystis peut être classé en 22 sous-types différents. Cette classification se base sur le gène codant la petite sous unité ribosomale (ARNr) 18S. (86,91,97)

Certains sous-types sont préférentiellement retrouvés chez l'Homme, mais d'autres chez les animaux : ST10 et ST14 sont plus fréquemment retrouvés chez les bovins, ST6 et ST7 chez les oiseaux. (84)

Récemment, d'autres STs additionnels ont été identifiés, allongeant la liste des STs jusqu'à ST32. Ces derniers ont été identifiés chez les oiseaux, Bovidés et Cervidés. Cependant, les ST18 à 20, ainsi que ST22 ne sont pas considérés comme valides, car ils viendraient de chimères qui auraient été « créées » durant l'amplification par PCR (94).

a) Les STs retrouvés chez l'humain

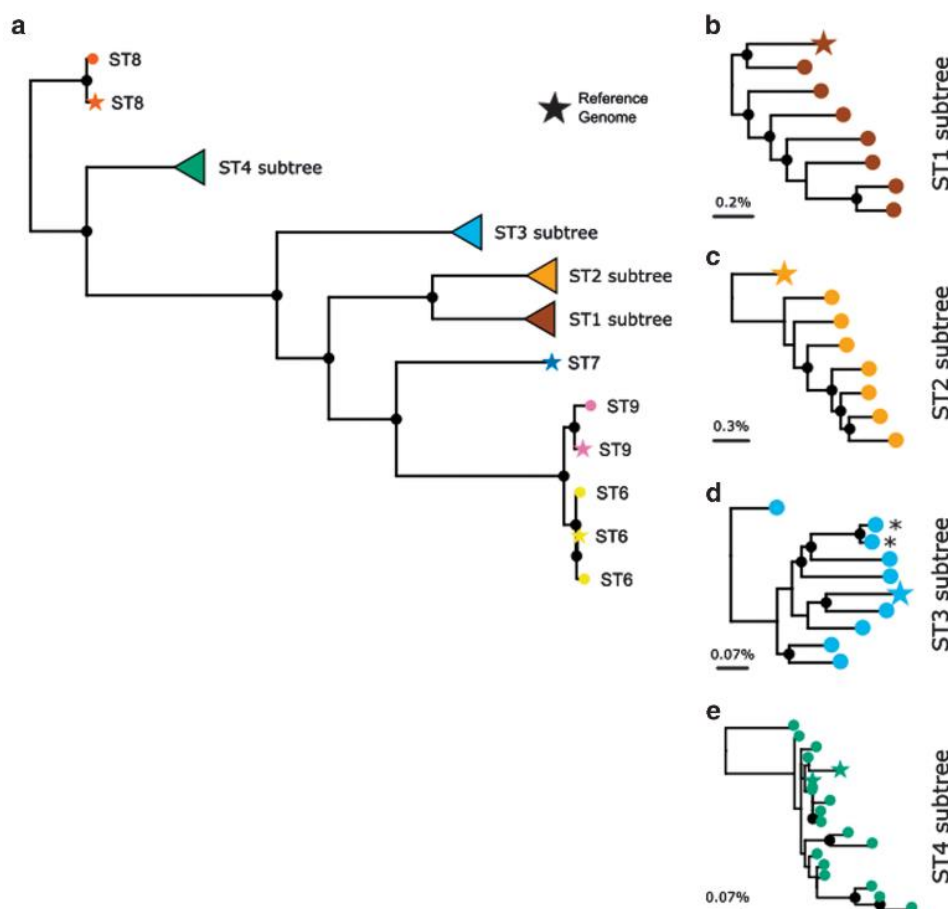
On retrouve *Blastocystis* chez environ 14.9% des êtres humains (86). Le ST3 est le sous-type le plus fréquent dans le monde, suivi des ST1, ST2 et ST4 (84,105). Néanmoins, cette répartition peut varier en fonction de la zone géographique : au Sénégal par exemple, ST2 est prédominant (49.9%), suivi par ST1 (24.9%) et ST3 (23.6%) ; tandis qu'au Nigeria et en Côte d'Ivoire ST1 est le ST majoritaire (92).

Chez l'humain, on peut retrouver les STs 1 à 9, ainsi que le 12 (91,97). Néanmoins, plus de 90% des *Blastocystis* humains font partie des sous-types de 1 à 4. (91,92)

Certains sous-types ont un potentiel fonctionnel distinct (23). Par exemple, le ST3 possède une glycoside hydrolase qui n'est pas retrouvée chez les autres STs. Cette dernière pourrait être impliquée dans l'attaque des cellules épithéliales intestinales de l'hôte (86). De la même manière, ST4 possède des protéines de choc thermique, ainsi que des cystéine protéases cytosoliques calcium-dépendantes, que les autres STs ne possèdent pas (86).

Au sein d'un même sous-type, on retrouve également des variations génétiques, des polymorphismes intra-ST (86,92). Une étude, regroupant plusieurs jeux de données sur *Blastocystis*, a permis de reconstituer les génomes de

Blastocystis à partir de données métagénomiques. En tout, 43 assemblages ont été obtenus. Cela a permis d'établir les relations phylogénétiques entre les différents STs (86).



Arbre des relations phylogénétiques entre les 8 génomes de référence de *Blastocystis*.(86)

* = échantillons venant du même sujet, à deux moments différents

Une étude de 2020 menée sur des enfants scolarisés au Sénégal a rapporté pour la première fois la présence de ST10 et ST14 chez des êtres humains : 4 enfants de l'étude sur 731 enfants, venant de villages différents (donc ayant des sources de contaminations différentes). Ces deux sous-types sont des sous-types normalement prédominants chez les bovins : la transmission se serait donc peut-être faite par contact avec le bétail ou avec de l'eau souillée par leurs déjections (92,106). La deuxième identification d'un ST14 chez l'être humain provient d'une étude de 2022, menée en Guinée : sur 500 participants, 3.4% étaient colonisés par ce ST. (94)

b) Répartition des différents STs

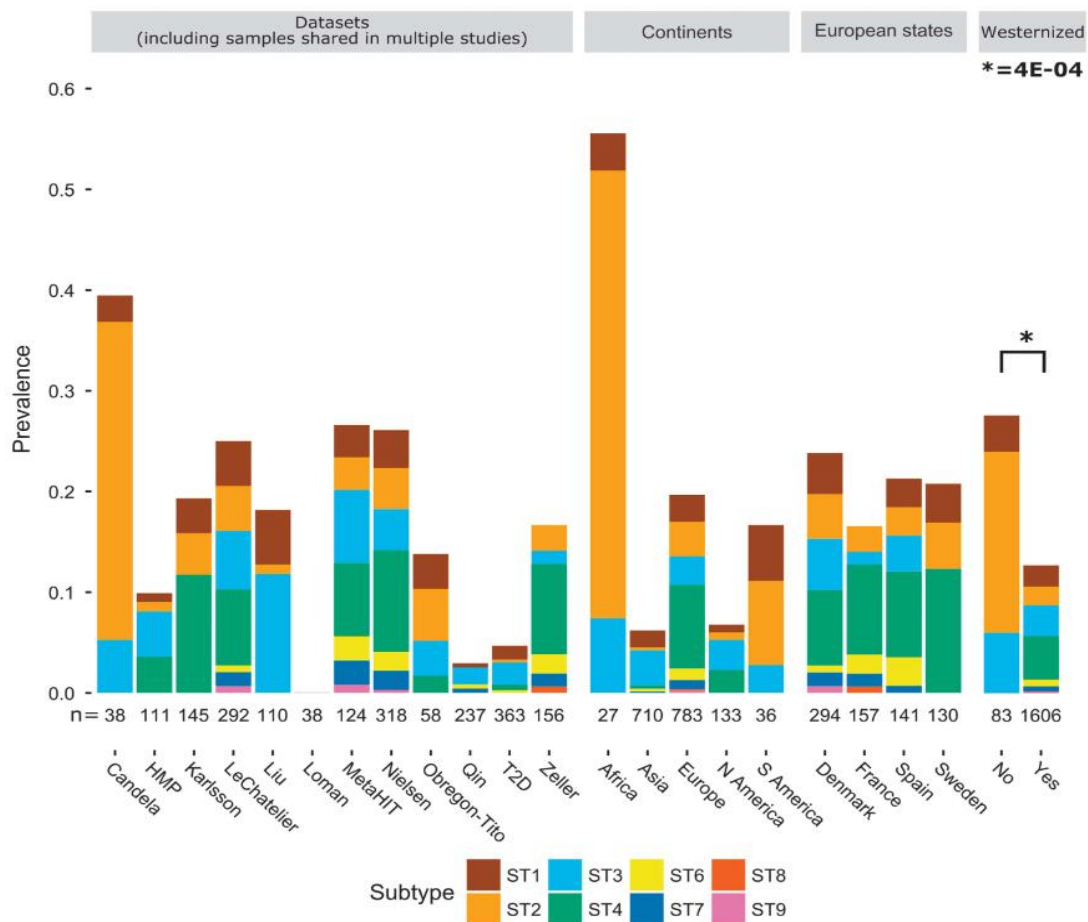
The Flemish Gut Flora Project est une analyse à grande échelle qui a été menée sur une de population occidentale. La prévalence et les sous-types de *Blastocystis* ont été analysés à partir des échantillons de matière fécale des sujets de l'étude, soit 616 personnes saines ainsi que 107 personnes atteintes du syndrome de l'intestin irritable*. (23)

Chez les personnes asymptomatiques, la prévalence de *Blastocystis* était de 30%, contre 4% chez les personnes atteintes du syndrome de l'intestin irritable*.

Des covariants associés au sous-type de *Blastocystis* ont été recherchés. La richesse microbienne est fortement liée à la prévalence de *Blastocystis* ainsi que la variation des sous-types. Tous les sous-types de *Blastocystis* sont moins prévalents chez les entérotypes *Bacteroides*. Aussi, les sous-types 3 et 4 sont inversement corrélés avec la présence d'*Akkermansia* (23).

Les sous-types de *Blastocystis* associés au microbiote intestinal humain montrent d'importantes variations dans leur répertoire génétique. Par exemple, le sous-type ST1 a acquis des gènes impliqués dans la synthèse de produits antimicrobiens, pendant que ST3 est plus sensible au stress oxydatif et a perdu des gènes impliqués dans la dégradation de mucus. Ces découvertes suggèrent que des sous-types différents de *Blastocystis* peuvent prospérer dans des niches différentes qui, à leur tour, pourraient représenter des interactions potentielles distinctes avec des écologies microbiennes intestinales humaines particulières (23).

La prévalence de *Blastocystis* ainsi que les sous-types sont variables selon la biogéographie. Dans une étude à grande échelle de 2017, regroupant plusieurs études différentes, 2154 échantillons fécaux de 1689 sujets ont été étudiés. *Blastocystis* a été détecté dans 321 échantillons (soit 14.9%) provenant de 10 pays différents : Chine, Danemark, France, Mongolie, Norvège, Pérou, Espagne, Suède, Tanzanie et Etats-Unis. La prévalence était plus importante chez les sujets Européens (22.4%) et moins importante chez les sujets Chinois (4.0%). (86)



Graphique de la répartition des différents STs de *Blastocystis* dans différentes études

Les barres empilées représentent la prévalence de *Blastocystis*, et les n en dessous des barres correspondent au nombre d'échantillons correspondants à la catégorie.

* correspond au niveau de signification. (86)

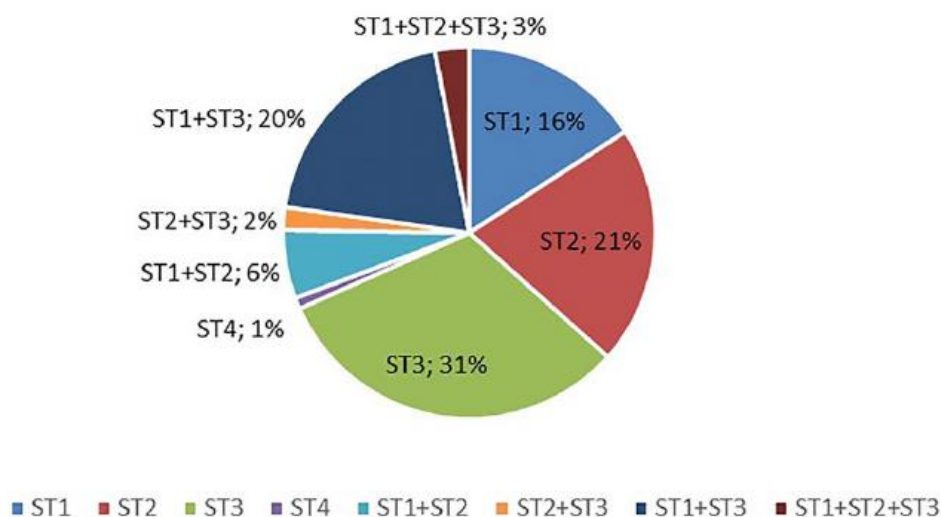
Ce graphique, tiré de cette même étude, représente plus précisément la répartition des différents STs selon les études ainsi que les différents pays, ainsi que leur répartition entre les pays industrialisés et non industrialisés. (86)

On observe que :

- ST2 prédomine dans les cohortes non industrialisées. La différence de prévalence de ST2 entre les pays industrialisés et non industrialisés est statistiquement significative et importante. Ceci permet de soulever l'hypothèse que ST2 fait partie des membres du microbiote ayant été affecté par l'industrialisation des pays.
- ST3 est distribué largement dans les différentes zones géographiques.
- La prévalence de ST4 est très importante parmi les sujets européens, alors que qu'il est très rare dans les autres régions du monde (à part les Etats-Unis). Cette différence est tout aussi significative entre les pays industrialisés et non industrialisés (86,92).
- ST6, 7 et 9 ont une prévalence faible

Ainsi, il apparaît que ST2 et ST4 sont les sous-types les plus influencés par la situation géographique et par le mode de vie. (86)

Il est aussi possible qu'un même hôte abrite plusieurs STs de *Blastocystis*. La prévalence de sujets colonisés par plusieurs STs reste néanmoins inférieure à celle de sujets colonisés par un seul ST. Dans une étude de 2020 menée sur des sujets Camerounais, les différents ST étaient répartis de la manière suivante (101) :



Distribution des différents STs de *Blastocystis* chez des sujets Camerounais (101)

On observe ici que chez les sujets colonisés, la majorité (69%) sont colonisés par un seul ST. Néanmoins, 28% sont colonisés par 2 STs à la fois, et 3% sont même colonisés par 3 STs. (101)

7) *Blastocystis* et les pathologies digestives

La pathogénicité* de *Blastocystis* n'est pas encore claire et est débattue : en effet, ce parasite est retrouvé chez des patients symptomatiques ainsi que des patients asymptomatiques (97).

Le protozoaire a été associé à une grande variété de symptômes gastro-intestinaux. En effet, de nombreuses études suggèrent qu'il aurait un rôle dans le développement du syndrome de l'intestin irritable* (81,107). Il a aussi été impliqué, par de nombreuses études, dans les maladies inflammatoires de l'intestin, et dans l'urticaire (24,54,89). Plusieurs études ont en effet mis en évidence des manifestations cutanées de ce type, reliées à la colonisation par *Blastocystis*. (108)

Dans une étude de 2019, la distribution des STs de *Blastocystis* a été étudiée chez des patients atteints du syndrome de l'intestin irritable*, en comparaison à des patients sains : bien que ST1 et ST2 étaient retrouvés dans les deux groupes, ST3 n'était retrouvé que chez les individus sains, et ST4 chez les patients atteints du syndrome (107,109). Néanmoins, à ce jour, aucune association n'a vraiment été

clairement déterminée entre un ST particulier de *Blastocystis* et le syndrome de l'intestin irritable* (107).

Les symptômes les plus souvent associés à *Blastocystis* ne sont pas spécifiques, et la plupart du temps consistent en des diarrhées, des ballonnements, des douleurs abdominales, et des vomissements, et parfois même la présence de sang dans les selles (84,88,108).

Le diagnostic de blastocystose est donc posé chez des patients présentant un syndrome digestif, avec présence de *Blastocystis*, sans qu'une autre étiologie n'ait été identifiée (84).

Le sous-type 7 de *Blastocystis* a été associé, dans une étude sur des souris colonisées, à une réduction des bactéries bénéfiques *Bifidobacterium longum* ainsi que *Lactobacillus* (110). La diminution de *Bifidobacterium* est également associée au syndrome de l'intestin irritable* (53).

Néanmoins, la majorité des données disponibles sur la virulence* de *Blastocystis* sont des études *in vitro*. Ces études ont montré un effet immunomodulateur du protozoaire qui lui permettrait de contourner la réponse immunitaire de l'hôte durant les premières heures de l'infestation, ainsi qu'une capacité à perturber la barrière épithéliale, entraînant une augmentation de la perméabilité de cette dernière. Ces hypothèses restent néanmoins difficilement confirmables, du fait de l'absence de modèle animal fiable disponible pour l'étude de *Blastocystis* (84).

De manière contradictoire, d'autres études récentes s'intéressant au lien entre *Blastocystis* et le syndrome de l'intestin irritable* n'ont pas trouvé de différences significatives dans la prévalence du protozoaire entre les sujets sains et les sujets atteints. (7,104,111)

8) Un effet bénéfique sur l'organisme

Du fait de sa prévalence importante chez l'être humain, *Blastocystis* a été beaucoup étudié dans des conditions dans lesquelles il était soupçonné de causer certaines pathologies, sans répondre néanmoins à la question de s'il est un pathogène ou un commensal. Néanmoins, ce protozoaire peut coloniser le tractus intestinal sur de longues périodes, sans résulter en un statut symptomatique pour le porteur de *Blastocystis*. De plus, il est fortement prévalent chez des personnes saines et asymptomatiques. (54)

Les postulats de Koch n'ont par ailleurs jamais pu être vérifiés pour *Blastocystis* (84). Les postulats de Koch sont des critères destinés à démontrer qu'un microorganisme est la cause d'une maladie. Ces critères sont :

- Le microorganisme doit être retrouvé chez tous les hôtes affectés par la maladie, mais absents des organismes sains ;
- Le microorganisme doit être isolé à partir de l'hôte malade et cultivé en dehors de lui dans un milieu adéquat ;

- Le microorganisme cultivé doit provoquer la maladie chez un hôte sain lors de son inoculation ;
- Le microorganisme doit pouvoir être ré-isolé à partir de cet hôte rendu malade par l'inoculation. (79,112)

Ainsi, ces dernières années, les chercheurs se sont de plus en plus penchés sur cet aspect de *Blastocystis* et de son éventuel rôle en tant que composant bénéfique du microbiote intestinal.

a) Exemple de différentes études, par ordre chronologique

Blastocystis a été souvent considéré comme un parasite intestinal pathogène. Néanmoins, au cours des dernières années, de plus en plus d'arguments suggèrent qu'il est un composant du microbiote sain. (23,86) Sa pathogénicité* potentielle pourrait ainsi dériver de certaines variables encore non étudiées, comme la diversité des sous-types. (23)

En effet, bien qu'il soit associé à certaines maladies gastrointestinales ou digestives, il peut être aussi (et fréquemment) un colonisateur asymptomatique. (81)

De plus, sa présence est diminuée chez les individus atteints de dysbiose* associée à un cancer colorectal, ou bien à la maladie de Crohn. Il existe une corrélation inverse entre la présence de *Blastocystis* et l'IMC, ainsi qu'une corrélation positive entre ce protozoaire et de nombreuses espèces bactériennes (86).

De manière semblable à *E. coli*, la pathogénicité* de *Blastocystis* serait aussi fortement dépendante de son pangénome (c'est-à-dire de l'encodage de ses facteurs de virulence* et de ses toxines : une analyse du pan-génome permettant effectivement de définir les gènes de virulence* qui sont partagés par toutes les espèces, ainsi que les gènes qui sont spécifiques à un isolat.). Par conséquent, seules des analyses de haute résolution peuvent élucider le potentiel pathogène de ses sous-types (ou intra sous-types). (23)

Nous allons à présent détailler quelques études menées sur *Blastocystis* et ses bénéfices, et ce dans l'ordre chronologique.

- **A retrospective metagenomics approach to studying Blastocystis, Andersen et al. (77)**

= Une approche restropective métagénomique, pour l'étude de Blastocystis

Titre	<i>A retrospective metagenomics approach to studying Blastocystis, Andersen et al.</i>
Date de parution	2015
Méthode utilisée	Métagénomique
Population étudiée	Population Danoise, sains ou atteints de maladie inflammatoire de l'intestin

Dans cette étude, 316 échantillons fécaux ont été screenés par analyse métagénomique de l'ADN de *Blastocystis*. Parmi ces 316 patients, il y avait 236 individus sains, 13 patients atteints de la maladie de Crohn (MC) et 67 patients atteints de rectocolite hémorragique (RH).

La prévalence de *Blastocystis* était de 18.4% en tout :

- 20.3 % chez les patients sains
- 14.9% chez les patients atteints de RH

Chez les patients atteints de la MC, *Blastocystis* était absent.

Les individus ayant un microbiote dominé par *Bacteroides* étaient moins enclins à être positifs à *Blastocystis* ($P < 0.0001$), par rapport aux individus avec un entérotype *Ruminococcus* et *Prevotella*.

Cette étude est la première à étudier la relation entre *Blastocystis* et les communautés de bactéries intestinales en réalisant une analyse bio-informatique de données pré-existantes de shotgun métagénomique (77).

Cohort	Size (N)	ST1		ST2		ST3		ST4		ST6		Total	
		#	%	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%
Enterotype:													
Bacteroides	77	0	0.00	1	1.30	0	0.00	0	0.00	0	0.00	1	1.30
Prevotella	63	2	3.17	4	6.35	5	7.94	4	6.35	0	0.00	15	23.81
Ruminococcus	176	6	3.41	6	3.41	7	3.98	17	9.66	6	3.41	42	23.86
Gender:													
Female	175	5	2.86	6	3.43	6	3.43	9	5.14	4	2.29	30	17.14
Male	141	3	2.13	5	3.55	6	4.26	12	8.51	2	1.42	28	19.86
Age:													
Young (<30)	32	0	0.00	1	3.13	1	3.13	0	0.00	0	0.00	2	6.25
Middle (30–60)	230	7	3.04	8	3.48	11	4.78	15	6.52	4	1.74	45	19.57
Elderly (>60)	54	1	1.85	2	3.70	0	0.00	6	11.11	2	3.70	11	20.37
BMI: ²													
Lean (<25)	143	4	2.80	4	2.80	6	4.20	12	8.39	6	4.20	32	22.38
Overweight (25–30)	62	3	4.84	3	4.84	1	1.61	6	9.68	0	0.00	13	20.97
Obese (>30)	110	1	0.91	4	3.64	5	4.55	3	2.73	0	0.00	13	11.82
Nationality:													
Danish	177	5	2.82	8	4.52	7	3.95	12	6.78	2	1.13	34	19.21
Spanish	139	3	2.16	3	2.16	5	3.60	9	6.47	4	2.88	24	17.27
Health status:													
CD	13	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
Healthy	236	6	2.54	10	4.24	10	4.24	17	7.20	5	2.12	48	20.34
UC	67	2	2.99	1	1.49	2	2.99	4	5.97	1	1.49	10	14.93

¹The age of the 316 subjects ranged from 18–70 with a median of 50 (IQR: 41–59).

²BMI ranged from 16.9–42.0 with a median of 25.7 (IQR: 22.6–31.3). BMI information was lacking from one UC patient.

Prévalence des différents STs de *Blastocystis* en nombre et en pourcentage, en fonction de différentes variables. (77)

Gender = Genre ; BMI = IMC ; Nationality = Nationalité ; Health status = Etat de santé

Les résultats de l'étude sont regroupés dans ce tableau récapitulatif. (77)

Une différence significative a été mise en évidence dans la prévalence de *Blastocystis* entre les patients minces (30.9%) et les patients obèses (11.1%). Néanmoins, aucune corrélation significative n'a été mise en évidence entre l'IMC et la richesse microbienne. (77)

- **Colonisation with the enteric protozoa *Blastocystis* is associated with increased diversity of human gut bacterial microbiota, Audebert et al. (54)**

= La colonisation par le protozoaire entérique *Blastocystis* est associée à une diversité accrue du microbiote intestinal humain

Titre	Colonisation with the enteric protozoa <i>Blastocystis</i> is associated with increased diversity of human gut bacterial microbiota
Date de parution	2016
Méthode utilisée	Métagénomique ciblée = Séquençage du gène codant l'ARN 16S
Population étudiée	Population Française, sujets provenant de 11 hôpitaux différents

Pour cette étude, l'échantillon initial était constitué de 788 patients, de 11 hôpitaux français différents. Parmi eux, 48 échantillons positifs à *Blastocystis* et 48 échantillons négatifs à *Blastocystis* ont été sélectionnés ainsi :

- Sur les 788 échantillons, 143 étaient positifs au protozoaire (soit 18%). Parmi ces 143, ont été sélectionnés les 24 avec le plus haut risque de positivité, et les 24 avec le plus bas risque.
- Il a été fait de même avec les échantillons négatifs.

Ces risques relatifs de positivité à *Blastocystis* étaient calculés en fonction de plusieurs variables :

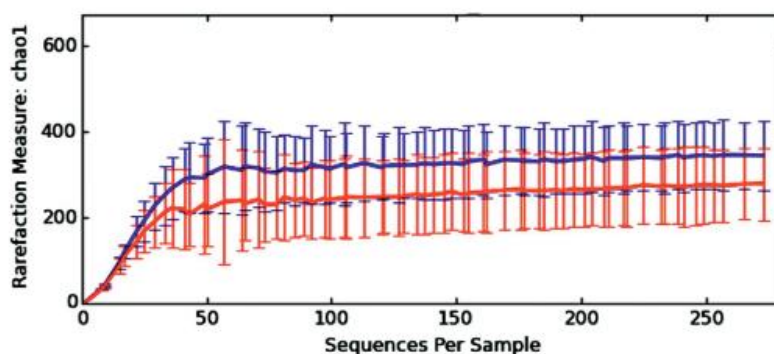
- La localisation de l'hôpital : Le taux de positivité était par exemple plus important à Lille que dans les autres hôpitaux
- Le moment de l'année lors du prélèvement : Les colonisations étaient moins fréquentes en hiver qu'en été
- Les voyages récents : *Blastocystis* était plus présent dans les selles de patients ayant voyagé récemment car le risque de contamination est plus important dans certains pays étrangers
- La présence d'autres parasites dans les échantillons : *Blastocystis* était plus présent dans les selles déjà contaminées par d'autres parasites
- La présence de fièvre : Les patients atteints de fièvre avaient plus de chance d'être positifs
- La présence de douleurs abdominales : Les patients atteints de douleurs abdominales avaient plus de chance d'être positifs

L'idée étant de réduire la probabilité d'un biais de sélection dans le choix des patients, chacun des 2 échantillons positifs ou négatifs à *Blastocystis*, a été divisé en 2 groupes de 24, en fonction du risque de positivité (élevé ou bas), formant ainsi 4 groupes :

	Risque faible	Risque élevé
Positifs à <i>Blastocystis</i>	Groupe 1	Groupe 2
Négatifs à <i>Blastocystis</i>	Groupe 3	Groupe 4

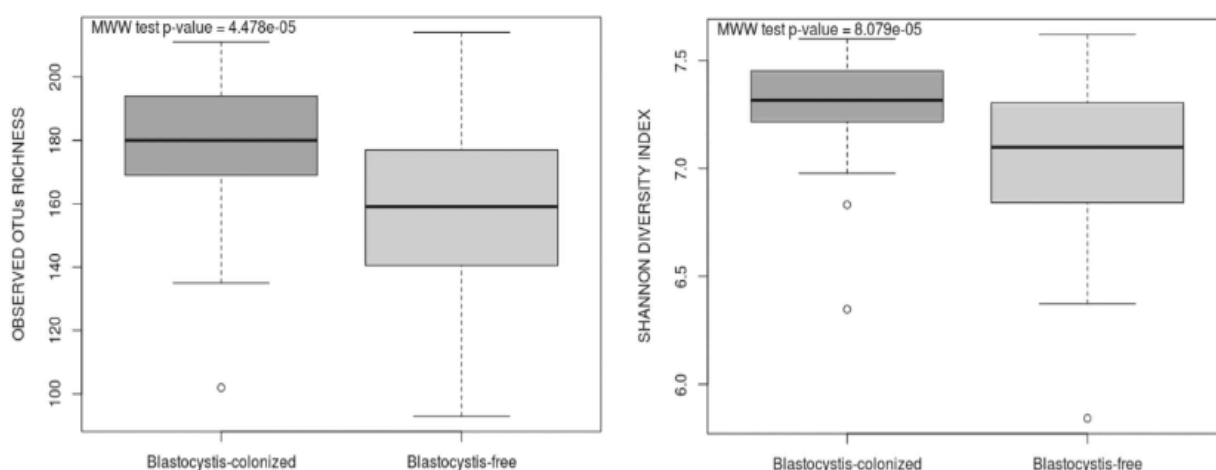
Ces 96 échantillons ont ensuite été séquencés, en ciblant le gène de l'ARNr 16S*.

⇒ Courbe de raréfaction :



Courbe de raréfaction, tiré de Audebert et al. (54)

La courbe de raréfaction permet de visualiser la richesse bactérienne (estimée ici par l'indice Chao1) en fonction de la profondeur de séquençage (le nombre de reads séquencés). La courbe de raréfaction obtenue ici montre une diversité bactérienne plus importante chez les sujets positifs à *Blastocystis* (courbe bleue) par rapport aux sujets négatifs à *Blastocystis* (courbe rouge).



Boîtes à moustaches de la richesse des OTU* ainsi que de l'index de diversité de Shannon* - Audebert et al (54)

En ce qui concerne la richesse en OTU*, on observe ici qu'elle est significativement supérieure chez les patients positifs au *Blastocystis* (médiane à environ 180 contre 160 chez les négatifs).

Pour la diversité, on observe la même tendance, avec un index de diversité de Shannon* plus élevé chez les sujets positifs au protozoaire, comparé aux patients négatifs, et ce de manière significative.

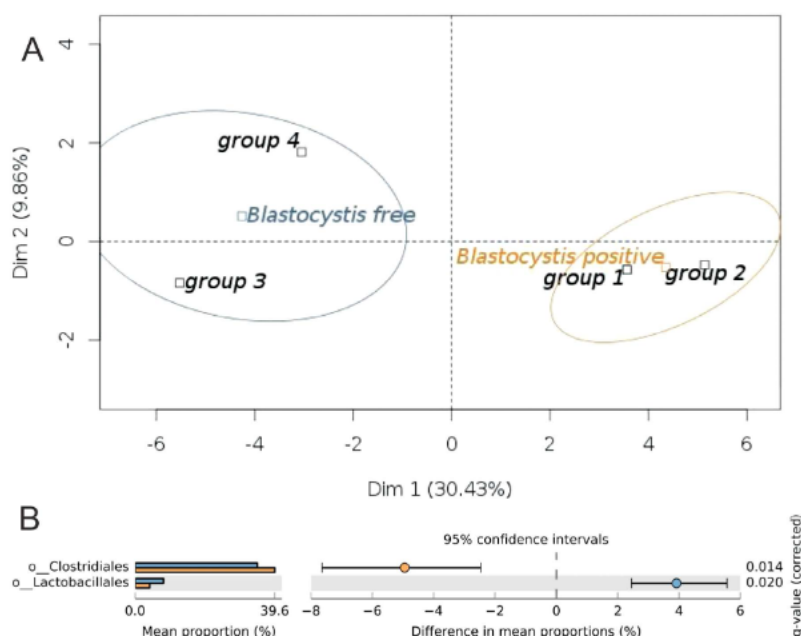
Tous ces résultats convergent vers le fait que le microbiote bactérien des patients positifs au *Blastocystis* est plus riche et diversifié que celui des patients négatifs.

La composition microbienne des patients colonisés par *Blastocystis* est également différente de celle des patients non colonisés, et ce à des niveaux taxonomiques différents :

	Augmentés	Diminués
Phylum	Firmicutes Bacteroidetes Proteobacteria	
Classe	Clostridia Mollicutes	Bacilli
Ordre*	Clostridiales	Lactobacillales
Famille**	Ruminococcaceae Prevotellaceae	Enterococcaceae Streptococcaceae Lactobacillaceae Enterobacteriaceae
Genre***	Différents taxa de Clostridiales <i>Prevotella</i> <i>Roseburia</i> <i>Faecalibacterium</i>	

Composition du microbiote des personnes positives au *Blastocystis* (54)

⇒ * Analyses de la composition du microbiote bactérien au rang taxonomique de l'Ordre (54):



■ = Négatifs à *Blastocystis*

■ = Positifs à *Blastocystis*

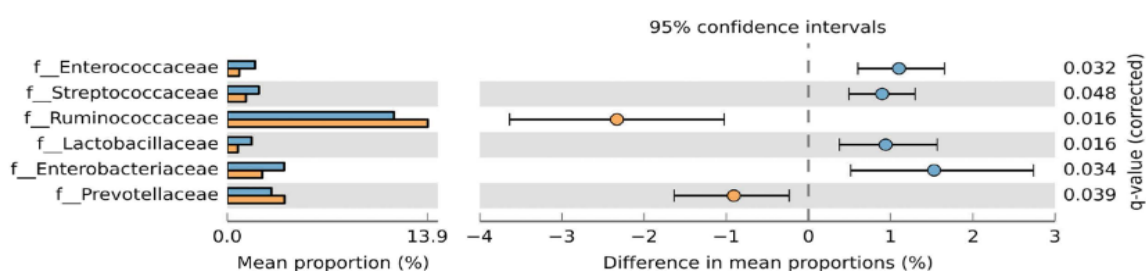
Mean proportion = Proportion moyenne

Une analyse en composantes principales permet de condenser les informations et de les regrouper en plusieurs groupes (A). On voit qu'au niveau de l'Ordre, les groupes 3 et 4 (négatifs) ont un profil microbiotique bien distinct des groupes 1 et 2 (positifs).

En (B), nous avons la proportion de séquences assignées aux deux ordres principaux : Clostridiales et Lactobacillales, les 2 ordres pour lesquels il existe une différence significative de richesse entre les personnes positives au *Blastocystis* et les personnes négatives. Nous avons la confirmation ici que :

- ⇒ Les Clostridiales sont plus abondantes chez les personnes colonisées ($p < 0.05$)
- ⇒ Les Lactobacillales sont moins abondantes chez les personnes colonisées ($p < 0.05$)

⇒ **** Analyses de la composition du microbiote bactérien au rang taxonomique de la Famille (54) :**



■ = Négatifs à *Blastocystis*

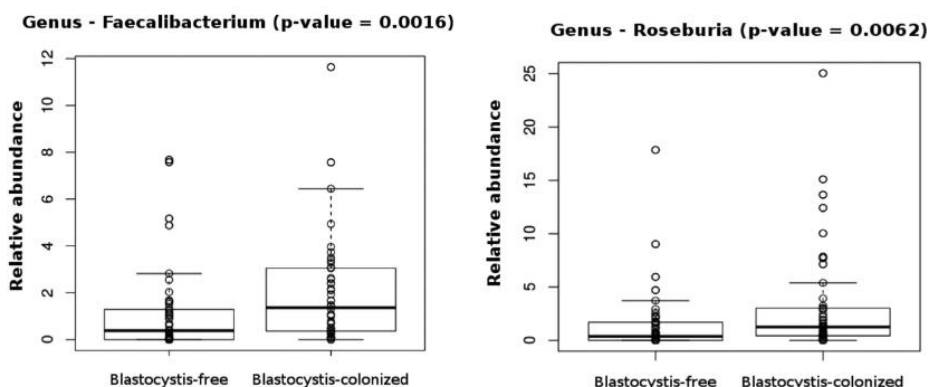
■ = Positifs à *Blastocystis*

Ici, nous avons les proportions moyennes de séquences associées à chaque famille principale composant le microbiote, ainsi que les différences entre les proportions moyennes entre les personnes positives et négatives à *Blastocystis*.

Comme évoqué précédemment, on observe de manière significative une différence entre les 2 catégories :

- ⇒ Prévalence augmentée des Ruminococcaceae et Prevotellaceae chez les personnes positives ($p < 0.05$)
- ⇒ Prévalence augmentée des Enterococcaceae, Streptococcaceae, Lactobacillaceae, Enterobacteriaceae chez les personnes négatives ($p < 0.05$)

*** Abondances relatives des OTUs* des genres *Faecalibacterium* et *Roseburia*
(54)



Ici, ce sont les abondances au niveau des genres qui sont étudiées. On observe que, comme évoqué précédemment, *Faecalibacterium* et *Roseburia* sont plus abondants chez les individus positifs au *Blastocystis* ($p < 0.01$)

En résumé, dans cette étude française, utilisant pour la première fois une approche de métagénomique ciblée pour étudier l'association entre *Blastocystis* et le microbiote intestinal bactérien, une plus grande diversité bactérienne a été trouvée chez les patients colonisés par *Blastocystis*. De plus, ces patients avaient une plus grande abondance en Clostridia.

Bien que la définition « exacte » du microbiote sain ne soit pas bien définie, il a été démontré que la dysbiose* était généralement caractérisée par 3 facteurs : diversité bactérienne diminuée, Clostridia diminués et Gammaproteobacteria (principalement Enterobacteriaceae) augmentés (54,55). Cette étude montre que la présence de *Blastocystis* est associée à une augmentation de la diversité bactérienne, une augmentation des Clostridia, et des Enterobacteriaceae diminués par rapport aux patients négatifs, soit l'inverse des facteurs caractérisant la dysbiose*.

De plus, les genres *Faecalibacterium* et *Roseburia*, contenant des bactéries connues pour produire du butyrate, sont bien plus présents chez les personnes colonisées par *Blastocystis*. Sachant que le butyrate est considéré comme un des métabolites les plus importants pour maintenir une bonne santé intestinale chez les humains, car étant une source d'énergie majeure des cellules épithéliales intestinales ainsi qu'ayant des propriétés anti-inflammatoires et régulant l'expression des gènes/la différenciation/l'apoptose* des cellules ; la diminution de la présence de ces bactéries est aussi identifiée comme un marqueur de dysbiose, notamment chez les patients atteints de la Maladie de Crohn ou de rectocolite hémorragique.

Tout cela semble pouvoir nous orienter sur le fait que *Blastocystis* n'est pas associé à une dysbiose* qui serait corrélée à certaines pathologies, et que la colonisation par ce protozoaire serait plutôt associée à un microbiote sain.

Néanmoins, cette étude soulève une question : Est-ce que *Blastocystis* se développe moins facilement dans un microbiote en dysbiose* ou bien joue-t-il un rôle actif dans la structuration du microbiote, contribuant ainsi à l'homéostasie intestinale ?

- **Large-scale comparative metagenomics of Blastocystis, a common member of the human gut microbiome – Beghini et al. (86)**

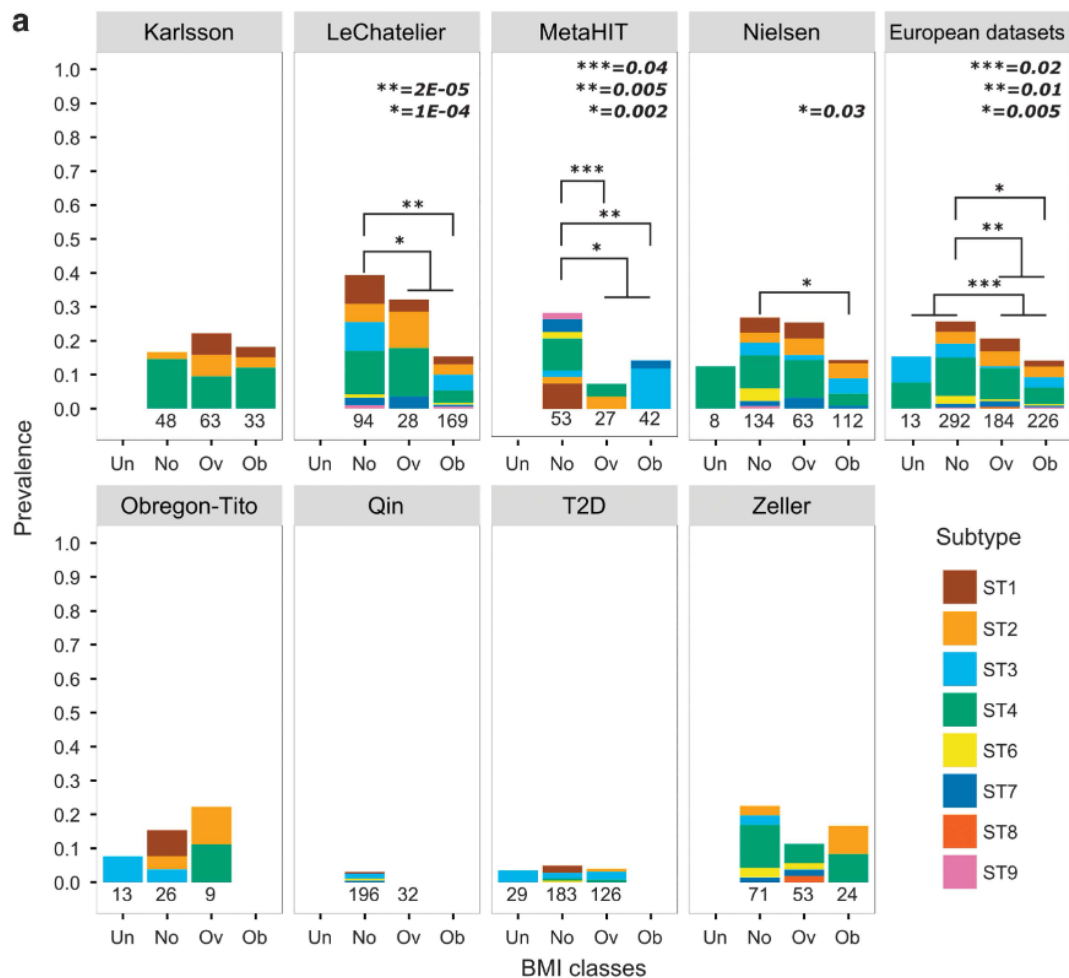
= Etude comparative métagénomique à grande échelle de *Blastocystis*, un membre commun du microbiote intestinal humain

Titre	<i>Large-scale comparative metagenomics of Blastocystis, a common member of the human gut microbiome</i>
Date de parution	2017
Méthode utilisée	Shotgun métagénomique
Population étudiée	Population d'origines géographiques diverses et des modes de vie divers Populations avec différents états de santé (Sain, Cancer colorectal, Diabète de type 2, Cirrhose hépatique, obésité, syndrome de l'intestin irritable*)

Cette étude de 2017 rassemble 12 jeux de données venant de plusieurs études différentes. C'est également une étude utilisant et étudiant bio-informatiquement des données métagénomiques pré-existantes, comme pour l'étude de Andersen et al. de 2015 (77). Celle-ci rassemble en tout 1689 sujets d'origines géographiques différentes, avec des états de santé différents (sain, cancer colorectal, diabète de type 2, cirrhose hépatique, obésité, syndrome de l'intestin irritable*) et des modes de vie différents, offrant ainsi un point de vue épidémiologique plus « global ».

- Etude de l'IMC :

Tout d'abord, la prévalence des différents sous-types de *Blastocystis* dans les différentes études a été étudiée en fonction des différentes classes d'IMC.



Prévalence de *Blastocystis* selon les différents IMC dans les différentes études (86)

Un = Sous-poids

No = IMC normal

Ov = Surpoids

Ob = Obèse

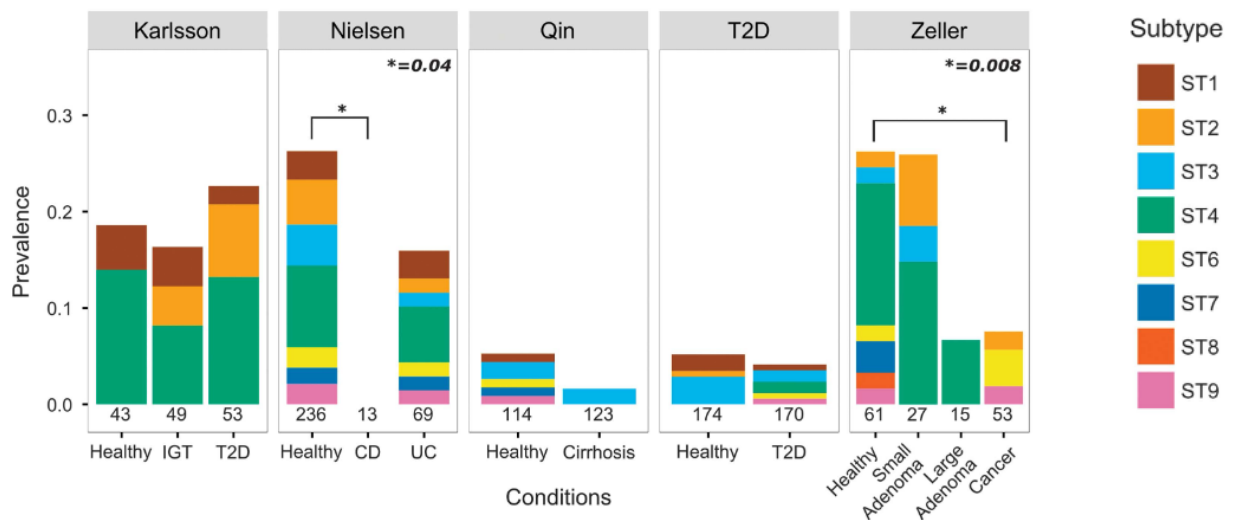
Le nombre total d'échantillon dans chaque classe est indiqué sous chaque barre

On voit ici que la prévalence de *Blastocystis* est plus importante chez les sujets ayant un IMC normal, notamment chez LeChatelier, MetaHIT, Nielsen, et dans les jeux de données européennes (86).

En effet, l'IMC est inversement corrélé avec la prévalence de *Blastocystis*.

L'étude métagénomique de LeChatelier, datant de 2013, ciblait spécifiquement le phénotype* obèse. *Blastocystis* était détecté chez 39.4% des sujets ayant un poids normal, contre 15.4% chez les sujets obèses (58), ce qui rejoint les trouvailles d'une autre étude Danoise de 2015 (77). (86)

- Etude des différentes pathologies :



Prévalence de *Blastocystis* en fonction des différents états de santé étudiés (86)

CD = Maladie de Crohn

IGT = Tolérance au glucose diminuée

T2D = Diabète de type 2

UC = Rectocolite hémorragique

* = Niveau de significativité

Ici, une différence significative a été trouvée dans deux cas différents :

Blastocystis est associé positivement et significativement avec le groupe contrôle (donc sain) dans le jeu de données avec des patients atteints de cancer colorectal (Zeller) (5.7% des patients malades étaient positifs contre 24.6% des patients sains) (113).

Les patients atteints de la maladie de Crohn avaient aussi une faible prévalence en *Blastocystis* ($P=0.04$) (Nielsen), en comparaison avec les sujets sains. (86)

- Etude de la composition du microbiote :

Il y a une forte association entre la présence de *Blastocystis* et l'abondance d'organismes archées. (86)

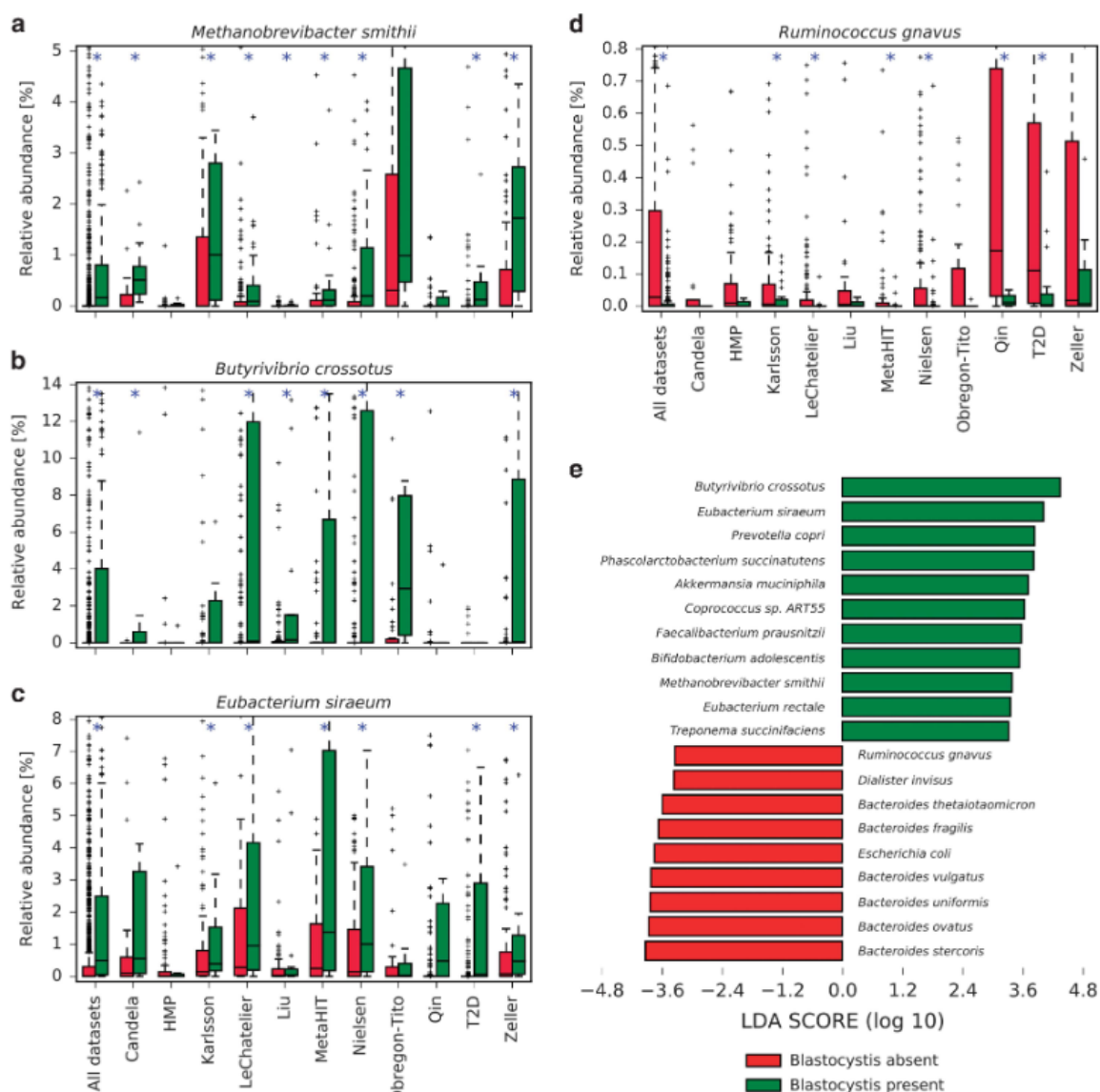
Les archées du microbiote sont principalement représentées par *Methanobrevibacter smithii*, du genre *Methanobacter*, qui est fortement associée à la présence de *Blastocystis*. Il est intéressant de noter que plusieurs gènes d'archées, probablement acquis horizontalement, sont présents dans le génome de *Blastocystis*, ce qui suggère des interactions et des échanges de matériel génétiques entre les microorganismes (86).

Plusieurs clades bactériens sont aussi fortement associés à la présence de *Blastocystis*, pour un total de 68 associations significatives. Les bactéries du phylum *Firmicutes* et de l'ordre des *Clostridiales* sont très enrichies dans les échantillons positifs à *Blastocystis*. (86).

Il existe aussi des associations négatives : Les *Bacteroides* sont plus abondants dans les échantillons négatifs au *Blastocystis* (ceci est observable dans 5 des jeux de données), ainsi que les protéobactéries. Cela peut être dû à une compétition pour les ressources ou la présence de différentes niches écologiques (86).

Certains phyla (Proteobacteria et Actinobacteria) n'ont pas l'air influencés par la présence de *Blastocystis*. Néanmoins, certaines espèces spécifiques de ces phyla sont tout de même fortement associées au protozoaire : *Oxalobacter formigenes* (Protéobactérie). Cf dernier graphique (86)

Au contraire, *Eggerthella*, une actinobactérie, est corrélée à l'absence de *Blastocystis*.

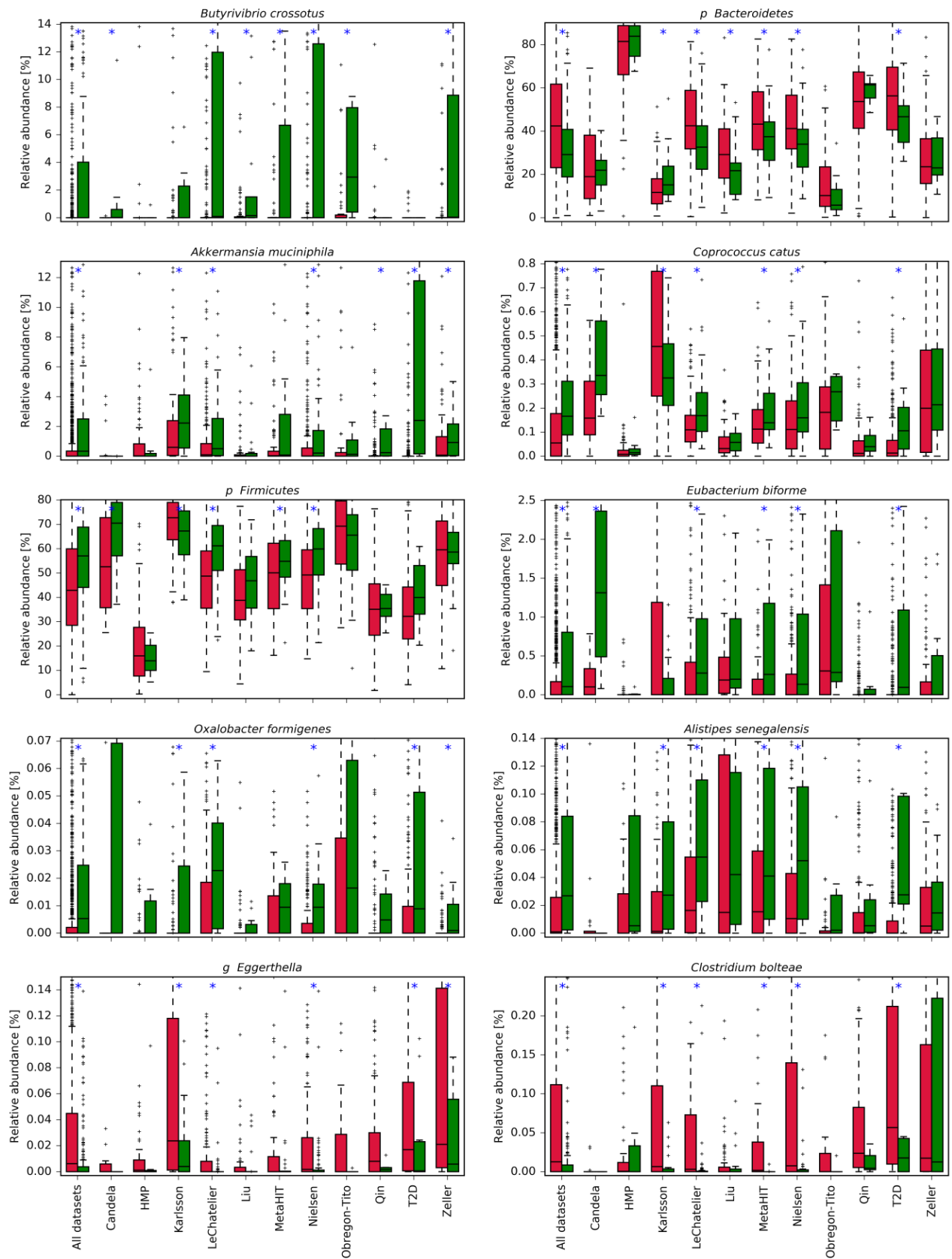


Composition du microbiote en la présence ou l'absence de *Blastocystis*, dans différentes études scientifiques (86)

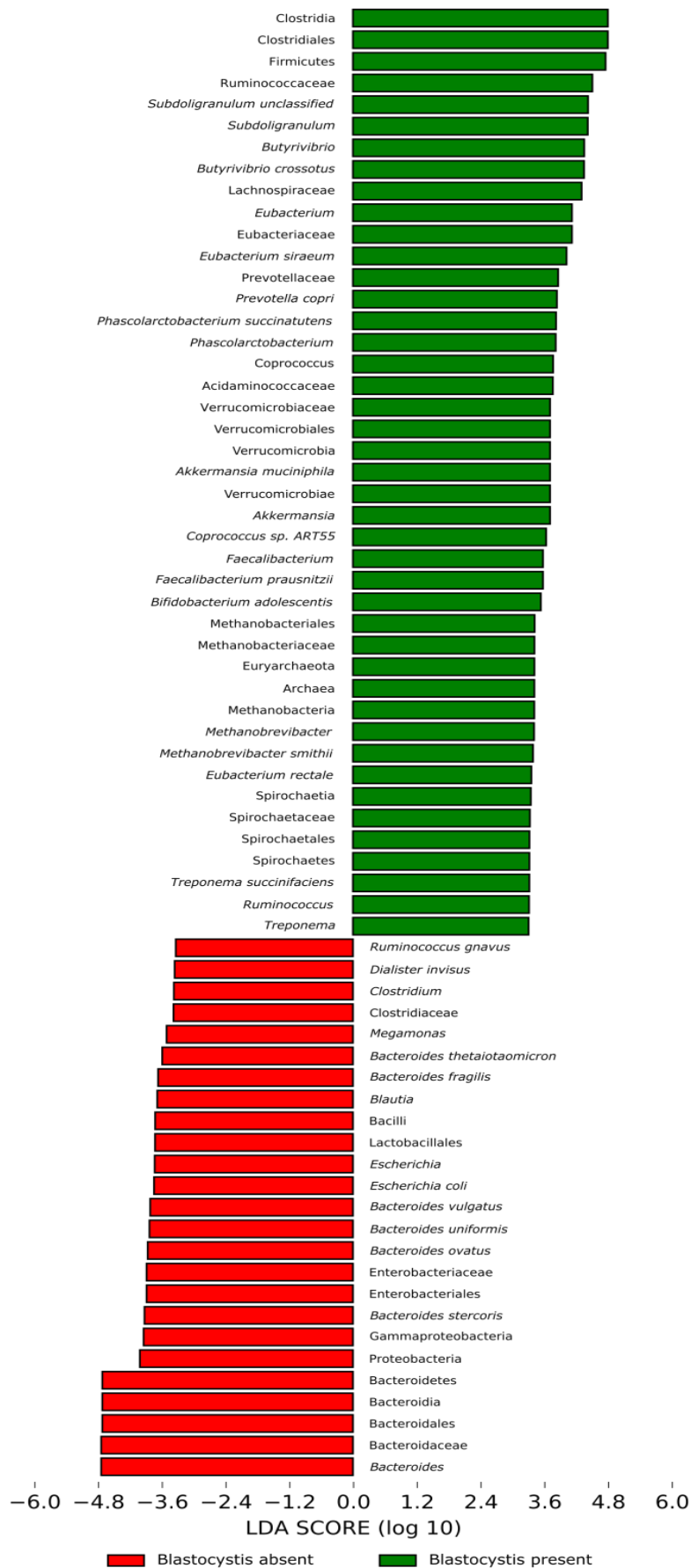
Ainsi, comme on le voit dans cette figure, la présence (ou absence) de *Blastocystis* est associée à des différences majeures avec le microbiote intestinal. Certaines espèces sont fortement associées à la présence (a-c) ou absence (d) de *Blastocystis*. Les boîtes à moustaches représentent la distribution des abondances

relatives d'espèces bactériennes en présence ou absence de *Blastocystis*. Les astérisques bleus indiquent les jeux de données avec des différences significatives entre la présence et l'absence de *Blastocystis*. (e) : De nombreux microorganismes sont associés statistiquement ($\alpha=0.05$) avec la présence de *Blastocystis*.

L'analyse de l'association entre *Blastocystis* et des microorganismes bactériens intestinaux a été étendue : les « signatures du microbiome » seraient-elles prédictives de la présence de *Blastocystis* ? Pour cela, une méthode basée sur l'apprentissage automatique a été utilisée. Cela a permis de révéler que la signature microbienne permettait de prédire la présence du protozoaire de manière significative, et ce dans tous les jeux de données de l'étude. Ceci permet de montrer que les microbiomes positifs à *Blastocystis* ont des caractéristiques distinctes, caractéristiques qui sont constantes entre les populations, les différentes zones géographiques et les effets de groupe (86).



Abondances relatives de différentes espèces bactériennes en la présence ou l'absence de *Blastocystis*, dans différentes études scientifiques (86)



Prévalence de différentes espèces bactériennes en la présence ou l'absence de *Blastocystis* (86)

En résumé, dans cette étude il a été trouvé que *Blastocystis* :

- Est moins souvent présent chez les patients présentant une dysbiose
 - Est négativement associé à la Maladie de Crohn et à la Rectocolite hémorragique
 - Est inversement associé à l'IMC
 - Est associé à une augmentation des bactéries des genres suivants : *Ruminococcus*, *Prevotella*, *Akkermansia*
 - Est associé à une diminution des bactéries suivantes : *Bacteroides*, *E.coli*
-
- **The relation between Blastocystis and the intestinal microbiota in Swedish travellers (2017)** (88)

= Relations entre *Blastocystis* et le microbiote intestinal chez les voyageurs suédois

Titre	<i>The relation between Blastocystis and the intestinal microbiota in Swedish travellers</i>
Date de parution	2017
Méthode utilisée	Shotgun métagénomique
Population étudiée	Suédois ayant voyagé dans la péninsule indienne ou en Afrique Centrale

Cette étude suédoise de 2017 a pour but d'étudier le portage de *Blastocystis*, l'effet des voyages internationaux sur sa colonisation, ainsi que sa stabilité.

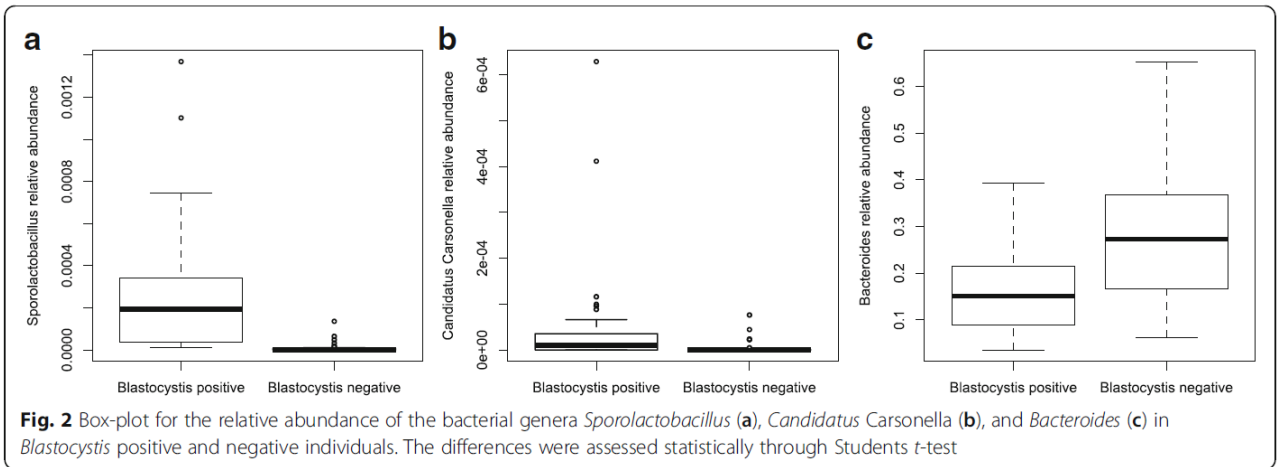
Les selles de 35 étudiants en santé suédois ont été analysées grâce à des méthodes de métagénomique, avant et après un voyage en péninsule indienne ou en Afrique centrale, afin de déterminer l'impact du voyage sur le portage de *Blastocystis* (les voyages ayant une durée médiane de 34 jours ; et les sujets de l'étude n'ayant pas pris d'antibiotiques dans les 6 mois précédant l'étude ni pendant le voyage).

Avant le voyage, 46% des étudiants étaient positifs au protozoaire, et 43% l'étaient après. Les sous-types les plus fréquemment trouvés étaient ST3 et ST4, le sous type ne changeant pas après le voyage.

51% des sujets étaient positifs à *Blastocystis* avant ou après le voyage, tandis que 37% étaient positifs avant et après le voyage. Pour ces derniers, le même sous-type était retrouvé avant et après.

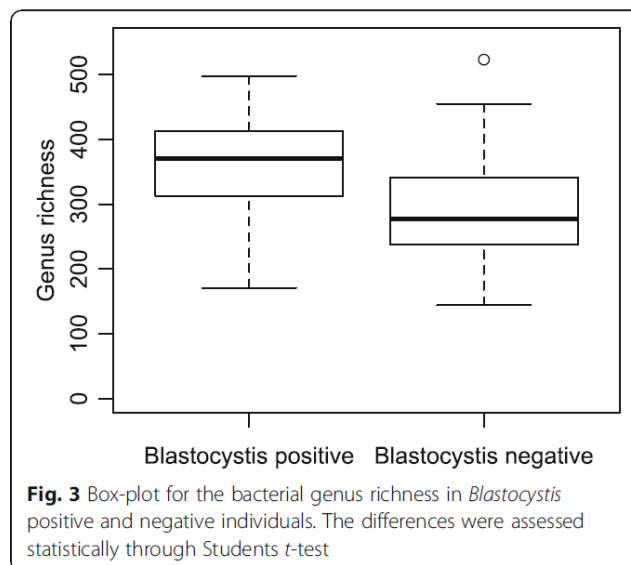
L'analyse métagénomique a révélé une grande variabilité interindividuelle du microbiote, mais ce dernier n'était que modérément affecté par le voyage.

Le portage du protozoaire est négativement associé à l'entérotipe *Bacteroides*, et positivement associé aux genre et espèce *Sporolactobacillus* et *Candidatus carsonella* (*Gammaproteobacteria*). Cette relation inverse avec *Bacteroides* pourrait s'expliquer par la compétition pour les nutriments, ou bien par un effet de prédation.



Boîtes à moustaches des abondances relatives de *Sporolactobacillus* (a), *Candidatus carsonella* (b), et *Bacteroides*(c), chez les personnes positives à *Blastocystis* et les personnes négatives – Forsell et al. (88)

La composition du microbiote intestinal n'était pas significativement différente entre les porteurs et les non porteurs de *Blastocystis*. Néanmoins, le portage de ce dernier est positivement associé à une plus grande richesse microbienne.



Boîte à moustaches de la richesse des genres bactériens chez les patients positifs à *Blastocystis* et les patients négatifs à *Blastocystis* – Forsell et al. (88)

Cela renforce l'association entre *Blastocystis* et une diversité bactérienne augmentée, comme évoqué dans les études précédentes. Comme un microbiote intestinal diversifié est considéré sain, *Blastocystis* pourrait être un indicateur de bonne santé gastrointestinale.

- **Asymptomatic intestinal colonization with protist *Blastocystis* is strongly associated with distinct microbiome ecological patterns - Ramirez et al. (81)**

= La colonisation asymptomatique intestinale par le protiste *Blastocystis* est fortement corrélée à des schémas écologiques distincts

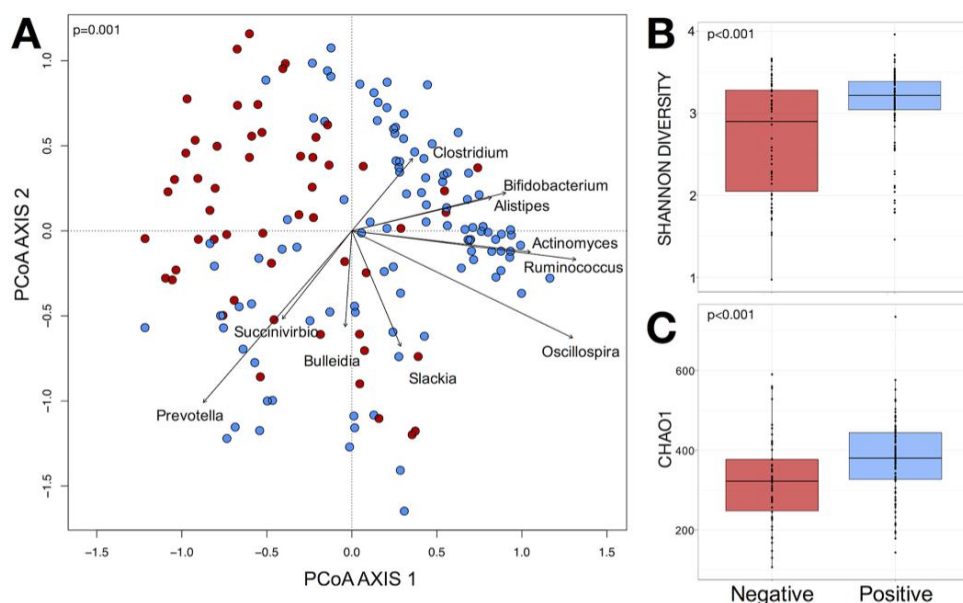
Titre	<i>Asymptomatic intestinal colonization with protist <i>Blastocystis</i> is strongly associated with distinct microbiome ecological patterns</i>
Date de parution	2018
Méthode utilisée	PCR quantitative en temps réel*
Population étudiée	Population mexicaine (Xoxocotla)

Dans cette étude de 2018, le microbiote bactérien et eucaryotique ont été étudiés chez 156 sujets asymptomatiques adultes d'une population à Xoxocotla (ville semi-industrialisée), au Mexique. Ces sujets n'avaient aucun symptôme inflammatoire et n'avaient pris aucun antibiotique dans les 6 mois précédant l'étude.

Cette étude permet aussi de répondre à la question : est-ce que le changement dans le microbiote est vraiment dû à *Blastocystis* en lui-même, ou bien cela serait-il juste le résultat d'une inflammation, même sub-clinique, provoquée par ce protiste ?

Blastocystis a été détecté chez 65% des individus, et le ST3 était celui le plus prévalent.

La colonisation par *Blastocystis* est fortement associée à des changements dans la diversité alpha* et beta* du microbiote.

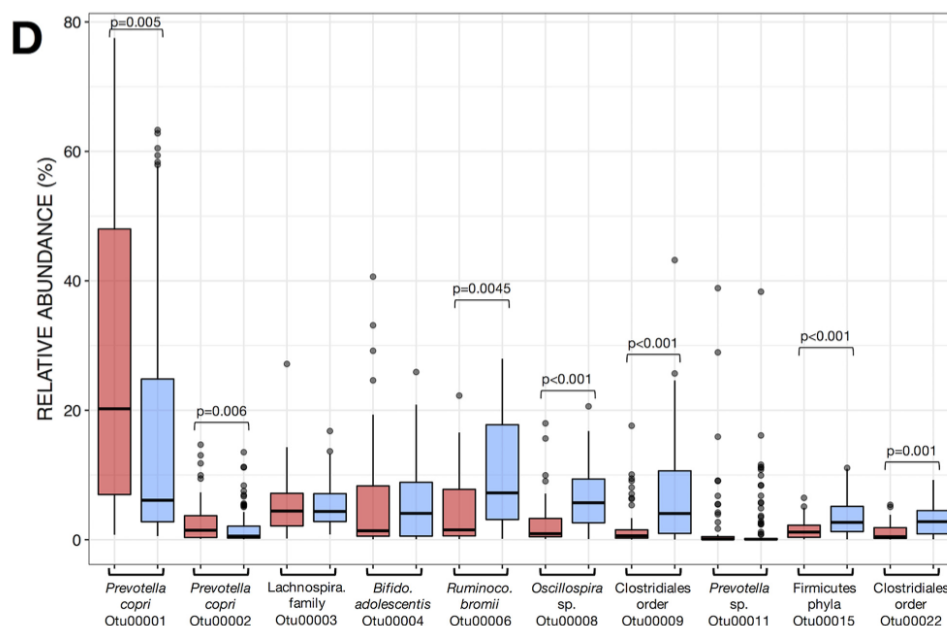


Diversité bactérienne alpha* et beta* en la présence (bleu) ou l'absence (rouge) de *Blastocystis* (81)

A : beta-diversité*

B et C : alpha diversité*

Les changements dans la diversité beta* peuvent être expliqués par les grandes différences dans l'abondance relative des espèces bactériennes prédominantes :



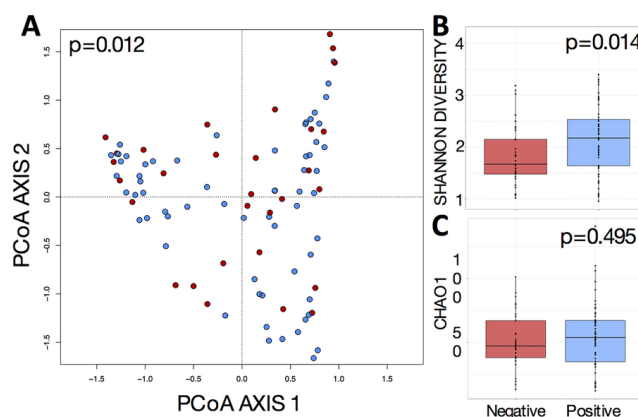
Abondances relatives de différentes espèces bactériennes en la présence (bleu) ou l'absence (rouge) de *Blastocystis* (81)

On peut voir ici que la présence (bleu) ou absence (rouge) de *Blastocystis* influence de manière significative l'abondance relative de plusieurs taxa. En effet, la colonisation par *Blastocystis* :

- Est liée à une augmentation des *Ruminococcus* ; *Oscillospira* ; *Firmicutes* et *Clostridiales*
- Est liée à une diminution des *Prevotella*

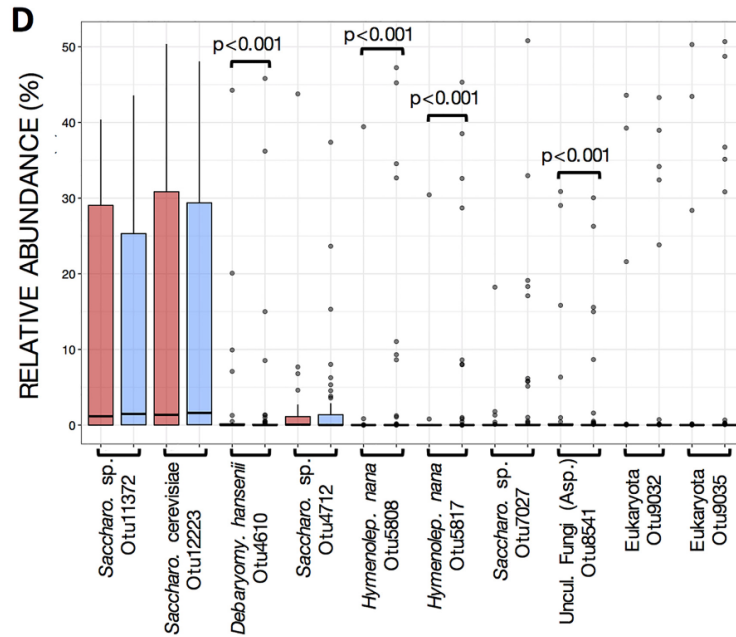
NB : Les effets de *Blastocystis* sur le microbiome ont été étudiés tout en contrôlant l'éventuelle influence de potentielles variables qui pourraient fausser les résultats, ceci grâce à des outils de modélisation. Ceci permet de vérifier qu'aucune autre variable ne pourrait expliquer les différences taxonomiques observées

Blastocystis est aussi associé à des différences, plus discrètes, dans le microbiote eucaryotique :



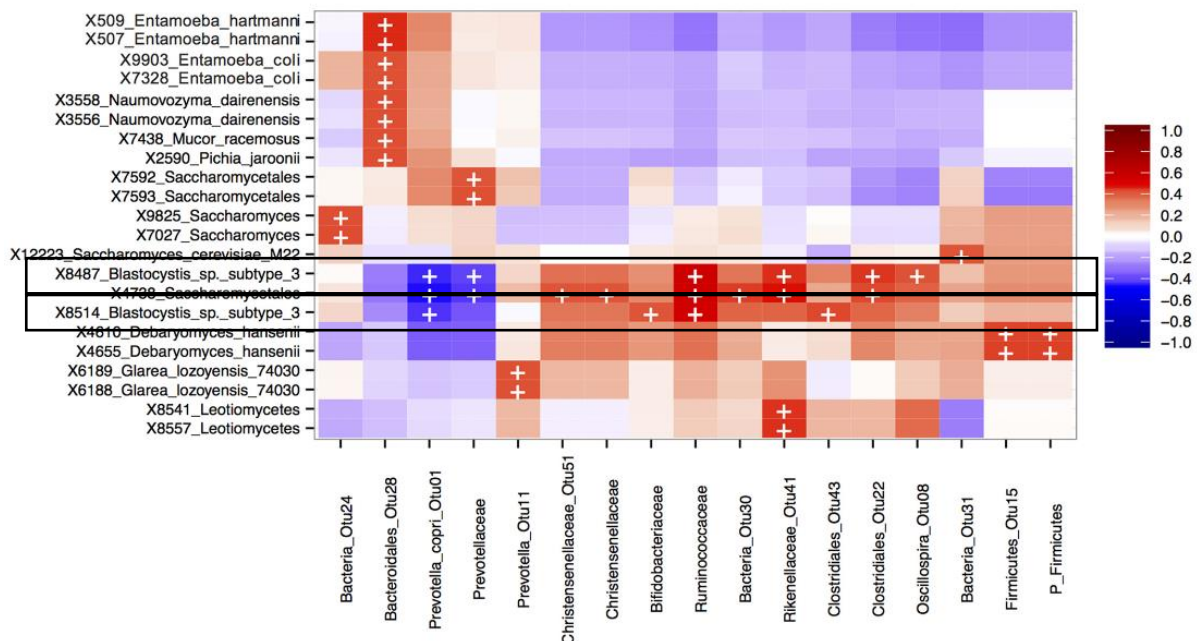
Diversité eucaryotique alpha* et beta* en la présence (bleu) ou l'absence (rouge) de *Blastocystis* (81)

A = beta-diversité* ; B et C = alpha diversité*



Abondances relatives de différentes espèces eucaryotales en la présence (bleu) ou l'absence (rouge) de *Blastocystis* (81)

La colonisation par *Blastocystis* a été associée à une augmentation de certaines espèces de levures et de fungi, ainsi qu'à une diminution d'*Hymenolepis nana*.



Carte thermique (Heat map) des corrélations entre les eucaryotes intestinaux et les espèces bactériennes retrouvées dans les échantillons de l'étude. (81)

Cette carte « thermique » montre les corrélations entre les taxa eucaryotiques les plus fréquents et les bactéries majoritairement retrouvées dans les échantillons. En bleu, nous avons les corrélations négatives, et en rouge les corrélations positives. Les « + » représentent les corrélations significatives ($P < 0.05$).

On retrouve les corrélations précédemment affirmées : *Blastocystis* (ST3 ici) est corrélé :

- Positivement avec les Ruminococcaceae, les Clostridiales, les *Oscillospira*
- Négativement avec les *Prevotella*

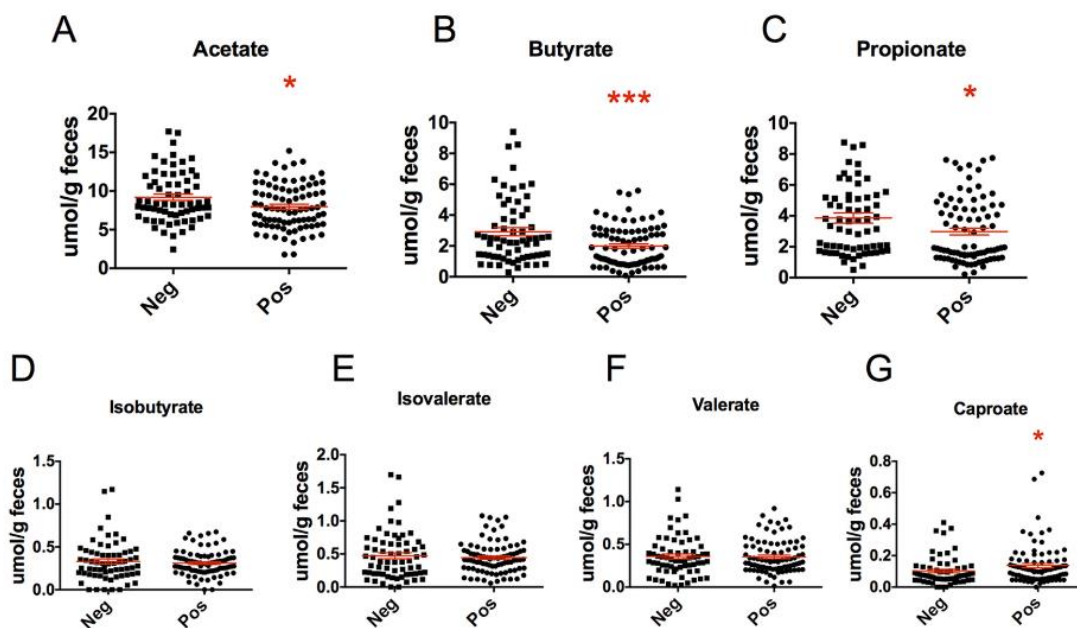
Cette étude a permis aussi d'étudier les changements fonctionnels du microbiote :

En effet, l'augmentation de la diversité bactérienne est accompagnée d'un changement fonctionnel du microbiote. Ces différences fonctionnelles impliquent des fonctions métaboliques diverses :

- ↗ Métabolisme des acides biliaires
- ↗ Métabolisme des lipides
- ↗ Métabolisme du tryptophane et d'autres acides aminés
- ↗ Métabolisme des carbohydrates

Nous allons nous pencher sur le changement dans le métabolisme des carbohydrates. Dans l'étude, la concentration fécale des acides gras à chaînes courtes a été mesurée dans tous les échantillons. Ainsi, chez les personnes colonisées par *Blastocystis* :

- ↗ L'acétate, le butyrate, le propionate (les 3 principaux AGCC*) sont réduits
- ↗ Le caproate est augmenté



Concentration en acides gras à chaîne courte* retrouvées dans les fèces, en présence (Pos) ou en l'absence (Neg) de *Blastocystis* (81)

On voit sur ce graphique tiré de l'étude, en A, B et C, que les trois principaux AGCC* cités précédemment sont diminués de manière significative (*= P<0.05 et ***= P<0.001).

La baisse de production des AGCC* principaux est très probablement due en partie à la diminution des *Prevotella copri*, un producteur important d'acétate.

Une question reste néanmoins en suspens : toutes ces modifications (qualitatives, quantitatives et fonctionnelles), sont-elles liées à *Blastocystis* en lui-

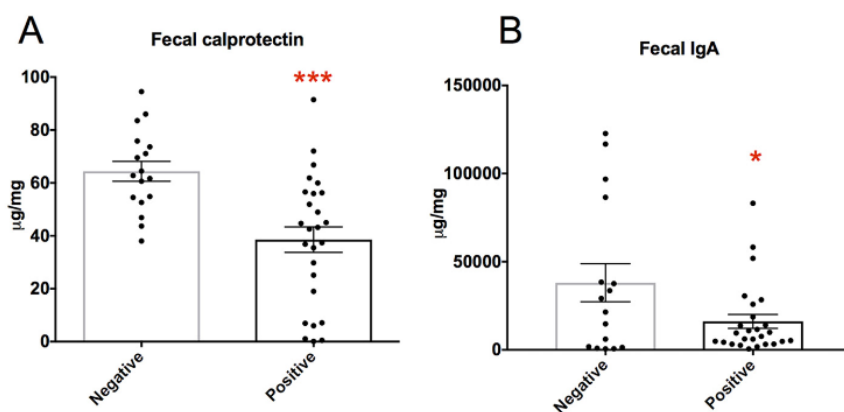
même ou seraient-elles liées à une réaction inflammatoire (infraclinique) provoquée par ce dernier ?

Pour cela, Nieves-Ramirez et ses collègues ont dosé plusieurs marqueurs de l'inflammation dans les échantillons :

- ⇒ La calprotectine fécale
- ⇒ Les IgA* fécaux
- ⇒ Marqueurs du stress oxydatif
- ⇒ Cytokines sériques

La calprotectine fécale est une protéine cytosolique des polynucléaires neutrophiles, et est par conséquent un marqueur de l'inflammation de l'intestin. Elle est diminuée de manière très significative (voir le graphique tiré de l'étude ci-dessous) chez les patients colonisés par *Blastocystis*.

L'immunoglobuline A* est la forme d'anticorps la plus abondante sur les surfaces mucosales. Les infections parasitaires provoquent l'augmentation de la sécrétion d'IgA* vers le lumen intestinal. Ces derniers permettent d'empêcher la multiplication des parasites. Après dosage des IgA* fécaux dans les échantillons, il s'avère que, de manière similaire à la calprotectine, les IgA* soient diminués chez les patients positifs à *Blastocystis*.



Changements immunitaires dans le mucus intestinal, en la présence (« Positive ») ou en l'absence (« Negative ») de *Blastocystis* (81)

Les produits protéiques d'oxydation avancée et le malondialdéhyde (MDA) sont des produits du stress oxydatif dont la concentration augmente lors d'un stress oxydatif (dû à une inflammation) et sont excrétés dans les urines. Par exemple, ils augmentent lors d'une infection à *Entamoeba histolytica*, *Ascaris lumbricoides* et *Plasmodium vivax*. En ce qui concerne les sujets de l'étude, ces biomarqueurs ont été mesurés dans leurs urines. Lors de la colonisation par *Blastocystis*, ces produits n'augmentent pas : il n'y avait pas de différence entre les sujets positifs et les sujets négatifs.

Enfin, chez les sujets positifs à *Blastocystis*, il n'y avait pas non plus de différence de concentration en cytokines inflammatoires.

En conclusion, la colonisation par *Blastocystis* n'induit pas d'inflammation, même infraclinique, qui pourrait expliquer les changements dans le microbiote. Ainsi, ces changements sembleraient bien dus à *Blastocystis* lui-même. De plus, ces changements ne peuvent être dus non plus à d'autres variables qui auraient pu elles aussi expliquer les différences de diversité et de fonctionnalité (comme l'âge, la

situation familiale, l'état de santé...), ces dernières étant contrôlées dans l'étude. Les habitudes alimentaires de cette population étant homogènes, elles n'influencent pas non plus les résultats.

Comment *Blastocystis* entraîne-t-il ces changements dans le microbiote ? Il est possible que *Blastocystis* exerce un effet prédateur sur les bactéries des taxa les plus abondants (c'est-à-dire près de 50% d'abondance chez les sujets négatifs au *Blastocystis*). La forme amiboïde de *Blastocystis* serait capable « d'engloutir » des bactéries (et il a été suggéré que cela servirait aux besoins nutritionnels nécessaires à l'enkystement (114)). Il y a d'autres arguments allant dans ce sens. D'un côté, la forme amiboïde de *Blastocystis* est très peu retrouvée dans les cultures axéniques* (115). D'un autre côté il existe de nombreux contacts entre les pseudopodes du protozoaire et les bactéries (116) .

En l'absence de *Blastocystis*, des espèces bactériennes comme *Prevotella copri* (rappel : dont la richesse est diminuée en présence du protozoaire, dans cette étude) « dominant » la communauté bactérienne, ce qui limite sa richesse. Lorsque *Blastocystis* est présent, il va être prédateur du taxa le plus abondant : c'est la prédation densité-dépendante. Cela va permettre de diminuer la compétition pour les nutriments et l'espace, ce qui mène à la colonisation et à la persistance d'autres espèces bactériennes plus minoritaires, et donc à une augmentation de la richesse microbienne bactérienne (=top down control).

Cette étude montre des différences de résultats par rapport aux études précédentes :

Le fait que les *Prevotella* soient diminuées dans cette étude ne concorde pas avec les études précédentes. Ceci pourrait être expliqué par la différence des populations : par exemple, les *Prevotellaceae* représentent environ 30% des taxa totaux de cette étude, tandis que dans la population Française (Audebert et al., 2016) elles n'en représentent que 5%. On a pu voir que *Blastocystis* diminuait les populations bactériennes des taxa majoritaires, ainsi, dans les populations où les *Prevotellaceae* sont des taxa minoritaires, elles ne sont pas diminuées par *Blastocystis*.

L'étude de 2015 (Andersen et al.) regroupant les résultats de plusieurs autres études (11), quant à elle, n'a pas relevé de différence dans la diversité alpha* chez les patients positifs au *Blastocystis*. De plus, *Blastocystis* et *Prevotella copri* étaient associés positivement. Ces différences sont probablement dues au fait que les sujets colonisés de l'étude étaient soit asymptomatiques ou symptomatiques, la différenciation entre les deux n'était pas faite.

En résumé, dans cette étude mexicaine :

- La colonisation par *Blastocystis* est fortement associée à une augmentation de la diversité alpha* et bêta* du microbiote bactérien, et de manière plus discrète pour le microbiote eucaryotique.
- *Blastocystis* est associé à une augmentation des *Ruminococcus* et une diminution de *Prevotella*.
- La colonisation par *Blastocystis* est accompagnée d'un changement fonctionnel du microbiote

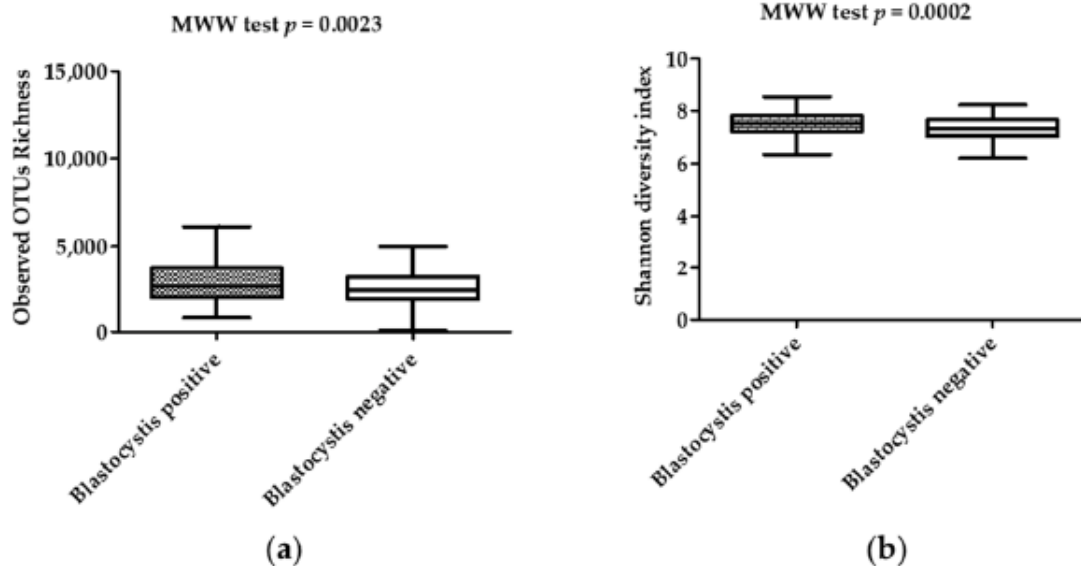
- **2019 : *Blastocystis* colonization is associated with increased diversity and altered gut bacterial communities in Healthy Malian Children** (82)

= La colonisation par *Blastocystis* est associée à une augmentation de la diversité, ainsi qu'à une altération des communautés microbiennes chez les enfants Maliens en bonne santé.

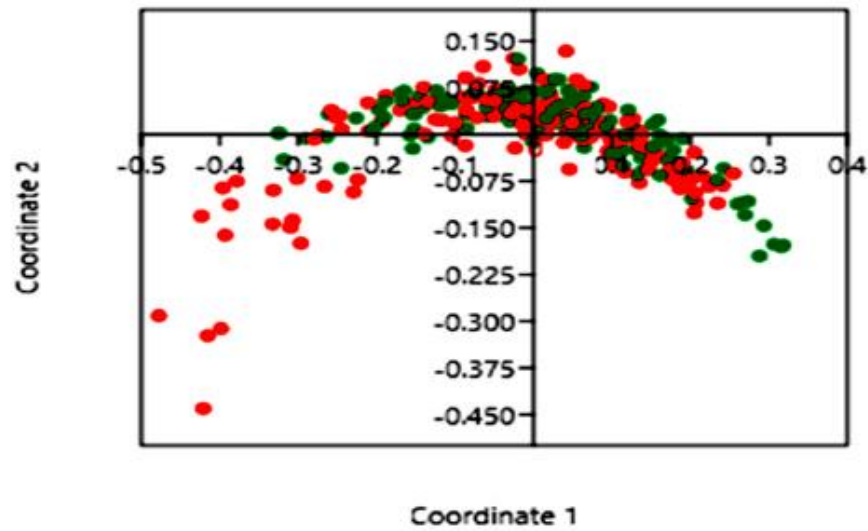
Titre	<i>Blastocystis</i> colonization is associated with increased diversity and altered gut bacterial communities in Healthy Malian Children
Date de parution	2019
Méthode utilisée	PCR en temps réel*
Population étudiée	Enfants Maliens

Cette étude de 2019 est cette fois menée sur les selles de 296 enfants maliens (d'une moyenne d'âge de 8 ans). Le but est d'évaluer l'influence de *Blastocystis* sur les communautés bactériennes des sujets de l'étude, en séquençant le gène de l'ARN 16S des microorganismes. 147 (49.7%) étaient colonisés par *Blastocystis* et 149 (48.7%) étaient négatifs.

Chez les patients colonisés par *Blastocystis*, la richesse d'OTUs* était augmentée ainsi que la diversité bactérienne. En effet, les indices de Shannon* et Simpson (alpha-diversité*) étaient tous deux augmentés chez ces patients.



Boîtes à moustaches représentant la richesse en OTUs* (a) en fonction des groupes ; ainsi que l'indice de diversité de Shannon* (b). MWW = Test de Mann-Whitney-Wilcoxon* (82)



PCoA des communautés microbiennes chez les patients colonisés par *Blastocystis* (en vert) et les patients non colonisés par *Blastocystis* (en rouge) (82)

Une analyse en coordonnées principales (ou PCoA*) a été utilisée pour évaluer la distance de Bray-Curtis : cette analyse a montré des clusters en fonction du statut de colonisation.

L'hétérogénéité des communautés bactériennes entre les deux groupes a aussi été évaluée. Les résultats montrent des variations du microbiote à différents niveaux :

	Augmentation chez les sujets positifs à <i>Blastocystis</i>	Augmentation chez les sujets négatifs à <i>Blastocystis</i>
Phyla	Firmicutes, Elusimicrobia, Lentisphaerae, Metanobacteria et Deltaproteobacteria	Planctomycetacia, Rubrobacteria, Deinococci, Gammaproteobacteria, Actinobacteria et Bacilli
Ordre	Clostridiales, Victivallales, Methanobacteriales, Elusimicrobiales, Aeromonadales, Acidaminococcales et Desulfovibrionales	Paramycetales, Rhodobacterales, Sphingomonadales, Rubrobacterales, Veillonellales, Pasteurellales, Micrococcales, Pseudocardiales, Enterobacterales, Myxococcales, Bifidobacteriales, Lactobacillales
Famille	Clostridiaceae, Ruminococcaceae, Lachnospiraceae	Streptococcaceae, Bifidobacteriaceae, Enterobacteriaceae, Leuconostocaceae
Genre	<i>Ruminococcus</i> , <i>Clostridium</i>	<i>Streptococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Shigella</i>
Espèce	<i>Clostridium saudii</i> , <i>Methanobacter smithii</i> , <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , <i>Roseburia</i>	<i>Streptococcus</i> sp., <i>Bifidobacterium</i> sp., <i>Shigella</i> sp.

Tableau récapitulatif des variations des espèces bactériennes chez les sujets positifs et les sujets négatifs à *Blastocystis* (82)

Les résultats de cette étude montrent que la diversité et la richesse des bactéries intestinales sont augmentées chez les enfants sains colonisés par *Blastocystis* par rapport à ceux qui ne le sont pas.

Faecalibacterium prausnitzii et *Roseburia* sp. sont relativement plus abondants chez les enfants colonisés par *Blastocystis*, et cette observation est d'un intérêt particulier : en effet, certains auteurs ont mis en évidence le fait que ces deux espèces bactériennes sont moins abondantes dans le microbiote de patients atteints de maladie de Crohn (82,117). Ces deux bactéries jouent un rôle protecteur important dans l'intestin : elles digèrent les fibres alimentaires en AGCC* (surtout en butyrate), source d'énergie pour les entérocytes. De plus, elles ont des propriétés anti-inflammatoires (82).

Il faut prendre en compte le fait que cette étude a été faite sur des enfants. Ainsi, le microbiote peut être différent de celui des adultes. De plus, le mode de vie ainsi que le régime alimentaire des enfants n'ont pas été évalués. Néanmoins, l'échantillon de cette étude est grand (296 enfants) et permet potentiellement d'avoir donc des résultats proches de la réalité. (82)

- **Stool Microbiota Diversity Analysis of Blastocystis-Positive and Blastocystis-Negative Individuals - Stensvold et al. (118)**

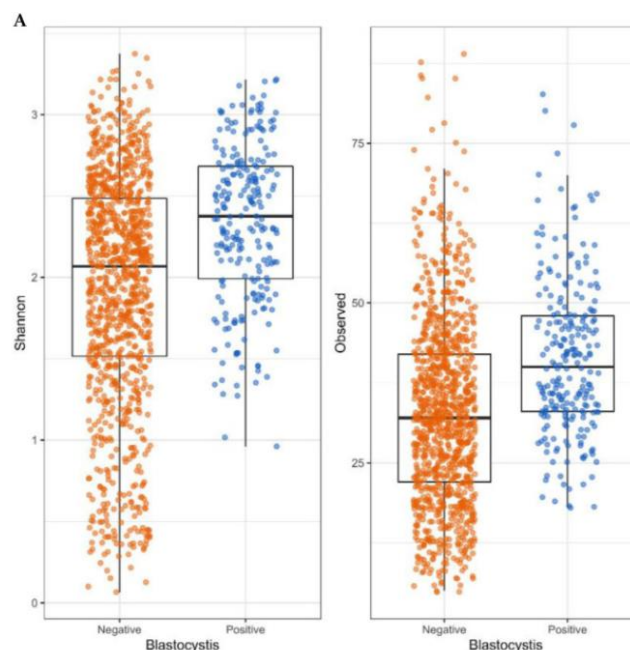
= Analyse de la diversité microbienne dans des échantillons fécaux d'individus positifs et négatifs à *Blastocystis*.

Titre	<i>Stool Microbiota Diversity Analysis of Blastocystis-Positive and Blastocystis-Negative Individuals</i>
Date de parution	2022
Méthode utilisée	Métabarcoding* et analyses bioinformatiques
Population étudiée	Sujets provenant de zones géographiques multiples : Algérie, Egypte, Turquie, Royaume Uni, Danemark.

Cette étude publiée en 2022 a été effectuée sur 1285 ADN fécaux, provenant de divers projets de recherche ainsi que de diagnostics de routine. Ces ADN proviennent de sujets venant d'Algérie, d'Egypte, de Turquie, du Royaume Uni et du Danemark.

Parmi les échantillons, 18.3% étaient positifs au *Blastocystis*. Les diversité alpha* (index de diversité de Shannon*) et beta* (Distance de Bray-Curtis) ont été analysées.

La diversité alpha* du microbiote est nettement augmentée chez les porteurs de *Blastocystis* par rapport aux non-porteurs, ainsi que pour la richesse microbienne.



Diversité de Shannon* (à gauche) et richesse du microbiome (à droite) retrouvés dans cette étude, tiré de Stensvold et al. (118)

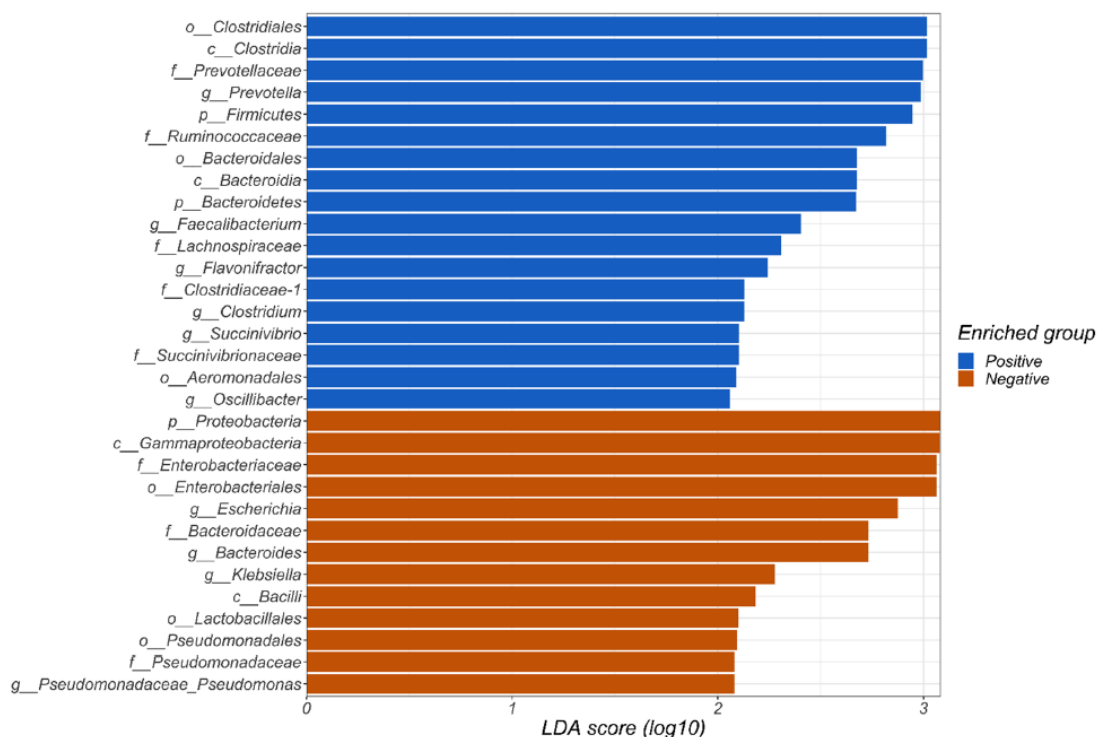
Les deux paramètres sont augmentés de manière significative dans cette étude.

Néanmoins, la diversité bêta* n'était pas augmentée de manière significative.

Au niveau du phylum, les Firmicutes et Bacteroidetes étaient augmentés chez les porteurs, et les Proteobacteria augmentées chez les non porteurs.

Au niveau du genre :

- *Prevotella*, *Faecalibacterium*, *Flavonifractor*, *Clostridium*, *Succinivibrio*, *Oscillibacter* sont augmentés chez les sujets positifs
- *Escherichia*, *Bacteroides*, *Klebsiella* et *Pseudomonas* sont augmentés chez les sujets négatifs



Corrélations positives (en bleu) et négatives (en rouge) entre le portage de *Blastocystis* et différents taxa microbiens. (118)

Les individus positifs avaient un microbiome associé à une eubiose*, tandis que les négatifs avaient un microbiome plutôt associé à une dysbiose*.

La limite de cette étude réside dans le fait qu'il n'y a aucune donnée sur l'état de santé des sujets, ce qui a empêché l'étude des corrélations entre *Blastocystis* et la santé des patients.

• **En résumé :**

Si l'on prend en compte toutes les études mentionnées ci-dessus, on peut affirmer que la présence de *Blastocystis* peut être un indicateur d'une bonne santé intestinale, voire générale. (76)

Entre ces différentes études, on peut trouver parfois certaines différences (espèces bactériennes augmentées ou diminuées par la présence de *Blastocystis* par exemple). Cela peut être dû à la variation des populations étudiées et des différentes techniques utilisées, ainsi qu'à la variabilité inter-individuelle. (80)

Tableau résumé des différentes études :

Population étudiée	Année de l' étude	Méthode utilisée	Nombre d' échantillons	Prévalence de <i>Blastocystis</i> dans l' échantillon	Populations bactériennes augmentées avec la présence de <i>Blastocystis</i>	Populations bactériennes diminuées avec la présence de <i>Blastocystis</i>	Aspect bénéfique de <i>Blastocystis</i> dans l' étude concernée
Danois	2015	Shotgun métagénomique	316	18.4%	Riminosoccus, Prevotella	Bacteroidetes	↓ IMC ↓ Rectocolite hémorragique
Français	2016	Métagénomique ciblée	788	18%	Firmicutes (Clostridiales), Bacteroidetes (Prevotella), Proteobacteria	Lactobacillales, Enterobacteriaceae	↑ Diversité ↑ Richesse bactérienne
Multinationale	2017	Shotgun métagénomique	1689	14,9%	<i>Methanobacter smithii</i> (archée), Firmicutes (Clostridiales), Prevotella, <i>A. muciniphila</i> , Ruminococcus	Bacteroides, <i>E. Coli</i> , Proteobacteria, Lactobacillales	↓ IMC ↓ MICI* ↓ Cancer colorectal
Voyageurs Suédois	2017	Shotgun métagénomique	35	51%	<i>Sporolactobacillus</i> , <i>Candidatus Carsonella</i> (γprotéobacteria)	Bacteroides	↑ Richesse bactérienne
Mexicains	2018	Métagénomique ciblée	156	65%	Ruminococcus, Oscillospira, Firmicutes, Clostridiales	Prevotella	↓ Acétate, butyrate, propionate ↑ Caproate ↓ Calprotectine et IgA*
Malaisiens	2019	Métagénomique ciblée	296	49,7%	Firmicutes (Clostridiales), Ruminococcus (<i>F.prautnitzii</i>), <i>Methanobacter smithii</i>	Actinobactéries, γgammaprotéobactéries, Enterobactériales, Lactobacillales	↑ Diversité ↑ Richesse bactérienne
Multinationale	2022	Shotgun métagénomique	1285	18,3%	Firmicutes, Bacteroidetes, Prevotella, Faecalibacterium, Clostridium	Proteobacteria, Escherichia, Bacteroides	↑ Diversité ↑ Richesse bactérienne

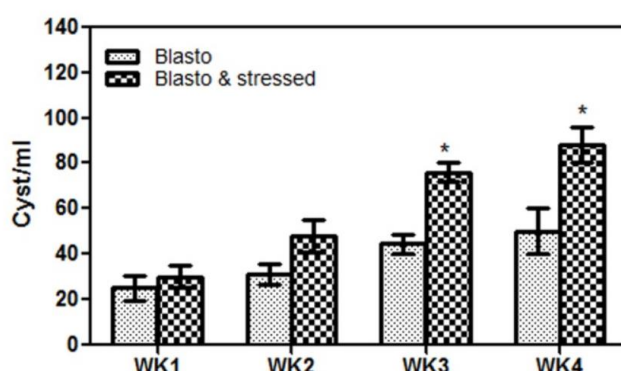
b) Pourquoi ces différences avec les recherches précédentes ?

Le résultat de toutes ces études peut paraître en contradiction avec les autres études qui affirment que *Blastocystis* est un protozoaire pathogène, qui peut causer de multiples symptômes cliniques comme la diarrhée, des flatulences, des nausées, des douleurs abdominales...(119). Néanmoins, ces deux affirmations ne sont pas incompatibles.

En effet, ces différences pourraient être dues à différents facteurs, comme la variabilité génétique ou le système immunitaire de l'hôte (54). Ainsi, *Blastocystis*, bien que généralement bénéfique à l'organisme, pourrait dans certaines circonstances devenir pathogène.

Selon une étude de 2014, un de ces facteurs serait le stress de l'hôte. En effet, en comparant 4 groupes de souris (Contrôle, Exposées à un stress, Positives à *Blastocystis*, Positives à *Blastocystis* et exposées à un stress), la conclusion suivante en est ressortie : La pathogénicité* de *Blastocystis* est augmentée quand un stress est présent (119).

En effet, le groupe positif à *Blastocystis* et stressé (que l'on appellera « *Blasto*+Stress ») avait plus de kystes de *Blastocystis* dans les selles que les souris simplement positives au protozoaire (« *Blasto* »), ceci suggérant que le stress augmentait la susceptibilité à *Blastocystis* par affaiblissement du système immunitaire. (119)



Graphique représentant le nombre de kystes de *Blastocystis* retrouvés dans les selles des souris chez les sujets positifs au protozoaire, chaque semaine (« WK ») de l'étude (119)

Chez l'Homme, le protozoaire serait donc plus pathogène dans des situations exposant à un stress. (119)

En effet, dans ce type de situations, le système immunitaire serait affaibli, notamment à cause du stress oxydatif, qui peut compromettre ce dernier. Ainsi, l'équilibre entre *Blastocystis* et le système immunitaire est perturbé, le rendant ainsi pathogène.

Il existe aussi une hypothèse suggérant que les variations génétiques entre différentes souches de *Blastocystis* pourraient résulter en des différences de pathogénicité*, via la présence ou l'absence de facteurs de virulence.

La présence de cystéines protéases pourrait être, par exemple, un facteur de virulence* : ces dernières sont essentielles à l'invasion et l'infection de l'hôte (120). Les protéases peuvent perturber la barrière épithéliale intestinale, et augmenter la perméabilité de l'intestin (107).

Certaines souches possiblement « pathogènes » de *Blastocystis* seraient capables de dégrader les mucines, tandis que des souches « non pathogènes » ou commensales ne feraient que coloniser l'hôte sans accéder à l'épithélium intestinal. Ainsi, certaines souches seraient capables de traverser la barrière de mucines, entraînant ainsi certains symptômes gastro-intestinaux (89).

D'autres études lient aussi certains sous-types de *Blastocystis* avec une virulence* augmentée (7,121). Par exemple, le ST7 posséderait des propriétés pathogènes qui ne sont pas observées chez les autres STs. Il pourrait compromettre la barrière épithéliale intestinale et l'endommager. Ce ST est plus souvent associé à des symptômes gastro-intestinaux. Ce dernier, via la production de dérivés réactifs de l'oxygène ainsi qu'en induisant une réponse immunitaire de l'hôte, diminuerait la viabilité de *Bifidobacterium longum* (110,122).

Néanmoins, aucune association définie entre sous-type et virulence* n'a été précisément établie à ce jour chez l'Homme. (7,121)

La variation dans l'expression des facteurs de virulence* pourrait se faire en réponse à différentes conditions environnementales et non systématiquement. Cet effet est par exemple retrouvé chez *Entamoeba histolytica* qui devient invasif suite à des changements de son environnement. (120)

D'autres hypothèses expliqueraient son rôle controversé par les différents sous-types prédominants, ou bien par l'association du protozoaire avec certains virus ou bactéries. (56)

Blastocystis pourrait être aussi considéré comme un opportuniste. Des études ont retrouvé des prévalences plus élevées du parasite chez des patients atteints du VIH ou des patients immunodéprimés (84,123). Certains travaux ont montré une corrélation entre la prévalence de *Blastocystis* et un taux de lymphocytes T CD4 inférieur à 200/mm³ (84). Le taux de LT CD4+ est inversement corrélé au taux de détection de *Blastocystis*, tandis que la charge virale de VIH y est positivement corrélée. (82)

Une étude menée chez des patients atteints de cancer colorectal a montré que *Blastocystis* pourrait être opportuniste chez ces patients sous chimiothérapie. En effet, les manifestations symptomatiques du protozoaire les plus importantes sont retrouvées plus fréquemment chez ce type de patient. (124)

Ainsi, l'effet pathogène de *Blastocystis* serait peut-être inhérent aux facteurs de l'hôte, plutôt qu'au sous type du protozoaire. (84) En effet, actuellement, il n'y a pas de distinction acceptée scientifiquement entre des sous types pathogènes et non pathogènes (88).

Le temps de colonisation est aussi un facteur à prendre en compte : en effet, l'effet bénéfique et protecteur de *Blastocystis* est surtout retrouvé pour des colonisations à long terme, plutôt que pour des colonisations à court terme. (125)

Enfin, beaucoup d'études sont menées sur des populations industrialisées, qui ont des interactions particulières avec les microbes. En effet, ces populations sont bien moins exposées aux microorganismes et ont une charge parasitaire nettement moindre que les populations non industrialisées ou nos ancêtres, qui ont co-évolué avec ces parasites (dont *Blastocystis*). Elles ne sont donc pas représentatives des interactions complexes hôte-microorganismes résultant de millions d'années d'évolution. (24)

Pour résumer, *Blastocystis*, bien que généralement bénéfique, pourrait être pathogène dans certaines conditions, qui sont dépendantes de l'hôte, de sa santé, de sa génétique, de son système immunitaire et possiblement du sous-type de *Blastocystis* et du temps de colonisation.

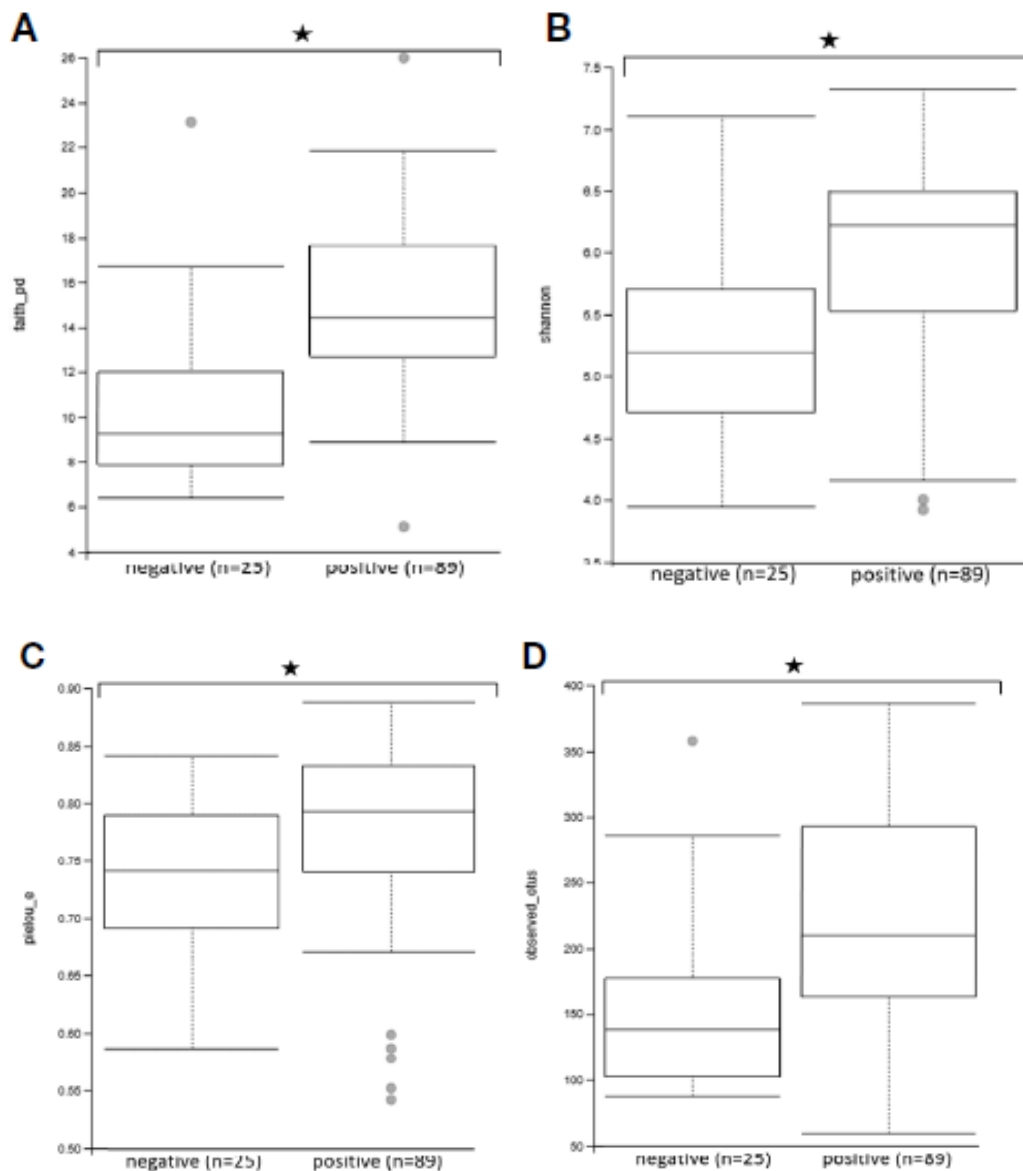
c) Une augmentation de la diversité du microbiote / Eubiose

Plusieurs études, comme celles vues précédemment, montrent que *Blastocystis* est associé à une plus grande diversité du microbiote, qualitativement et quantitativement parlant (23). En effet, les sujets colonisés par *Blastocystis* présentent une plus grande diversité microbienne par rapport aux sujets qui ne sont pas colonisés. (82)

Il existe un effet cumulatif des effets bénéfiques de *Blastocystis*. Plus le sujet est colonisé par différents STs, plus la diversité microbienne est augmentée par rapport à des sujets colonisés par seulement un ST (101).

Cette corrélation entre la diversité de *Blastocystis* (c'est-à-dire le nombre de STs) et la richesse du microbiome pourrait être expliquée par les expositions individuelles aux microbes, dues aux conditions et habitudes d'hygiène. Néanmoins cela n'expliquerait pas l'uniformité augmentée des espèces microbiales chez les sujets colonisés par plusieurs STs (101).

Blastocystis a un effet positif sur la diversité à plusieurs niveaux : sur la diversité alpha* et sur la diversité beta*. En présence du protozoaire, la diversité alpha* est augmentée de manière significative, et ce peu importe les indices utilisés. Cette dernière est d'autant plus augmentée si plusieurs STs de *Blastocystis* sont présents. (101)



Boîtes à moustache de 4 différents indices de diversité alpha*, chez des sujets positifs à *Blastocystis* et des sujets négatifs (101)

A : Test de diversité phylogénétique de Faith ; B : Index de Shannon* ; C : Indice d'équitabilité de Pielou ; D : ASVs observés.

ns= non significatif ; ★ = significatif

Ici, la diversité bêta* est également augmentée, quel que soit l'indice utilisé (distance de Bray-Curtis ou distance Unifrac). (101)

Les personnes colonisées par *Blastocystis* sont associées à une condition d'eubiose*. Elles présentent un rapport *Faecalibacterium prausnitzii* / *Escherichia coli* augmenté, ce qui est un marqueur de microbiote sain. (73)

Cette eubiose* est aussi caractérisée par une plus grande proportion de bactéries bénéfiques (Firmicutes et Bacteroides) par rapport aux bactéries potentiellement pathogènes (Proteobacteria) (82).

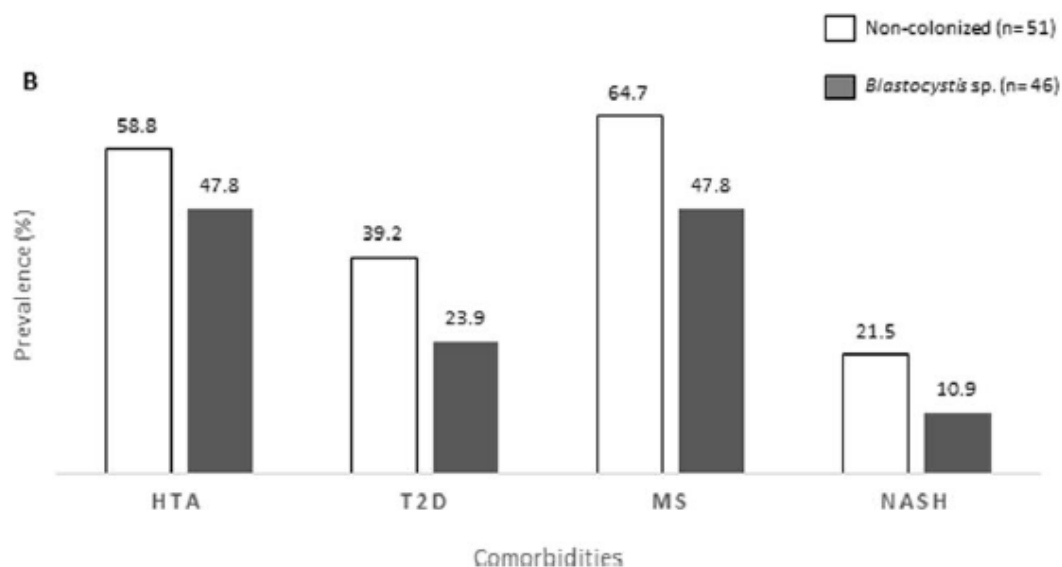
d) Un effet positif sur les comorbidités métaboliques

Blastocystis a des effets bénéfiques sur les facteurs métaboliques, notamment chez les sujets atteints d'obésité morbide (100). En effet, l'obésité est très souvent associée à des symptômes abdominaux (incluant : douleurs abdominales, ballonnements et flatulences), des comorbidités métaboliques, et à des déficits nutritionnels.

Les sujets obèses colonisés par certains parasites unicellulaires (et notamment *Blastocystis*), sont, de manière significative, enclins à présenter moins de symptômes intestinaux par rapport aux non colonisés, notamment en ce qui concerne les ballonnements et les flatulences, ainsi que le nombre de selles quotidiennes (100).

Les sujets obèses colonisés par *Blastocystis* ont aussi tendance, de manière significative, à moins souffrir de syndrome métabolique* (47.8% contre 64.7% chez les non colonisés). On retrouve aussi chez ces sujets (100) :

- Une prévalence plus faible de diabète de type 2 (T2D sur le graphique)
- Une prévalence plus faible de NASH (Non Alcoholic Steato Hepatitis)



Graphique représentant le taux de prévalence de certaines comorbidités, chez les sujets obèses non colonisés par *Blastocystis* (en blanc) et les sujets colonisés (en gris). Tiré de l'article « Presence and significance of intestinal unicellular parasites in a morbidly obese population », par J.Caudet et al., 2022. (100)

e) Effet sur l'obésité

Comme vu précédemment, il existe une corrélation négative entre *Blastocystis* et l'IMC. Cette corrélation est surtout significative pour le sous-type ST4, mais cela n'exclut pas les autres sous-types d'avoir les mêmes propriétés. (56)

De plus, il existe une corrélation positive entre le ST4 et :

- *Akkermansia*, bactéries abondantes chez les sujets sains, qui permet la dégradation des mucines intestinales, et associées à une perte de poids
- *Methanobrevibacter*, archées méthanogènes jouant un rôle important dans la digestion des carbohydrates et possiblement protectrices contre la prise de poids (56)

f) Absorption intestinale

Une étude de 2021 a permis d'étudier le métabolome* associé à *Blastocystis* pour la première fois. Le métabolome* est l'ensemble des métabolites présents dans un milieu, qui est ici le tractus intestinal. Bon nombre de métabolites présentent une différence entre les patients colonisés par *Blastocystis* et les non colonisés (85).

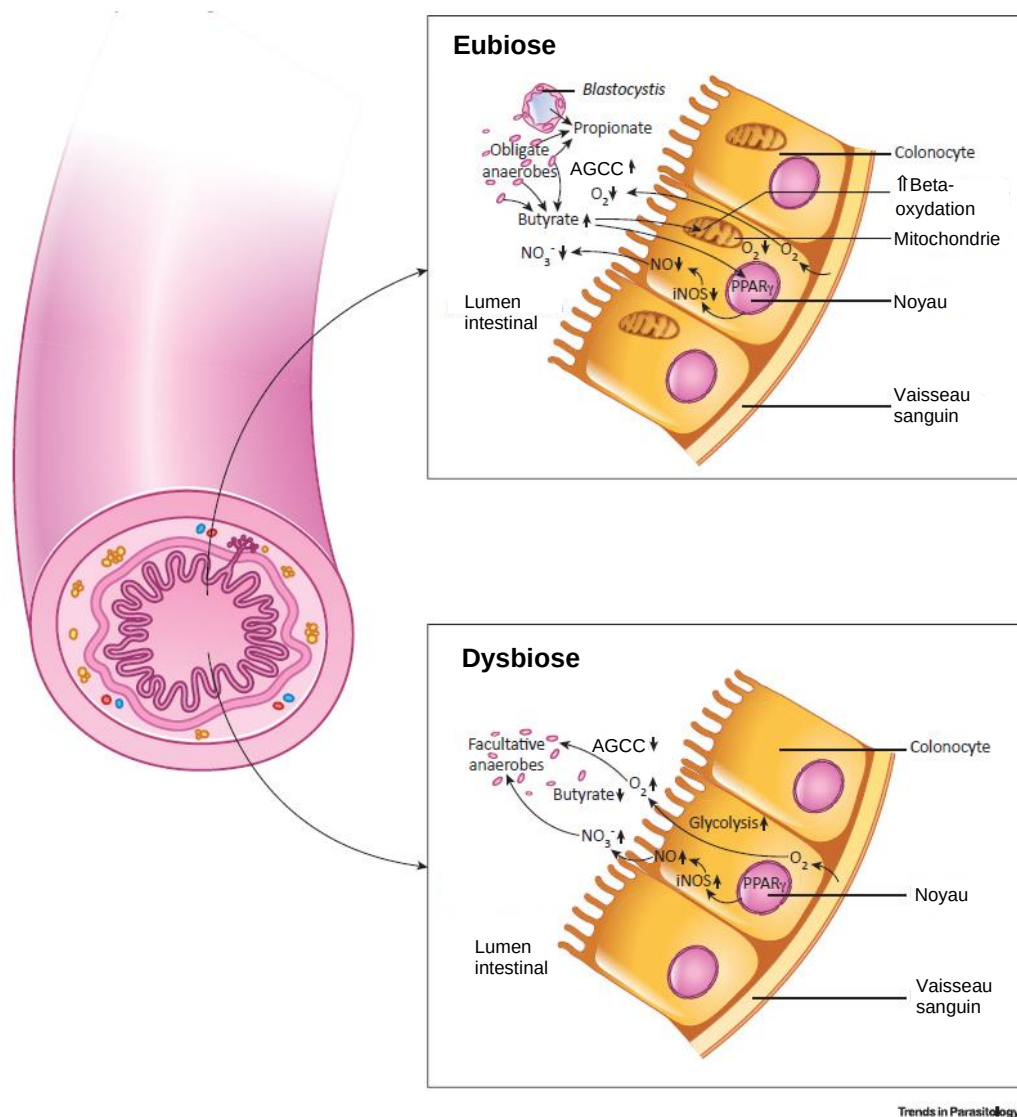
Blastocystis, par le passé, a été associé à des soucis de malabsorption intestinale (126). Néanmoins, lorsque l'on étudie les métabolites présents dans les selles de patients positifs, on retrouve une diminution significative des métabolites suivants : acides biliaires, acides aminés, sphingolipides, et d'acides gras à chaîne courte*. Ces métabolites, lorsqu'ils sont retrouvés en quantités augmentées dans les selles, sont signe de malabsorption intestinale (ils sont excrétés dans les selles de manière augmentée car leur absorption est diminuée), car principalement apportés par l'alimentation (85).

g) Production d'AGCC*

Parmi les AGCC*, on retrouve l'acide butyrique, le substrat préférentiel des cellules intestinales, dans un contexte d'eubiose*. (85)

La présence de *Blastocystis* est associée à l'augmentation de certaines bactéries productrices d'AGCC*, notamment le butyrate, qui joue un rôle clé dans la santé de l'individu (101).

Le butyrate est utilisé par les colonocytes dans la voie de la β -oxydation et permet de produire de l'ATP*. Cette voie consomme de l'oxygène, et donc réduit la concentration d'oxygène dans l'intestin. D'un autre côté, le butyrate est « détecté » par un récepteur nucléaire (PPAR γ), ce qui entraîne une répression de l'oxyde nitrique synthase (ou NO synthase). Tout ceci mène à une réduction de la prolifération des bactéries et eucaryotes anaérobies facultatifs, en faveur des anaérobies stricts (comme les Firmicutes et les Bacteroides, ainsi que *Blastocystis*). Ainsi, la présence accrue de bactéries productrices d'AGCC* entretient la colonisation par *Blastocystis* (27)



Relations dynamiques entre la flore microbienne et les colonocytes (27)

Obligat anaerobes = Anaérobies obligatoires

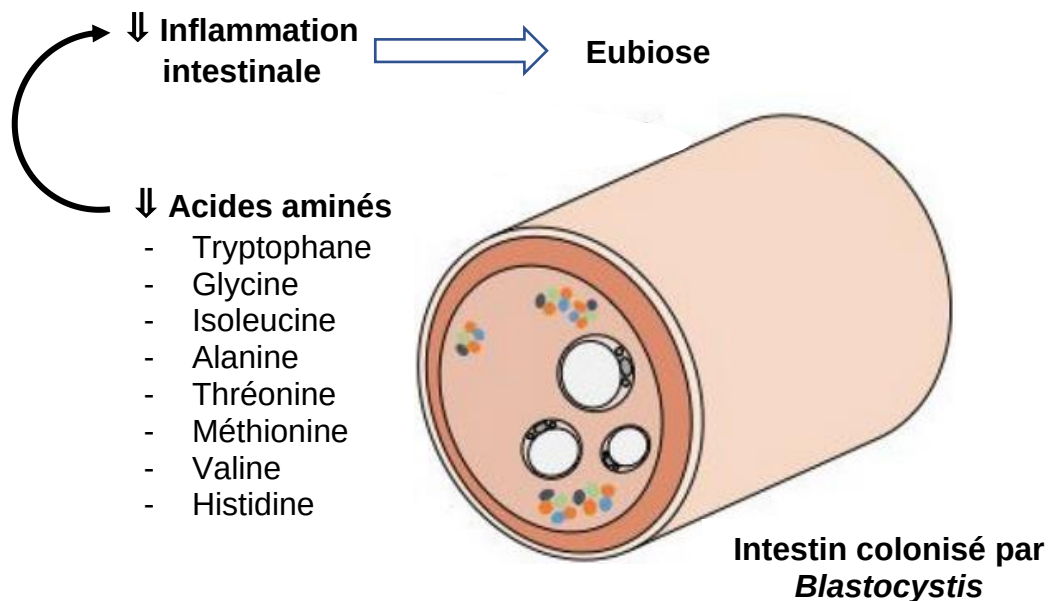
Facultative anaerobes = Anaérobies facultatives

h) Effet anti-inflammatoire

Les métabolites associés positivement à une inflammation intestinale sont diminués chez les patients colonisés par *Blastocystis*.

En effet, chez les patients colonisés, 8 acides aminés en particulier sont retrouvés de manière diminuée : Alanine, Glycine, Histidine, Isoleucine, Méthionine, Thréonine, Tryptophane et Valine. L'augmentation de ces derniers est considérée comme un marqueur de l'inflammation : On les retrouve augmentés dans les maladies inflammatoires de l'intestin, bien que le fait que cela soit dû à une malabsorption liée à l'inflammation ou bien à des pertes augmentées n'a pas été encore élucidé (85,127,128).

En résumé, la diminution de certains acides aminés dans les selles indique un rôle protecteur ou bien anti-inflammatoire de *Blastocystis*.



La diminution de certains acides aminés indique la présence de Blastocystis ainsi qu'un intestin sain non inflammatoire (85)

Blastocystis module le système immunitaire, via l'augmentation de la libération d'IL-22, qui stimule la production de mucus et réduit les symptômes de colite (56)

De plus, chez les patients colonisés par *Blastocystis*, la calprotectine, marqueur d'inflammation intestinale, est diminuée. (81,125)

Une colonisation à long terme de *Blastocystis* a un effet anti-inflammatoire sur l'intestin. En effet, une étude de 2021 (125) a étudié, sur des modèles murins, l'effet de la colonisation sur une inflammation du colon. Les rats étaient tout d'abord colonisés par des *Blastocystis* ST3, provenant d'un donneur humain asymptomatique. Une fois la colonisation confirmée, une colite était induite (par insertion de d' aide dinitrobenzène sulfonique par voie rectale) soit 3 semaines après (colonisation à court terme), soit 13 semaines après (colonisation à long terme). (125)

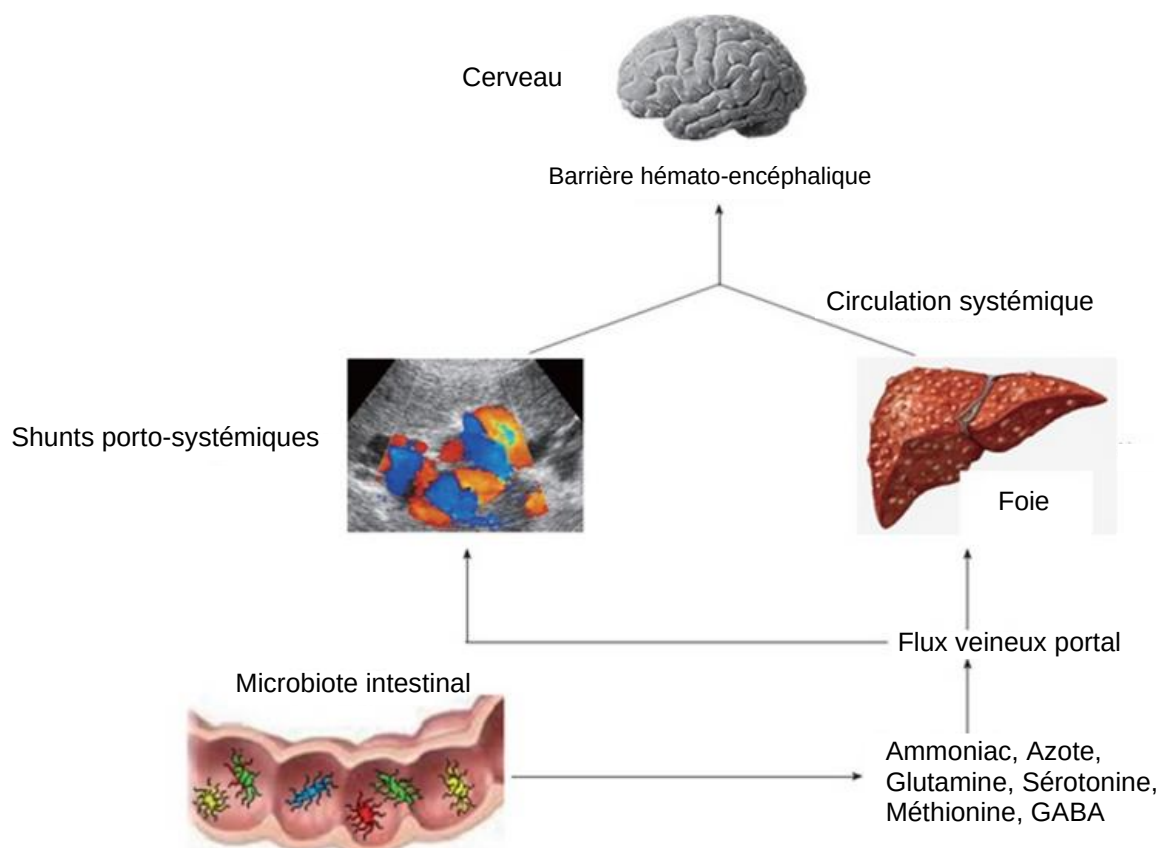
La colonisation à court terme n'a pas eu d'effet sur la manifestation de la colite, comparé aux rats non colonisés (les symptômes étant des diarrhées, de l'hématochézie*, de l'apathie, un pelage terne et une perte de poids).

La colonisation à long terme, quant à elle, a modifié la manifestation de la colite : les sujets avaient des manifestations plus importantes le 1^{er} jour, mais dès le 2^{ème} jour les cytokines pro-inflammatoires ainsi que les symptômes étaient réduits de manière significative, traduisant un rétablissement plus rapide. (125)

i) Rôle dans la physiopathologie des encéphalopathies hépatiques

Il existe une relation inverse entre *Blastocystis* et les stades avancés d'hépatite encéphalopathique (HE). En effet, dans une étude de 2016 menée sur des patients cirrhotiques à des stades plus ou moins avancés, il a été montré que l'absence de *Blastocystis* était associée à la sévérité des HE, ainsi qu'à une dysbiose*. (129)

Le microbiote intestinal est un facteur important dans la physiopathologie de l'HE : ce dernier produit des métabolites azotés *via* la dégradation de protéines, et ce par les bactéries productrices d'urée. Le microbiote est une source majeure d'ammoniac. Ces métabolites sont transportés par la veine porte jusque dans le foie et entrent dans le cycle de l'urée. (129,130)



Physiopathologie de l'encéphalopathie hépatique lors d'une cirrhose. Garcovich et al., 2012 (131)
 GABA = Acide gamma amino butyrique

Lors d'une HE, ou plus simplement d'une cirrhose, la motilité du tractus digestif est diminuée, la sécrétion d'acide gastrique est diminuée ainsi que les sécrétions pancréatiques. Tout ceci entraîne une modification du microbiote intestinal. Ainsi, l'HE a aussi une influence sur le microbiote intestinal. (129)

En ce qui concerne la place de *Blastocystis* dans les HE, il s'avère que plus le stade de cirrhose progresse, moins le protozoaire est détecté. Il est même absent au stade d'hépatite encéphalopathique. Ainsi, l'absence de *Blastocystis* est associée à la sévérité de l'HE, ainsi qu'à une dysbiose*. Néanmoins, le rôle exact du protozoaire dans l'HE n'est pas élucidé à ce jour. (129)

j) Des « ingénieurs de l'écosystème »

La colonisation par *Blastocystis*, comme le montre certaines études, est accompagnée d'un changement de la diversité microbienne ainsi que de sa composition. (81)

Ce protozoaire joue un rôle de prédateur vis-à-vis de certaines bactéries. En effet, la forme amiboïde de *Blastocystis* est capable de phagocytose : il a été suggéré que cela servirait ses besoins nutritionnels pour son enkystement. Cette prédation entraîne une « pression » écologique sur les taxa les plus abondants, donnant aux autres taxa minoritaires un meilleur accès aux nutriments et à plus d'espace pour se développer. (24,25)

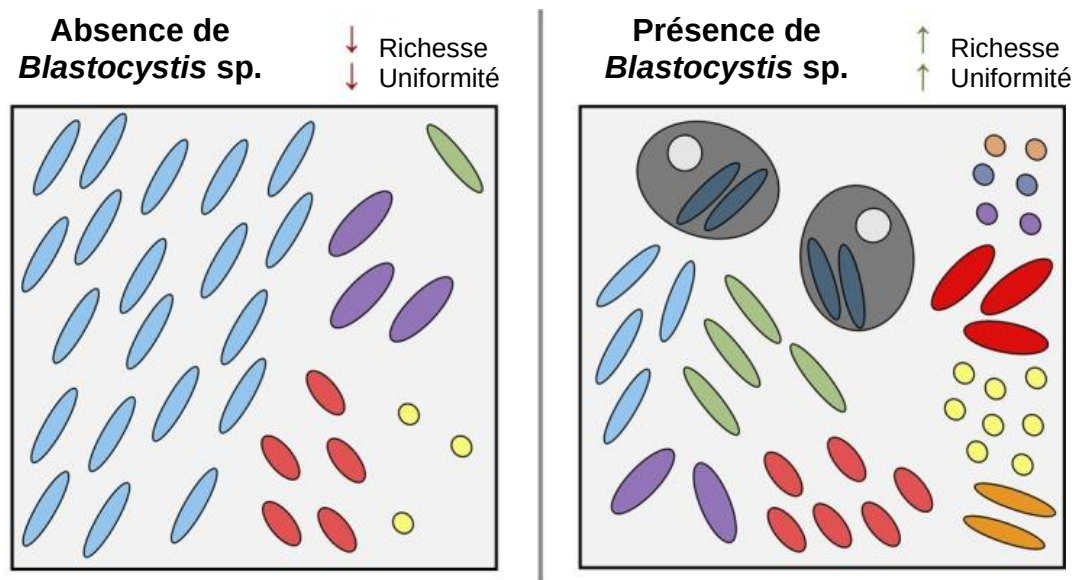


Schéma du rôle de *Blastocystis* spp sur la diversité microbienne (25)

⇒ Modification du ratio Firmicutes / Bacteroidetes par *Blastocystis* :

Ce rôle de prédateur cible notamment les *Firmicutes*, modifiant ainsi le ratio *Firmicutes/Bacteroidetes*, ratio prédominant du microbiote intestinal, qui diminue (56)

La modification de ce ratio est un indicateur de changements dans le microbiote intestinal. Des études ont montré que le microbiote d'animaux et d'humains obèses présentait un ratio F/B plus important (donc une prédominance des *Firmicutes* et une diminution des *Bacteroidetes*), comparé à des personnes de corpulence normale. (132)

En effet, cela peut être expliqué par le fait que les *Firmicutes* extraient mieux certains nutriments à partir de la nourriture par rapport aux *Bacteroidetes*, entraînant par conséquent une plus grosse absorption des calories et donc une prise de poids. (132)

Les *Bacteroidetes* produisent principalement de l'acétate et du propionate, tandis que les *Firmicutes* produisent principalement du butyrate, ayant des propriétés anti-inflammatoires et permettant une augmentation des leptines (hormone de la satiété). Ceci est donc contradictoire avec l'affirmation qu'une diminution du ratio F/B est retrouvée principalement chez les sujets sains et les sujets colonisés par *Blastocystis*. (56)

Néanmoins, il faut noter que ce ratio présente une limite importante : c'est un ratio au niveau des phyla, ce qui fait qu'il ne prend pas en compte les changements de composition du microbiote au niveau des familles, des genres et des espèces. (132)

Ainsi, cette limite peut expliquer la contradiction précédente. Il est possible qu'au sein des *Firmicutes*, chez les sujets obèses, les bactéries les plus productrices de butyrate soient remplacées par d'autres bactéries du même phylum, mais qui produisent moins voire peu de butyrate.

Par exemple, d'un côté, une augmentation des *Staphylococcus* spp. et des *Lactobacillus reuteri* (faisant tous les deux partis des *Firmicutes*) a été retrouvée chez les sujets atteints d'obésité. Ces bactéries sont positivement corrélées à une augmentation de l'absorption d'énergie ainsi qu'à une augmentation de l'inflammation (augmentation de la CRP plasmatique). De l'autre côté, les *Faecalibacterium prausnitzii* (faisant aussi partie des *Firmicutes*), bactéries productrices de butyrate, sont diminuées chez ces mêmes sujets. Ainsi, au sein du même phylum, on a une diminution du ratio bactéries productrices de butyrate / bactéries non productrices de butyrate. (56,132)

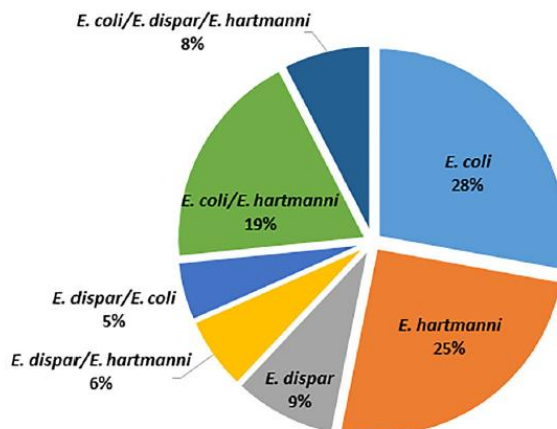
k) Potentiel thérapeutique

Ces découvertes récentes impliquent un potentiel rôle clinique dans le futur. Aujourd'hui, les consensus cliniques recommandent l'exclusion de donneurs positifs à *Blastocystis* lors des transplantations fécales. Néanmoins, certaines études montrent que certains sous-types, comme le sous-type 4, sont associés à un microbiote sain, ainsi des enquêtes approfondies seraient nécessaire afin de résoudre la question de la pathogénicité* de *Blastocystis*. (23)

9) Un autre protozoaire qui serait bénéfique au microbiote intestinal : *Entamoeba* spp.

Blastocystis spp., bien qu'étant le principal protozoaire intestinal étudié dans le cadre d'un bénéfice apporté au microbiote, n'est pas le seul. Un autre protozoaire intestinal aurait des propriétés similaires, bien que moins étudié : il s'agit des formes non pathogènes d'*Entamoeba* spp. : *E. coli* ; *E. dispar* ; *E. hartmanni* (excluant donc *Entamoeba histolytica* qui est pathogène). *E. coli* et *E. hartmanni* sont les espèces d'*Entamoeba* les plus présentes. (101)

Ces protozoaires se transmettent aussi par voie féco-orale. Comme évoqué précédemment, il existe plusieurs espèces d'*Entamoeba*. *E. coli* ; *E. dispar* et *E. hartmanni*.



Répartition des différentes espèces d'*Entamoeba* spp. chez des sujets Camerounais (101)

Il est possible de retrouver chez un même hôte plusieurs espèces d'*Entamoeba*. Dans une étude de 2020 sur des sujets Camerounais, 59.7% étaient positifs à *Entamoeba*. Parmi eux, 38% étaient colonisés par au moins deux espèces. Comme pour *Blastocystis*, la prévalence d'*Entamoeba* est augmentée dans les zones rurales. (101)

Ce dernier a été associé à une augmentation de la diversité ainsi que des changements de composition du microbiote intestinal, chez des sujets sains du Cameroun vivant dans des zones rurales. (101) Il a aussi été associé à une diminution de l'abondance relative de bactéries associées à des maladies inflammatoires ou auto-immunes, ainsi qu'un ratio *Faecalibacterium prausnitzii* / *Escherichia coli* augmenté, ce qui est fréquemment associé à l'eubiose* (73,133).

Il existe un effet cumulatif des influences de *Blastocystis* et de *Entamoeba* sur le microbiome intestinal. En effet, il est possible de retrouver les deux protozoaires chez un même hôte. Dans une étude menée en 2020 dans une population rurale du Cameroun, 53.7% des sujets étaient positifs aux deux. (101)

La colonisation par l'un des protozoaires augmente les chances d'être colonisé par l'autre. De plus, certaines espèces d'*Entamoeba* sont plus fréquemment associées à certains STs de *Blastocystis* comme le montre la figure suivante. (101)

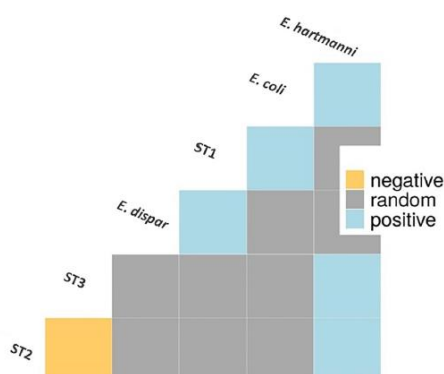
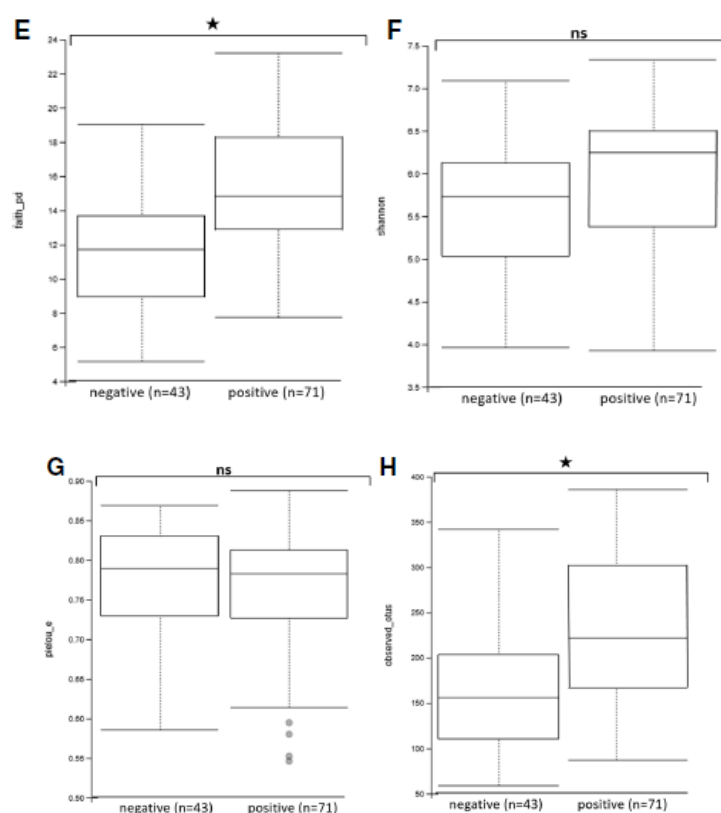


Tableau des associations entre différentes espèces d'*Entamoeba* et STs de *Blastocystis* (101)

On observe que :

- ST1 est positivement associé à *E. dispar* et *E. coli*
- ST2 et ST3 sont positivement associés à *E. hartmanni*

Comme *Blastocystis*, la présence d'*Entamoeba* entraîne une augmentation de la diversité alpha* du microbiote (mais toutefois de manière moins prononcée). Néanmoins, il n'existe pas d'interaction entre les protozoaires en ce qui concerne cet indice de diversité : une colonisation par les protozoaires affecte le microbiote de manière cumulative, indépendamment entre les *Blastocystis* et *Entamoeba*. (101)



Boîtes à moustache de 4 différents indices de diversité alpha*, chez des sujets positifs à *Entamoeba* et des sujets négatifs (101)

A : Test de diversité phylogénétique de Faith ; B : Index de Shannon* ; C : Indice d'équitabilité de Pielou ; D : ASVs observés.
ns= non significatif ; ★ = significatif

En ce qui concerne la diversité bêta*, elle aussi est augmentée lors de la colonisation par *Entamoeba* (mais cela n'est seulement mis en évidence que lorsque l'on utilise la distance de Bray-Curtis) (101).

Les personnes colonisées par *Entamoeba* spp. semblent donc posséder un microbiote eubiotique. Comme les personnes colonisées par *Blastocystis*, elles présentent un rapport *Faecalibacterium prausnitzii* / *Escherichia coli* augmenté, ce qui est un marqueur de microbiote sain. (73)

Pour résumer, *Entamoeba* a aussi des effets sur le microbiote intestinal, bien que ces effets soient différents et moins prononcés que pour *Blastocystis*. De plus, la présence d'*Entamoeba* n'est associée qu'avec le changement significatif d'une seule bactérie : une diminution de *Bacteroides*. Ce protozoaire interagirait avec le microbiote via des mécanismes différents de *Blastocystis*. (101)

V- Conclusion

Nous avons pu voir que *Blastocystis* est rarement associé à des symptômes chez les sujets colonisés. De plus, il est associé à une plus grande abondance de bactéries bénéfiques, ainsi qu'à une plus grande diversité du microbiome, ce qui est un marqueur d'un intestin sain et à une absence d'inflammation intestinale. (67)

Ainsi, il semblerait que *Blastocystis* n'est pas délétère pour son hôte ainsi que son microbiote. Il semble même être bénéfique, contrairement à l'idée générale sur les protozoaires intestinaux.

Certains auteurs hypothétisent même que ce protozoaire pourrait être un marqueur d'un microbiote intestinal sain. (82)

Le mécanisme d'interaction de *Blastocystis* sur le microbiote n'a pas encore été clairement élucidé. Il serait intéressant de mener des études expérimentales, sur des modèles *in vitro* par exemple, afin de découvrir le mécanisme exact. Des études longitudinales pourraient aussi être menées, par exemple en étudiant le microbiome d'individus avant et après une colonisation par *Blastocystis*.

Blastocystis semblant donc être bénéfique à la flore intestinale, les porteurs asymptomatiques du protozoaire ne devraient pas être traités contre ce dernier, bien que la pratique de la médecine actuelle semble vouloir traiter et éliminer tout protiste intestinal dès qu'il est détecté.

Cette éradication systématique a probablement une influence néfaste sur la santé des hôtes. (28)

Il serait intéressant d'explorer la piste des transplantations fécales. Ces dernières sont notamment utilisées dans le traitement des infections à *Clostridioides difficile* afin de rétablir un microbiote sain (27). Néanmoins, le portage de *Blastocystis* par les donneurs est actuellement un critère d'exclusion. Il serait peut-être intéressant de garder ce protozoaire lors des transplantations fécales, lorsque le porteur est asymptomatique. Ceci pourrait peut-être améliorer les résultats obtenus. Peut-être même serait-il possible d'inclure les transplantations (incluant *Blastocystis*) dans le traitement de certaines maladies comme le diabète de type 2, d'autres maladies métaboliques, dans certaines maladies auto-immunes... (27). On pourrait même peut-être imaginer utiliser *Blastocystis* comme « probiotique* » afin d'augmenter la diversité du microbiote et de restaurer l'équilibre de ce dernier, protégeant ainsi l'intestin contre des maladies inflammatoires. (72)

Une question reste cependant à étudier : est-ce que l'augmentation de la diversité microbienne est la cause ou la conséquence de la colonisation par *Blastocystis* ? Il serait intéressant de mener une étude longitudinale afin d'élucider cette question, en analysant par métagénomique le microbiote intestinal d'humains non colonisés par *Blastocystis*, puis après colonisation par ce dernier (colonisation à court et à long terme). Néanmoins, une telle étude risquerait de poser des soucis d'éthique en inoculant un protozoaire à des individus sains, les modèles animaux fiables et reproductibles n'étant pas disponibles.

Lexique :

Acides gras à chaîne courte (AGCC) : Produits finaux issus de la fermentation bactérienne, pouvant réguler le système immunitaire systémiques par l'induction de lymphocytes T régulateurs (ou lymphocytes T reg) (80)

Alimentation croisée : Relation dans laquelle un organisme consomme les métabolites produits par un autre organisme. (80)

Ang4 : Angiogénine 4, protéine produite par les cellules de Paneth des souris, et ayant une activité bactéricide. (134)

Apoptose : Mort cellulaire programmée, processus cellulaire par lequel ces dernières s'autodétruisent, et ceci en réponse à un signal (135)

ARNr 16S : ARN ribosomique, qui constitue la petite sous unité du ribosome des procaryotes. En effet, le ribosome est constitué d'une grande sous unité et d'une petite. Ce dernier est un complexe d'ARN qui permet de synthétiser les protéines dans les cellules.

ATP : Adénosine Tri-Phosphate, nucléotide permettant la production d'énergie des cellules.

Autoantigène : Antigène du « soi », constituant l'organisme lui-même, et pouvant être cible d'une réponse immunitaire (donc auto-immune).

Axénique : Dépourvu de germes, pathogènes ou non

Chimiotaxie : Mouvement d'une cellule ou d'un organisme, en réponse à un stimulus chimique (136).

Cross-feeding : Processus par lequel un organisme se nourrit des produits du métabolisme d'un autre organisme.

Cryptes : Une crypte intestinale est une invagination de l'épithélium intestinal, où s'opère le renouvellement de l'épithélium intestinal. (137)

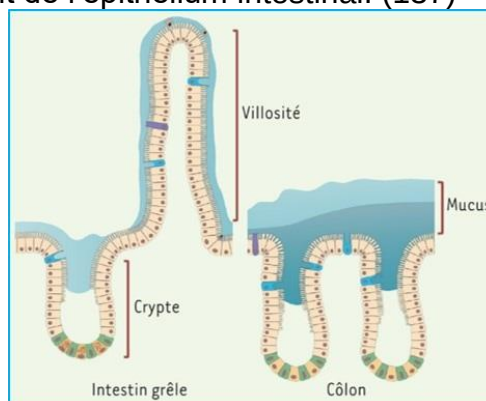


Schéma de l'épithélium intestinal, tiré de l'Institut de Recherche en Santé Digestive (138)

DAPI : 4',6-diamidino-2-phénylindole. Colorant de l'ADN de couleur bleu, utilisé dans la microscopie à fluorescence (méthode FISH*). Il se lie fortement aux bases adénine et thymine de l'ADN. (139)

De novo : Une synthèse *de novo* est une synthèse d'une molécule réalisée par l'assemblage de ses composants séparés (par exemple l'assemblage des acides aminés lors de la synthèse d'une protéine), et non à partir d'une autre molécule déjà pré-existante.

Diversité alpha : Intra-échantillon. La diversité alpha est une mesure du nombre d'espèces présentes dans un habitat uniforme de taille fixe à un temps donné. Les indices d'alpha-diversité (Shannon*, Simpson) sont intrinsèques à chaque échantillon. Plus les indices augmentent, plus la diversité est forte. (140)

Diversité bêta : Inter-échantillon. La diversité bêta est le taux de remplacement des espèces dans un gradient spatial environnemental au sein d'une zone géographique donnée. Plus simplement, c'est la comparaison d'échantillons entre eux. L'indice de dissimilarité de Bray-Curtis est un indice de beta diversité. (140)

⇒ Par exemple, une diversité alpha élevée et une diversité bêta faible signifie que l'écosystème est riche (beaucoup d'espèces différentes), mais qu'il est stable entre les individus.

Dysbiose : Modification et déséquilibre dans la composition du microbiote intestinal. (132)

Eubiose : En opposition à la dysbiose*, état d'équilibre de la flore intestinale, microbiote « sain ».

FISH : Hybridation *in situ* fluorescence, ou hybridation fluorescente *in situ*. C'est une technique de cytogénétique, permettant de visualiser en microscopie en fluorescence, du matériel génétique spécifique. Cette méthode utilise des « sondes » fluorescentes qui vont se lier sur les zones chromosomiques d'intérêt (par complémentarité de séquences) afin de les détecter. (141)

Hématochézie : Extériorisation de sang rouge (non digéré) par l'anus. (142)

Index de diversité de Shannon : Indice qui permet de mesurer la diversité spécifique d'un milieu, le nombre d'espèces ainsi que leur équitabilité

Immunoglobulines A : Anticorps retrouvés majoritairement dans les sécrétions des muqueuses. Elles sont dimériques et sont composées de deux molécules d'immunoglobulines liées par leur partie constante de la chaîne H.

Inflammasome : Complexe protéique détectant les pathogènes et les signaux de dangers endogènes, induisant une inflammation via la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. (80)

Interleukines : Abrégé en « IL », ce sont des cytokines (médiateurs chimiques) produites par les cellules immunitaires. Elles peuvent être pro-inflammatoires ou bien anti-inflammatoires afin de réguler le système immunitaire.

Jonctions serrées : Jonction entre deux cellules permettant une étanchéité totale.

LT helper : Lymphocyte T helper, ou bien auxiliaire qui activent d'autres types de cellules. Ces lymphocytes n'agissent pas directement sur l'antigène.

LT reg : Lymphocyte T régulateur, lymphocyte inhibant les autres lymphocytes T (LT effecteurs), ils participent ainsi à la tolérance immunitaire*.

Metabarcoding : Utilisation du séquençage du métagénome afin d'identifier les espèces présentes dans un échantillon donné, via la détection de marqueurs génétiques (appelés aussi « barcodes » ou « codes-barres ADN »). Ces « codes-barres » sont des séquences variables entre espèces mais conservées au sein d'une même espèce. (143)

Métabolome : Ensemble des métabolites retrouvés dans une cellule ou un tissu donné.

Microscopie :

- **Optique** : C'est le type de microscopie le plus « classique » et connu. Un faisceau lumineux traverse l'échantillon à observer, ainsi qu'une lentille permettant d'agrandir l'image de l'objet à observer.
- **En contraste de phase** : Permet d'observer des objets transparents, sans coloration. C'est une microscopie optique*. L'onde lumineuse, en traversant l'objet observé, subit des changements de phase (elle est légèrement ralentie), ce qui est traduit en contraste observable. (144)
- **Electronique en transmission** : Technique de microscopie où un faisceau d'électrons traverse l'échantillon. Les électrons sont soit transmis, soit diffusés, soit absorbés. Les électrons transmis sont analysés puis traduits en une image (145)

OTU : Unité taxonomique opérationnelle, cela définit le regroupement d'individus phylogénétiquement proches

Pathobionte : Symbionte normalement inoffensif pour l'hôte, mais qui sous certaines conditions a le potentiel de causer une inflammation menant à la pathologie (80)

Pathogénicité : Trait qualitatif faisant référence à la capacité d'un microorganisme à être délétère pour l'hôte et causer une pathologie (80)

PCR en temps réel : Réaction en chaîne par polymérase en temps réel, permet de suivre le progrès de la PCR tout au long de sa réaction et non seulement qu'à la fin. (146)

Phénotype : Le phénotype est l'ensemble des caractères observables d'un organisme, en opposition au **génotype** qui est le patrimoine génétique d'un organisme. Le phénotype résulte de l'expression du génotype.

Probiotique et prébiotique : Les probiotiques sont des souches microbiennes (bactéries ou levures) vivantes, ayant un effet bénéfique sur le microbiote en l'enrichissant, alors que les prébiotiques sont des nutriments permettant la croissance des bactéries du microbiote.

PRR : Pattern Recognition receptor, ou bien Récepteurs de Reconnaissance de motifs moléculaires. Récepteurs du système immunitaire inné reconnaissant les PAMPs (ou Pathogen Associated Molecular Pattern) présents sur les micro-organismes, et dont l'activation entraîne l'activation de l'immunité innée (41)

RegIIIy : Protéine antimicrobienne sécrétée par les cellules de Paneth, petite bactéricide ciblant les bactéries Gram positives. (147)

Syndrome du côlon irritable : Appelé aussi syndrome de l'intestin irritable, c'est une affection bénigne évoluant par poussées. Il se traduit par des douleurs abdominales, des diarrhées et/ou de la constipation, ainsi que des ballonnements. L'étiologie de ce syndrome n'est pas connue. (148)

Syndrome métabolique : Le syndrome métabolique est une association de plusieurs troubles métaboliques chez une même personne : obésité, hypertriglycémie, baisse du HDL cholestérol, hypertension artérielle, intolérance au glucose. (149)

Th1 / Th2 / Th17 (Réponse immunitaire) : Les réponses immunitaires ont différentes caractéristiques, en fonction des interleukines dont elles entraînent la production par les lymphocytes. Par exemple, la réponse Th1 est une réponse intervenant dans les réactions de type cellulaire, tandis que la Th2 intervient dans les réponses de type humorale (150).

TLR = Toll-Like Receptors : Récepteurs cellulaires de l'immunité innée, ils font partie de la famille des PRR.

Tolérance immunitaire : La tolérance immunitaire est la capacité du système immunitaire à « accepter » certains antigènes, sans que leur reconnaissance mène à une réaction immunitaire. (151)

Turnover cellulaire : Renouvellement cellulaire

Virulence : Trait quantitatif faisant référence au degré de pathologie causé par un microorganisme. (80)

VI- Bibliographie

1. Microbiote intestinal (flore intestinale) [Internet]. Inserm - La science pour la santé. [cité 6 nov 2020]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>
2. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*. 1 juin 2017;474(11):1823-36.
3. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis* [Internet]. 2 févr 2015 [cité 13 nov 2020];26(0). Disponible sur: <http://www.microbecolhealthdis.net/index.php/mehd/article/view/26050>
4. Bergstrom A, Skov TH, Bahl MI, Roager HM, Christensen LB, Ejlerskov KT, et al. Establishment of Intestinal Microbiota during Early Life: a Longitudinal, Explorative Study of a Large Cohort of Danish Infants. *Appl Environ Microbiol*. 1 mai 2014;80(9):2889-900.
5. Yu ZT, Chen C, Kling DE, Liu B, McCoy JM, Merighi M, et al. The principal fucosylated oligosaccharides of human milk exhibit prebiotic properties on cultured infant microbiota. *Glycobiology*. févr 2013;23(2):169-77.
6. Derrien M, van Baarlen P, Hooiveld G, Norin E, Muller M, de Vos W. Modulation of Mucosal Immune Response, Tolerance, and Proliferation in Mice Colonized by the Mucin-Degrader *Akkermansia muciniphila*. *Front Microbiol* [Internet]. 2011 [cité 2 févr 2021];2. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2011.00166/full>
7. Nagel R, Traub RJ, Allcock RJN, Kwan MMS, Bielefeldt-Ohmann H. Comparison of faecal microbiota in Blastocystis-positive and Blastocystis-negative irritable bowel syndrome patients. *Microbiome*. 31 août 2016;4(1):47.
8. Macpherson AJ, McCoy KD. Stratification and compartmentalisation of immunoglobulin responses to commensal intestinal microbes. *Semin Immunol*. nov 2013;25(5):358-63.
9. Sartor RB. Microbial Influences in Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 1 févr 2008;134(2):577-94.
10. Tailford LE, Crost EH, Kavanaugh D, Juge N. Mucin glycan foraging in the human gut microbiome. *Front Genet* [Internet]. 19 mars 2015 [cité 6 nov 2020];6. Disponible sur: <http://www.frontiersin.org/Nutrigenomics/10.3389/fgene.2015.00081/abstract>
11. Johansson MEV, Larsson JMH, Hansson GC. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions. *Proc Natl Acad Sci*. 15 mars 2011;108(Supplement_1):4659-65.
12. Li H, Limenitakis JP, Fuhrer T, Geuking MB, Lawson MA, Wyss M, et al. The outer mucus layer hosts a distinct intestinal microbial niche. *Nat Commun*. 22 sept 2015;6(1):8292.

13. MetaHIT [Internet]. Gut Microbiota for Health. 2012 [cité 3 août 2022]. Disponible sur: <https://www.gutmicrobiotaforhealth.com/metahit/>
14. CEA. METAHIT, microbiome de l'intestin humain [Internet]. CEA/Institut de biologie François Jacob. CEA; 2018 [cité 3 août 2022]. Disponible sur: <https://www.cea.fr/drf/ifrancoisjacob/Pages/Departements/Genoscope/Les-projets-de-Genoscope/METAHIT.aspx>
15. Metagenomics of the Human Intestinal Tract | METAHIT Project | Fact Sheet | FP7 | CORDIS | European Commission [Internet]. [cité 3 août 2022]. Disponible sur: <https://cordis.europa.eu/project/id/201052/fr>
16. CEA. Une approche révolutionnaire pour l'étude du microbiote intestinal [Internet]. CEA/De la recherche à l'industrie. CEA; 2014 [cité 4 août 2022]. Disponible sur: <https://www.cea.fr/Pages/actualites/sante-sciences-du-vivant/approche-revolutionnaire-etude-microbiote-intestinal.aspx>
17. NIH Human Microbiome Project - Home [Internet]. [cité 6 août 2022]. Disponible sur: <https://hmpdacc.org/hmp/>
18. NIH Human Microbiome Project - Home [Internet]. [cité 6 août 2022]. Disponible sur: <https://hmpdacc.org/ihmp/>
19. Proctor LM, Creasy HH, Fettweis JM, Lloyd-Price J, Mahurkar A, Zhou W, et al. The Integrative Human Microbiome Project. *Nature*. mai 2019;569(7758):641-8.
20. Welcome to The iHMP Data Portal | HMP [Internet]. [cité 6 août 2022]. Disponible sur: <https://portal.hmpdacc.org/>
21. Lukeš J, Stensvold CR, Jirků-Pomajbíková K, Wegener Parfrey L. Are Human Intestinal Eukaryotes Beneficial or Commensals? Knoll LJ, éditeur. *PLOS Pathog*. 13 août 2015;11(8):e1005039.
22. Rajilić-Stojanović M, de Vos WM. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. *FEMS Microbiol Rev*. sept 2014;38(5):996-1047.
23. Tito RY, Chaffron S, Caenepeel C, Lima-Mendez G, Wang J, Vieira-Silva S, et al. Population-level analysis of *Blastocystis* subtype prevalence and variation in the human gut microbiota. *Gut*. juill 2019;68(7):1180-9.
24. Chabé M, Lokmer A, Ségurel L. Gut Protozoa: Friends or Foes of the Human Gut Microbiota? *Trends Parasitol*. déc 2017;33(12):925-34.
25. Laforest-Lapointe I, Arrieta MC. Microbial Eukaryotes: a Missing Link in Gut Microbiome Studies. *mSystems*. 13 mars 2018;3(2):e00201-17.
26. Parfrey LW, Walters WA, Lauber CL, Clemente JC, Berg-Lyons D, Teiling C, et al. Communities of microbial eukaryotes in the mammalian gut within the context of environmental eukaryotic diversity. *Front Microbiol*. 19 juin 2014;5:298.
27. Stensvold CR, van der Giezen M. Associations between Gut Microbiota and Common Luminal Intestinal Parasites. *Trends Parasitol*. mai 2018;34(5):369-77.
28. Lokmer A, Cian A, Froment A, Gantois N, Viscogliosi E, Chabé M, et al. Use of shotgun metagenomics for the identification of protozoa in the gut microbiota of

healthy individuals from worldwide populations with various industrialization levels. PLOS ONE. 6 févr 2019;14(2):e0211139.

29. Jeffery IB, Cotter PD, Scanlan PD. Collateral Damage in the Human Gut Microbiome - Blastocystis Is Significantly Less Prevalent in an Antibiotic-Treated Adult Population Compared to Non-Antibiotic Treated Controls. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:822475.
30. Mosca A, Leclerc M, Hugot JP. Gut Microbiota Diversity and Human Diseases: Should We Reintroduce Key Predators in Our Ecosystem? *Front Microbiol.* 2016;7:455.
31. Hevia A, Delgado S, Sánchez B, Margolles A. Molecular Players Involved in the Interaction Between Beneficial Bacteria and the Immune System. *Front Microbiol* [Internet]. 2015 [cité 5 févr 2021];6. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.01285/full>
32. LeBlanc JG, Milani C, de Giori GS, Sesma F, van Sinderen D, Ventura M. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Curr Opin Biotechnol.* avr 2013;24(2):160-8.
33. Natividad JMM, Verdu EF. Modulation of intestinal barrier by intestinal microbiota: Pathological and therapeutic implications. *Pharmacol Res.* mars 2013;69(1):42-51.
34. Derrien M, Belzer C, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microb Pathog.* mai 2017;106:171-81.
35. Reunanen J, Kainulainen V, Huuskonen L, Ottman N, Belzer C, Huhtinen H, et al. *Akkermansia muciniphila* Adheres to Enterocytes and Strengthens the Integrity of the Epithelial Cell Layer. Goodrich-Blair H, éditeur. *Appl Environ Microbiol.* 1 juin 2015;81(11):3655-62.
36. Louis P, Flint HJ. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environ Microbiol.* 2017;19(1):29-41.
37. Byrne CS, Chambers ES, Alhabeeb H, Chhina N, Morrison DJ, Preston T, et al. Increased colonic propionate reduces anticipatory reward responses in the human striatum to high-energy foods. *Am J Clin Nutr.* 1 juill 2016;104(1):5-14.
38. Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes.* 3 mai 2016;7(3):189-200.
39. Corrêa-Oliveira R, Fachi JL, Vieira A, Sato FT, Vinolo MAR. Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clin Transl Immunol.* 22 avr 2016;5(4):e73.
40. Chambers ES, Morrison DJ, Frost G. Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? *Proc Nutr Soc.* août 2015;74(3):328-36.
41. Brubaker SW, Bonham KS, Zanoni I, Kagan JC. Innate Immune Pattern Recognition: A Cell Biological Perspective. *Annu Rev Immunol.* 21 mars 2015;33(1):257-90.

42. Batlle E, Massagué J. Transforming Growth Factor- β Signaling in Immunity and Cancer. *Immunity*. avr 2019;50(4):924-40.
43. Sarabayrouse G, Bossard C, Chauvin JM, Jarry A, Meurette G, Quévrain E, et al. CD4CD8 $\alpha\alpha$ Lymphocytes, A Novel Human Regulatory T Cell Subset Induced by Colonic Bacteria and Deficient in Patients with Inflammatory Bowel Disease. Marrack P, éditeur. *PLoS Biol*. 8 avr 2014;12(4):e1001833.
44. Quévrain E, Maubert MA, Michon C, Chain F, Marquant R, Tailhades J, et al. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut*. mars 2016;65(3):415-25.
45. Une nouvelle molécule anti-inflammatoire provenant d'une bactérie de l'intestin [Internet]. Salle de presse | Inserm. 2015 [cité 14 janv 2021]. Disponible sur: <https://presse.inserm.fr/une-nouvelle-molecule-anti-inflammatoire-provenant-dune-bacterie-de-lintestin/19520/>
46. Jotereau F. Unité Inserm 892 « Centre régional de recherche en cancérologie-Nantes-Angers » (Inserm / CNRS / Université de Nantes / Université d'Angers) Equipe- « Les glycoconjugués dans les réponses immunes ». :2.
47. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature*. 8 août 2013;500(7461):232-6.
48. Sanjabi S, Oh SA, Li MO. Regulation of the Immune Response by TGF- β : From Conception to Autoimmunity and Infection. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. juin 2017;9(6):a022236.
49. Ihara S, Hirata Y, Koike K. TGF- β in inflammatory bowel disease: a key regulator of immune cells, epithelium, and the intestinal microbiota. *J Gastroenterol*. 1 juill 2017;52(7):777-87.
50. Rogier E, Frantz A, Bruno M, Kaetzel C. Secretory IgA is Concentrated in the Outer Layer of Colonic Mucus along with Gut Bacteria. *Pathogens*. 29 avr 2014;3(2):390-403.
51. Rios D, Wood MB, Li J, Chassaing B, Gewirtz AT, Williams IR. Antigen sampling by intestinal M cells is the principal pathway initiating mucosal IgA production to commensal enteric bacteria. *Mucosal Immunol*. juill 2016;9(4):907-16.
52. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med*. 27 avr 2016;8(1):51.
53. Guinane CM, Cotter PD. Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. *Ther Adv Gastroenterol*. juill 2013;6(4):295-308.
54. The Blastocystis Investigation Group, Audebert C, Even G, Cian A, Loywick A, Merlin S, et al. Colonization with the enteric protozoa Blastocystis is associated with increased diversity of human gut bacterial microbiota. *Sci Rep*. mai 2016;6(1):25255.

55. Winter SE, Bäumler AJ. Why related bacterial species bloom simultaneously in the gut: principles underlying the 'Like will to like' concept: Principles of 'Like will to like'. *Cell Microbiol.* févr 2014;16(2):179-84.
56. Yañez CM, Hernández AM, Sandoval AM, Domínguez MAM, Muñiz SAZ, Gómez JOG. Prevalence of Blastocystis and its association with Firmicutes/Bacteroidetes ratio in clinically healthy and metabolically ill subjects. *BMC Microbiol.* 11 déc 2021;21(1):339.
57. Dao MC, Everard A, Aron-Wisnewsky J, Sokolovska N, Prifti E, Verger EO, et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut.* mars 2016;65(3):426-36.
58. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature.* août 2013;500(7464):541-6.
59. Naseer MI, Bibi F, Alqahtani MH, Chaudhary AG, Azhar EI, Kamal MA, et al. Role of gut microbiota in obesity, type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* mars 2014;13(2):305-11.
60. Rajca S, Grondin V, Louis E, Vernier-Massouille G, Grimaud JC, Bouhnik Y, et al. Alterations in the Intestinal Microbiome (Dysbiosis) as a Predictor of Relapse After Infliximab Withdrawal in Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20(6):9.
61. Pistollato F, Sumalla Cano S, Elio I, Masias Vergara M, Giampieri F, Battino M. Role of gut microbiota and nutrients in amyloid formation and pathogenesis of Alzheimer disease. *Nutr Rev.* oct 2016;74(10):624-34.
62. Horta-Baas G, Romero-Figueroa M del S, Montiel-Jarquín AJ, Pizano-Zárate ML, García-Mena J, Ramírez-Durán N. Intestinal Dysbiosis and Rheumatoid Arthritis: A Link between Gut Microbiota and the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *J Immunol Res.* 2017;2017:1-13.
63. Yin J, Liao S, He Y, Wang S, Xia G, Liu F, et al. Dysbiosis of Gut Microbiota With Reduced Trimethylamine-N-Oxide Level in Patients With Large-Artery Atherosclerotic Stroke or Transient Ischemic Attack. *J Am Heart Assoc [Internet].* 29 oct 2015 [cité 24 mars 2021];4(11). Disponible sur: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/JAHA.115.002699>
64. Anahtar MN, Bowman BA, Kwon DS. Efficient Nucleic Acid Extraction and 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Community Characterization. *JoVE J Vis Exp.* 14 avr 2016;(110):e53939.
65. Johnson JS, Spakowicz DJ, Hong BY, Petersen LM, Demkowicz P, Chen L, et al. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nat Commun.* déc 2019;10(1):5029.
66. Shahi SK, Zarei K, Guseva NV, Mangalam AK. Microbiota Analysis Using Two-step PCR and Next-generation 16S rRNA Gene Sequencing. *J Vis Exp.* 15 oct 2019;(152):59980.

67. Lamoril J, Ameziane N, Deybach JC, Bouizegarène P, Bogard M. Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie. Immuno-Anal Biol Spéc. 1 oct 2008;23(5):260-79.
68. Shotgun Sequencing [Internet]. Genome.gov. [cité 8 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Shotgun-Sequencing>
69. Shotgun Metagenomic Sequencing [Internet]. [cité 8 avr 2022]. Disponible sur: <https://emea.illumina.com/areas-of-interest/microbiology/microbial-sequencing-methods/shotgun-metagenomic-sequencing.html>
70. Introduction [L'arbre cladistique du vivant - Module TEST] [Internet]. [cité 23 nov 2022]. Disponible sur: https://rpn-pharmacie.univ-lille.fr/Parasitologie/Arbre_vivant_Test/co/module_Test_Arbre_vivant_6.html
71. The landscape of eukaryotic microbiota in the gut microbiome and their impact on bacterial communities and host health | cettesemaine.utoronto.ca [Internet]. [cité 17 oct 2022]. Disponible sur: <http://cettesemaine.utoronto.ca/?q=node/4357>
72. Partida-Rodríguez O, Serrano-Vázquez A, Nieves-Ramírez ME, Moran P, Rojas L, Portillo T, et al. Human Intestinal Microbiota: Interaction Between Parasites and the Host Immune Response. Arch Med Res. nov 2017;48(8):690-700.
73. Iebba V, Santangelo F, Totino V, Pantanella F, Monsia A, Cristanziano VD, et al. Gut microbiota related to *Giardia duodenalis*, *Entamoeba* spp. and *Blastocystis hominis* infections in humans from Côte d'Ivoire. J Infect Dev Ctries. 30 sept 2016;10(09):1035-41.
74. El Moukthar Aliouat. Cours de parasitologie - Les protistes- Faculté de pharmacie de Lille. 2017.
75. Wegener Parfrey L, Walters W, Knight R. Microbial Eukaryotes in the Human Microbiome: Ecology, Evolution, and Future Directions. Front Microbiol [Internet]. 2011 [cité 15 mars 2022];2. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2011.00153>
76. Andersen LO, Stensvold CR. Blastocystis in Health and Disease: Are We Moving from a Clinical to a Public Health Perspective? Kraft CS, éditeur. J Clin Microbiol. mars 2016;54(3):524-8.
77. Andersen LO, Bonde I, Nielsen HB, Stensvold CR. A retrospective metagenomics approach to studying *Blastocystis*. Marchesi J, éditeur. FEMS Microbiol Ecol. juill 2015;91(7):1-9.
78. Scanlan PD, Stensvold CR, Rajilić-Stojanović M, Heilig HGHJ, De Vos WM, O'Toole PW, et al. The microbial eukaryote *Blastocystis* is a prevalent and diverse member of the healthy human gut microbiota. FEMS Microbiol Ecol. oct 2014;90(1):326-30.
79. Méthot PO, Alizon S. What is a pathogen? Toward a process view of host-parasite interactions. Virulence. 29 oct 2014;5(8):775-85.
80. Leung JM, Graham AL, Knowles SCL. Parasite-Microbiota Interactions With the Vertebrate Gut: Synthesis Through an Ecological Lens. Front Microbiol [Internet].

81. Nieves-Ramírez ME, Partida-Rodríguez O, Laforest-Lapointe I, Reynolds LA, Brown EM, Valdez-Salazar A, et al. Asymptomatic Intestinal Colonization with Protist *Blastocystis* Is Strongly Associated with Distinct Microbiome Ecological Patterns. *Lozupone C, éditeur. mSystems*. 26 juin 2018;3(3):e00007-18, /msystems/3/3/msys.00007-18.atom.
82. Kodio A, Coulibaly D, Koné AK, Konaté S, Doumbo S, Guindo A, et al. Blastocystis Colonization Is Associated with Increased Diversity and Altered Gut Bacterial Communities in Healthy Malian Children. *Microorganisms*. 4 déc 2019;7(12):649.
83. Chudnovskiy A, Mortha A, Kana V, Kennard A, Ramirez JD, Rahman A, et al. Host-protozoan interactions protect from mucosal infections through activation of the inflammasome. *Cell*. 6 oct 2016;167(2):444-456.e14.
84. Poirier P. Le parasite intestinal Blastocystis : épidémiologie et importance clinique. *MISE AU POINT*. :5.
85. Betts EL, Newton JM, Thompson GS, Sarzhanov F, Jinatham V, Kim MJ, et al. Metabolic Fluctuations in the Human Stool Obtained from Blastocystis Carriers and Non-Carriers. *Metabolites*. 17 déc 2021;11(12):883.
86. Beghini F, Pasolli E, Truong TD, Putignani L, Cacciò SM, Segata N. Large-scale comparative metagenomics of Blastocystis, a common member of the human gut microbiome. *ISME J*. déc 2017;11(12):2848-63.
87. Meloni D, Sanciu G, Poirier P, El Alaoui H, Chabé M, Delhaes L, et al. Molecular subtyping of Blastocystis sp. isolates from symptomatic patients in Italy. *Parasitol Res*. sept 2011;109(3):613-9.
88. Forsell J, Bengtsson-Palme J, Angelin M, Johansson A, Evengård B, Granlund M. The relation between Blastocystis and the intestinal microbiota in Swedish travellers. *BMC Microbiol*. 11 déc 2017;17:231.
89. Ajjampur SSR, Tan KSW. Pathogenic mechanisms in Blastocystis spp. - Interpreting results from in vitro and in vivo studies. *Parasitol Int*. déc 2016;65(6 Pt B):772-9.
90. Lynch KM. Dauercystformation of Trichomonas intestinalis. *J Parasitol*. 1916;3(1):28-33.
91. Stensvold CR, Tan KSW, Clark CG. Blastocystis. *Trends Parasitol*. mars 2020;36(3):315-6.
92. Khaled S, Gantois N, Ly AT, Senghor S, Even G, Dautel E, et al. Prevalence and Subtype Distribution of Blastocystis sp. in Senegalese School Children. *Microorganisms*. 12 sept 2020;8(9):1408.
93. Khaled S, Gantois N, Ayoubi A, Even G, Sawant M, El Houmayraa J, et al. Blastocystis sp. Prevalence and Subtypes Distribution amongst Syrian Refugee Communities Living in North Lebanon. *Microorganisms*. 16 janv 2021;9(1):184.

94. Guilavogui T, Gantois N, Even G, Desramaut J, Dautel E, Denoyelle C, et al. Detection, Molecular Identification and Transmission of the Intestinal Protozoa *Blastocystis* sp. in Guinea from a Large-Scale Epidemiological Study Conducted in the Conakry Area. *Microorganisms*. 15 févr 2022;10(2):446.
95. Vargas-Sanchez GB, Romero-Valdovinos M, Ramirez-Guerrero C, Vargas-Hernandez I, Ramirez-Miranda ME, Martinez-Ocaña J, et al. *Blastocystis* Isolates from Patients with Irritable Bowel Syndrome and from Asymptomatic Carriers Exhibit Similar Parasitological Loads, but Significantly Different Generation Times and Genetic Variability across Multiple Subtypes. Escobar-Gutiérrez A, éditeur. *PLOS ONE*. 29 avr 2015;10(4):e0124006.
96. CDC - DPDx - *Blastocystis hominis* [Internet]. 2019 [cité 2 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/dpdx/blastocystis/index.html>
97. Pérez MR, Yáñez CM, Hernández AM, Sustaita JJD, Jiménez EG, Andrade MR, et al. *Blastocystis* infection frequency and subtype distribution in university students. *Heliyon*. déc 2020;6(12):e05729.
- et al. Tan KSW. New Insights on Classification, Identification, and Clinical Relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev*. oct 2008;21(4):639-65.
99. Suresh K, Venilla GD, Tan TC, Rohela M. In vivo encystation of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res*. 1 mai 2009;104(6):1373-80.
100. Caudet J, Trelis M, Cifre S, Soriano JM, Merino-Torres JF. Presence and significance of intestinal unicellular parasites in a morbidly obese population. *Int J Obes*. janv 2022;46(1):220-7.
101. Even G, Lokmer A, Rodrigues J, Audebert C, Viscogliosi E, Ségurel L, et al. Changes in the Human Gut Microbiota Associated With Colonization by *Blastocystis* sp. and *Entamoeba* spp. in Non-Industrialized Populations. *Front Cell Infect Microbiol*. 18 mars 2021;11:533528.
102. Cian A, El Safadi D, Osman M, Moriniere R, Gantois N, Benamrouz-Vanneste S, et al. Molecular Epidemiology of *Blastocystis* sp. in Various Animal Groups from Two French Zoos and Evaluation of Potential Zoonotic Risk. *PloS One*. 2017;12(1):e0169659.
103. Greige S, El Safadi D, Bécu N, Gantois N, Pereira B, Chabé M, et al. Prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. isolates from poultry in Lebanon and evidence of zoonotic potential. *Parasit Vectors*. 4 juill 2018;11(1):389.
104. Salvador F, Lobo B, Goterris L, Alonso-Cotoner C, Santos J, Sulleiro E, et al. *Blastocystis* sp. Carriage and Irritable Bowel Syndrome: Is the Association Already Established? *Biology*. 19 avr 2021;10(4):340.
105. Hernández PC, Morales L, Chaparro-Olaya J, de Avila J, Bautista-Molano W, Bello-Gualtero J, et al. Frequency and distribution of *Blastocystis* sp. subtypes in patients with spondyloarthritis in Bogotá, Colombia. *Parasite Epidemiol Control*. 6 oct 2021;15:e00227.
106. Greige S, El Safadi D, Khaled S, Gantois N, Baydoun M, Chemaly M, et al. First report on the prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. in dairy cattle

- in Lebanon and assessment of zoonotic transmission. *Acta Trop.* 1 juin 2019;194:23-9.
107. Olyaiee A, Sadeghi A, Yadegar A, Mirsamadi ES, Mirjalali H. Gut Microbiota Shifting in Irritable Bowel Syndrome: The Mysterious Role of *Blastocystis* sp. *Front Med.* 20 juin 2022;9:890127.
 108. Bálint A, Dóczy I, Bereczki L, Gyulai R, Szűcs M, Farkas K, et al. Do not forget the stool examination!—cutaneous and gastrointestinal manifestations of *Blastocystis* sp. infection. *Parasitol Res.* avr 2014;113(4):1585-90.
 109. Peña S, Carrasco G, Rojas P, Castillo D, Ozaki LS, Mercado R. Determination of subtypes of *Blastocystis* sp. in Chilean patients with and without inflammatory bowel syndrome, A preliminary report. *Parasite Epidemiol Control.* 1 févr 2020;8:e00125.
 110. Yason JA, Liang YR, Png CW, Zhang Y, Tan KSW. Interactions between a pathogenic *Blastocystis* subtype and gut microbiota: in vitro and in vivo studies. *Microbiome.* déc 2019;7(1):30.
 111. Krogsgaard LR, Engsbro AL, Stensvold CR, Nielsen HV, Bytzer P. The Prevalence of Intestinal Parasites Is Not Greater Among Individuals With Irritable Bowel Syndrome: A Population-based Case-control Study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* mars 2015;13(3):507-513.e2.
 112. Schwartz M. Chapitre 3 – Les postulats de Koch [Internet]. La causalité dans les sciences biologiques et médicales. EDP Sciences; 2021 [cité 29 juill 2021]. Disponible sur: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1051/978-2-7598-2046-7.c005/html>
 113. Zeller G, Tap J, Voigt AY, Sunagawa S, Kultima JR, Costea PI, et al. Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Mol Syst Biol.* nov 2014;10(11):766.
 114. Singh M, Suresh K, Ho LC, Ng GC, Yap EH. Elucidation of the life cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 1995;81(5):446-50.
 115. Lanuza MD, Carbajal JA, Villar J, Borrás R. Description of an improved method for *Blastocystis hominis* culture and axenization. *Parasitol Res.* 1997;83(1):60-3.
 116. Tan TC, Suresh KG. Predominance of amoeboid forms of *Blastocystis hominis* in isolates from symptomatic patients. *Parasitol Res.* févr 2006;98(3):189-93.
 117. Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, et al. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis.* août 2009;15(8):1183-9.
 118. Stensvold CR, Sørland BA, Berg RPKD, Andersen LO, van der Giezen M, Bowtell JL, et al. Stool Microbiota Diversity Analysis of *Blastocystis*-Positive and *Blastocystis*-Negative Individuals. *Microorganisms.* 31 janv 2022;10(2):326.
 119. Chandramathi S, Suresh K, Sivanandam S, Kuppusamy UR. Stress Exacerbates Infectivity and Pathogenicity of *Blastocystis hominis*: In Vitro and In Vivo Evidences. *Blader IJ, éditeur. PLoS ONE.* 2 mai 2014;9(5):e94567.

120. Scanlan PD, Stensvold CR. Blastocystis: getting to grips with our guileful guest. *Trends Parasitol.* 1 nov 2013;29(11):523-9.
121. Hussein EM, Hussein AM, Eida MM, Atwa MM. Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimentally infected rats. *Parasitol Res.* avr 2008;102(5):853-60.
122. Feranmi F. Blastocystis subtype 4 linked to gut microbiota stability. *Lancet Microbe.* 1 août 2022;3(8):e564.
123. Asghari A, Sadeghipour Z, Hassanipour S, Abbasali Z, Ebrahimzadeh-Parikhani H, Hashemzaei M, et al. Association between *Blastocystis* sp. infection and immunocompromised patients: a systematic review and meta-analysis. *Environ Sci Pollut Res Int.* nov 2021;28(43):60308-28.
124. Taghipour A, Rayatdoost E, Bairami A, Bahadory S, Abdoli A. Are *Blastocystis hominis* and *Cryptosporidium* spp. playing a positive role in colorectal cancer risk? A systematic review and meta-analysis. *Infect Agent Cancer.* 17 juin 2022;17:32.
125. Billy V, Lhotská Z, Jirků M, Kadlecová O, Frgelecová L, Parfrey LW, et al. *Blastocystis* Colonization Alters the Gut Microbiome and, in Some Cases, Promotes Faster Recovery From Induced Colitis. *Front Microbiol.* 7 avr 2021;12:641483.
126. Poirier P, Wawrzyniak I, Vivarès CP, Delbac F, El Alaoui H. New Insights into *Blastocystis* spp.: A Potential Link with Irritable Bowel Syndrome. *PLoS Pathog.* 15 mars 2012;8(3):e1002545.
127. Bosch S, Struys EA, van Gaal N, Bakkali A, Jansen EW, Diederens K, et al. Fecal Amino Acid Analysis Can Discriminate De Novo Treatment-Naïve Pediatric Inflammatory Bowel Disease From Controls. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* mai 2018;66(5):773-8.
128. Marchesi JR, Holmes E, Khan F, Kochhar S, Scanlan P, Shanahan F, et al. Rapid and Noninvasive Metabonomic Characterization of Inflammatory Bowel Disease. *J Proteome Res.* 1 févr 2007;6(2):546-51.
129. Yildiz S, Doğan İ, Doğruman-Aİ F, Nalbantoğlu U, Üstek D, Sarzhanov F, et al. Association of Enteric Protist *Blastocystis* spp. and Gut Microbiota with Hepatic Encephalopathy. *J Gastrointest Liver Dis.* 1 déc 2016;25(4):489-97.
130. Rai R, Saraswat VA, Dhiman RK. Gut microbiota: its role in hepatic encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol.* mars 2015;5(Suppl 1):S29-36.
131. Garcovich M, Zocco MA, Roccarina D, Ponziani FR, Gasbarrini A. Prevention and treatment of hepatic encephalopathy: Focusing on gut microbiota. *World J Gastroenterol WJG.* 14 déc 2012;18(46):6693-700.
132. Magne F, Gotteland M, Gauthier L, Zazueta A, Pesoa S, Navarrete P, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients? *Nutrients.* 19 mai 2020;12(5):1474.
133. Morton ER, Lynch J, Froment A, Lafosse S, Heyer E, Przeworski M, et al. Variation in Rural African Gut Microbiota Is Strongly Correlated with Colonization

- by Entamoeba and Subsistence. Benson A, éditeur. PLOS Genet. 30 nov 2015;11(11):e1005658.
134. Hooper LV, Stappenbeck TS, Hong CV, Gordon JI. Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. Nat Immunol. mars 2003;4(3):269-73.
 135. Monier B, Gettings M, Gay G, Mangeat T, Schott S, Guarner A, et al. Le dernier sursaut des cellules mourantes - Étape clé de la morphogenèse tissulaire. médecine/sciences. 1 mai 2015;31(5):475-7.
 136. Larousse É. Définitions : chimiotaxie - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [cité 20 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/chimiotaxie/15353>
 137. Joubert D, Hollande F, Jay P, Legraverend C. Les cellules souches intestinales - 30 ans d'une histoire exemplaire. médecine/sciences. 1 mai 2009;25(5):441-4.
 138. cellules souches intestinales [Internet]. IRSD. [cité 20 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.irsd.fr/cellules-souches-intestinales.html>
 139. Dichlorhydrate de Diamidino-4',6-phénylindole-2 (DAPI) 10 mg/mL dans l'eau utilisé en coloration nucléaire [Internet]. VWR. [cité 17 oct 2022]. Disponible sur: <https://fr.vwr.com/store/product/25961416/dichlorhydrate-de-diamidino-4-6-phenylindole-2-dapi-10-mg-ml-dans-l-eau-utilise-en-coloration-nucleaire>
 140. Héry-Arnaud G. Microbiome, Virome et Mycobiome. 2016;36.
 141. FISH [Internet]. [cité 17 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.sysmex.fr/produits/oncologie/fish.html>
 142. Becq A. L'hémorragie digestive basse : doit-on toujours hospitaliser ? Presse Médicale Form. 1 nov 2021;2(5):482-90.
 143. Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Gielly L, Miquel C, Valentini A, et al. Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. Nucleic Acids Res. 26 janv 2007;35(3):e14-e14.
 144. Phase Contrast Microscopy - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. [cité 21 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect-com.ressources-electroniques.univ-lille.fr/topics/neuroscience/phase-contrast-microscopy>
 145. MET [Internet]. Microscopie électronique et analytique. [cité 20 sept 2022]. Disponible sur: <https://mea.edu.umontpellier.fr/met/>
 146. Essentiels de la PCR en temps réel | Thermo Fisher Scientific - FR [Internet]. [cité 20 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.thermofisher.com/fr/fr/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/real-time-pcr-basics/essentials-real-time-pcr.html>
 147. Vaishnava S, Yamamoto M, Severson KM, Ruhn KA, Yu X, Koren O, et al. The antibacterial lectin RegIII γ promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine. Science. 14 oct 2011;334(6053):255-8.

148. Syndrome du côlon irritable - symptômes, causes, traitements et prévention [Internet]. VIDAL. [cité 20 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/estomac-intestins/syndrome-colon-irritable.html>
149. Delarue J, Allain G, Guillermin S. Le syndrome métabolique. *Nutr Clin Métabolisme*. 1 juin 2006;20(2):114-7.
150. Levrey H, Mornex JF, Bellon G. Polarisation Th2 de la réaction inflammatoire dans les réactions allergiques chez l'enfant : mécanismes et implications dans le développement de nouvelles thérapeutiques. *Rev Fr Allergol Immunol Clin*. 1 nov 1998;38(9):789-96.
151. Larousse É. tolérance immunitaire ou anergie - LAROUSSE [Internet]. [cité 21 sept 2022]. Disponible sur: https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/tol%C3%A9rance_immunitaire/16608

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2022/2023

Nom : JONQUOIS
Prénom : Gabrielle

Titre de la thèse : Les protozoaires intestinaux : Un effet bénéfique sur le microbiote ? – Zoom sur *Blastocystis* spp.

Mots-clés :
Microbiote intestinal, Parasites intestinaux, Eucaryome, Dysbiose, Protozoaires, *Blastocystis*

Résumé : Le microbiote intestinal humain n'est pas composé que de bactéries, mais aussi, entre autres, d'eucaryotes. *Blastocystis* est un protozoaire intestinal, qui a longtemps été considéré comme un organisme pathogène. Néanmoins, de plus en plus d'études tendent à montrer son effet bénéfique à la flore intestinale.

Membres du jury :

Président : Dr CHABÉ Magali, MCU, HDR - Université de Lille

Assesseur(s) : Pr FOLIGNÉ Benoit, PhD, HDR, PU - Université de Lille

Membre(s) extérieur(s) : Dr VIGIER Patrice, Docteur en Pharmacie – Marquette-lez-Lille