

- aux États-Unis par les Instituts américains de la santé (NIH). Il aura fallu attendre l'application aux pathologies respiratoires chroniques d'une nouvelle technique d'analyse des flores microbiennes, la métagénomique, pour qu'en 2010 on admette enfin que le signal microbien détecté dans les voies aériennes inférieures de sujets témoins n'était pas une contamination ou une infection, mais bel et bien un microbiote pulmonaire. Depuis, même peu nombreuses (du fait de la difficulté d'accès à l'organe), les études menées en situation physiologique s'accordent toutes sur l'existence d'un microbiote pulmonaire commensal. Ainsi, la vision binaire opposant stérilité et pathogénicité a peu à peu cédé devant celle d'un microbiote pulmonaire qui jouerait un rôle dans la santé.

UN SAVANT ASSEMBLAGE

La mise en place du microbiote pulmonaire est très rapide comparée à celle de son homologue intestinal. On a coutume de dire que tout se joue avant l'âge de 2 à 3 ans pour ce dernier; pour le pulmonaire, c'est en semaines qu'il faut compter. En à peine 2 mois de vie, il a achevé sa maturation. Pendant cette période, l'environnement dans lequel grandit l'enfant serait déterminant pour son développement.

Des communautés microbiennes sont détectées dans la cavité orale et le nasopharynx dans les 5 minutes qui suivent la naissance et dans les poumons dès 24 heures. Le microbiote pulmonaire néonatal provient principalement de la mère. Ce «kit de démarrage» maternel est généralement constitué de bactéries d'origines vaginale, anorectale et cutanée, et diffère selon le mode d'accouchement.

Dès les trois premiers jours de vie, trois profils de microbiote, ou «pulmotypes» se distinguent. Le premier, diversifié et stable, est composé de *Neisseria*, *Streptococcus* et de bactéries anaérobies (*Prevotella*, *Veillonella*, *Fusobacterium* et *Porphyromonas*) et associé à une naissance à terme par voie basse. Les deux autres concernent les prématurés, l'un caractérisé par *Ureaplasma* chez les enfants nés par voie basse et l'autre dominé par *Staphylococcus* en cas de césarienne. Ces deux derniers pulmotypes sont temporaires.

Chez les grands prématurés atteints de bronchodysplasie (une anomalie du développement de l'appareil pulmonaire), on retrouve à l'âge adulte une dysbiose pulmonaire avec une nette diminution de l'abondance relative de *Prevotella*. Le lien entre le développement précoce du microbiote respiratoire et la santé respiratoire ultérieure a été démontré par plusieurs études, et confirme que les périodes péri- et néonatale sont cruciales pour la maturation microbienne pulmonaire.

Une fois en place, le microbiote pulmonaire présente des caractéristiques uniques. D'abord,

la niche microbienne est complexe ne serait-ce que par l'anatomie du poumon et la surface du tractus respiratoire (de 60 à 80 mètres carrés). Qui plus est, les sources microbiennes qui alimentent cette niche sont multiples: le réservoir buccodentaire en premier lieu, le tube digestif et l'air inhalé qui peut contenir à lui seul jusqu'à 100000 bactéries par litre.

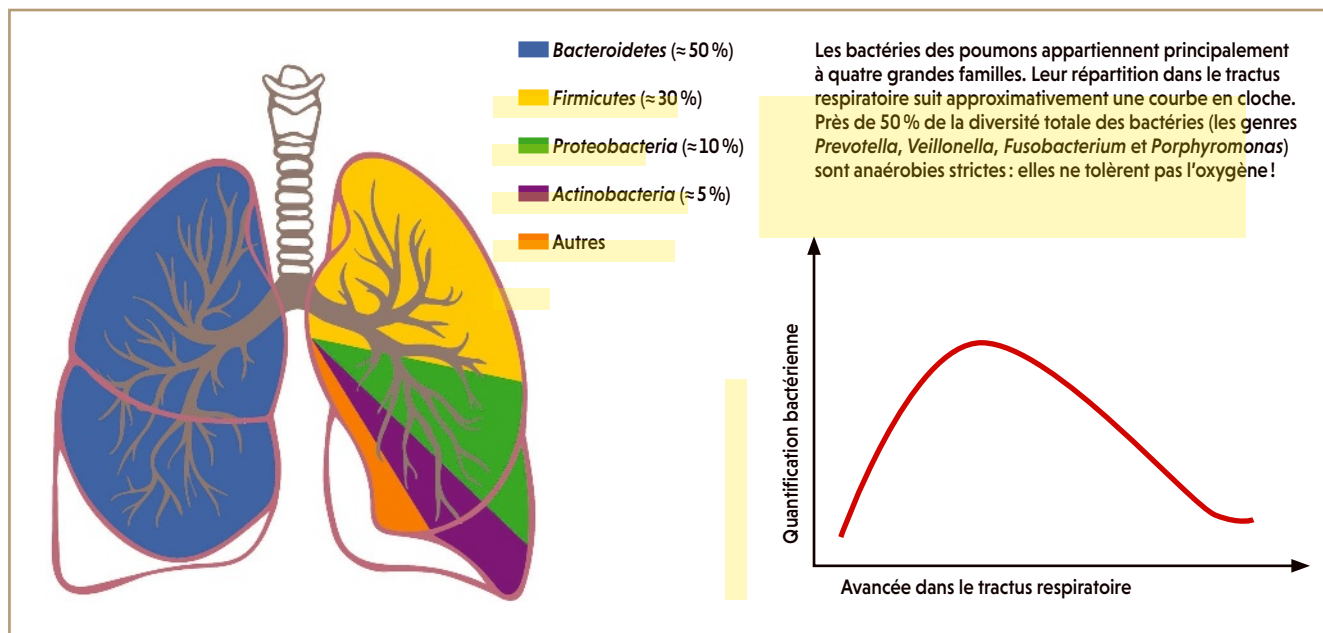
Ensuite, la composition du microbiote pulmonaire est notablement dynamique tout au long de la vie. Il est la résultante d'une balance entre apport (inhalation, microaspiration, dispersion à partir de la muqueuse oropharyngée...) et élimination (ascenseur mucociliaire et toux, sélection d'origine immunitaire ou du fait des facteurs abiotiques locaux, compétition entre microorganismes...).

Autre particularité, la densité microbienne est faible. Elle serait de l'ordre de 10^5 bactéries par millilitre de liquide bronchoalvéolaire chez l'adulte. Par comparaison, on compte 10^{11} à 10^{12} bactéries par millilitre dans le colon, soit une densité bactérienne de 1 à 10 millions de fois supérieure à celle du poumon. Aussi, l'analyse du microbiote pulmonaire par les techniques moléculaires hautement sensibles nécessite-t-elle une attention particulière aux risques de contamination et justifie l'ajout systématique de témoins négatifs afin de traquer le bruit de fond. Toutefois, si la richesse du microbiote pulmonaire est en quantité inférieure à celle du microbiote intestinal, sa diversité est bien supérieure, notamment en raison des multiples sources qui l'alimentent. Ceci pourrait expliquer sa capacité de résilience importante.

OXYGÈNE INTERDIT DANS LE POUMON

La caractéristique qui frappe peut-être le plus pour le microbiote d'un organe dédié à l'oxygénation, est la forte proportion de bactéries «qui détestent l'oxygène», c'est-à-dire anaérobies strictes. Elles constituent près de 50% de la diversité bactérienne totale avec les genres *Prevotella*, *Veillonella*, *Fusobacterium* ou *Porphyromonas*, qui constituent une sorte de «cœur anaérobie» au sein du microbiote pulmonaire. Ces bactéries anaérobies vont produire différents métabolites (sphingolipides, acides gras à chaîne courte et molécules du quorum-sensing, qui est le mode de communication des bactéries) qui jouent un rôle important dans la physiopathologie pulmonaire. Leur présence paradoxale s'explique notamment par l'anatomie du poumon qui regorge de galeries (bronches et bronchioles) et de culs-de-sac (sacs alvéolaires) propices à la formation de poches d'anaérobiose. La notion de biogéographie microbienne est ici fondamentale.

À côté de ces bactéries anaérobies, toutes les branches du monde microbien sont représentées dans l'écosystème pulmonaire. Il a ainsi été



rapporté une colonisation par des microchampignons nommés «micromycètes» (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Saccharomyces*...) et des levures. Des virus de toutes sortes ont également été repérés en grande quantité. Enfin, la présence d'Archées, la 3^e branche du vivant avec les eucaryotes et les procaryotes est aussi suspectée.

Bien que ces microorganismes prennent pleinement part au microbiote pulmonaire, peu de données sont disponibles. Avec le développement des méthodes métagénomiques dites «shotgun», qui consistent à analyser tous les fragments ADN présents dans un échantillon et non ceux d'un seul type, les connaissances sur la présence, les interactions et le rôle de ces autres microorganismes devraient s'étendre à court terme, en particulier dans le contexte actuel de la pandémie de Covid-19, qui a accéléré la constitution de collections d'échantillons respiratoires. Néanmoins, on dispose déjà de plusieurs informations importantes sur les fonctions du microbiote pulmonaire.

PROTECTION DU POUMON

À cause de la difficulté d'accès au tréfonds des poumons d'un humain, les données accumulées proviennent essentiellement d'expérimentations animales. Ainsi, chez les souris axéniques (dépourvues de microbes), des modifications anatomiques ont été observées, en particulier une plus grande finesse des parois alvéolaire et capillaire. Après instillation

de bactéries dans les poumons, ces souris ont gagné en surface d'échanges avec des alvéoles plus petites, mais plus nombreuses.

Outre ce rôle dans l'architecture pulmonaire, le microbiote protégerait également les poumons contre les infections, soit directement par des interactions microbe-microbe, soit indirectement par le biais du système immunitaire à l'éducation duquel il participe. De fait, les souris axéniques sont plus sensibles aux infections pulmonaires, mais y sont moins vulnérables après avoir récupéré un microbiote avant l'infection. Le microbiote pulmonaire et ses métabolites, en particulier les acides gras à chaîne courte comme l'acétate, influencent la réponse immunitaire anti-infectieuse locale de l'hôte *via* plusieurs mécanismes qui stimulent l'activité bactéricide des macrophages alvéolaires, l'afflux local des polynucléaires neutrophiles également bactéricides et la production d'interféron β par les cellules épithéliales protégeant ainsi l'épithélium respiratoire contre les virus respiratoires. Le lien entre microbiote pulmonaire et immunité innée a aussi été démontré de la façon suivante : une souris saine développe une hyperinflammation pulmonaire dès lors qu'elle a reçu par simple instillation nasale du microbiote pulmonaire d'une souris souffrant de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO).

Comment le microbiote pulmonaire contribue-t-il à l'éducation du système immunitaire ? Les données épidémiologiques >

LA CARACTÉRISTIQUE QUI FRAPPE PEUT-ÊTRE LE PLUS POUR LE MICROBIOTE PULMONAIRE EST LA FORTE PROPORTION DE BACTÉRIES « QUI DÉTESTENT L'OXYGÈNE »

► montrent que la période néonatale est critique. Ainsi, les premières semaines de vie sont comme un embranchement ferroviaire par lequel les facteurs environnementaux peuvent soit placer un individu sur les rails de la santé soit au contraire sur ceux des maladies respiratoires. En effet, c'est à ce moment que le système immunitaire arrive à maturité, et celle du microbiote pulmonaire est un paramètre clé de ce processus.

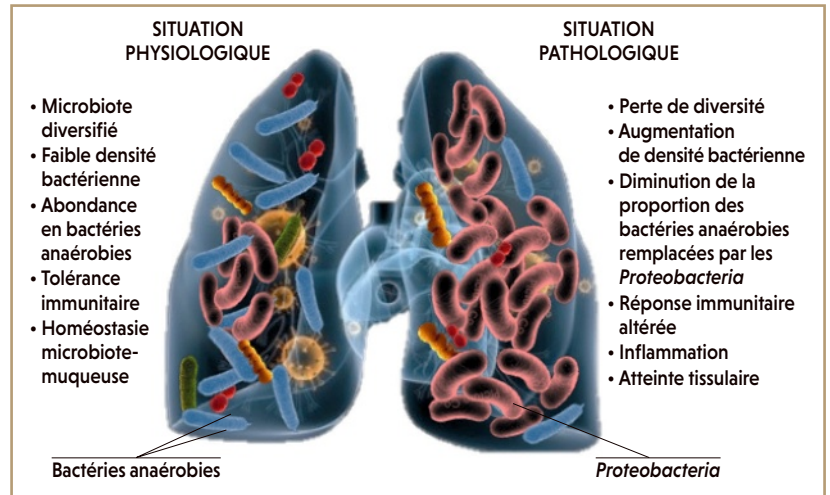
VERS L'ALLERGIE, OU PAS

Une étude réalisée chez les souriceaux montre une transformation du microbiote pulmonaire au cours des deux premières semaines de vie : la charge bactérienne dans les poumons augmente et les grands groupes taxonomiques bactériens voient leurs proportions évoluer en passant d'une prédominance des *Proteobacteria* et *Firmicutes* à celle des *Bacteroidetes*. Chez les souriceaux soumis à des aéroallergènes (des acariens), la réaction allergique (hyperéosinophilie pulmonaire et hyperréactivité des voies respiratoires) est diminuée lors de l'apparition des *Bacteroidetes*. L'apparition de ce groupe de bactéries anaérobies strictes est corrélée à l'émergence de lymphocytes T régulateurs et à l'augmentation de l'expression de PD-L1. Cette protéine de la surface des macrophages reconnaît un récepteur, le PD1, et module ainsi l'activité des cellules du système immunitaire. Ce couple PD-L1/PD1, dérégulé dans le cas de certains cancers, est la cible de certaines immunothérapies.

L'absence de colonisation bactérienne ou le blocage du PD-L1 pendant les deux premières semaines de vie maintient une réactivité exagérée aux allergènes jusqu'à l'âge adulte. Ainsi, la formation et la maturation du microbiote des voies respiratoires induit celle des cellules régulatrices au début de la vie. Une perturbation de ce système entraîne une sensibilité durable à l'inflammation allergique des voies respiratoires à l'âge adulte.

De tels liens ont pour conséquence un rôle central du microbiote des poumons dans les maladies touchant ces organes à commencer par les maladies respiratoires chroniques. Celles-ci concerneraient plus de 300 millions de personnes dans le monde selon l'Organisation mondiale de la santé. Les infections pulmonaires sont également la cause du décès de 15% des enfants de moins de 5 ans selon des données de 2019 de l'Unicef et de la Banque mondiale. Devant ces chiffres, le rôle du microbiote, qui est un facteur clé de l'homéostasie pulmonaire, a été décrypté dans plusieurs maladies, en particulier les maladies chroniques à composante inflammatoire et infectieuse comme l'asthme, la BPCO et la mucoviscidose.

Toutes ces pathologies, bien que différentes dans leur symptomatologie et leur étiologie, ont



Plusieurs maladies comme l'asthme, la BPCO, la mucoviscidose, les infections pulmonaires, le cancer... sont associées à des perturbations (à droite) du microbiote pulmonaire sain (à gauche).

en commun d'avoir l'interaction hôte-microbiote-environnement au cœur de leur physiopathologie. De manière remarquable, ces pathologies ont un élément commun : la dysbiose pulmonaire (voir la figure ci-dessus). Ce déséquilibre se traduit le plus souvent par une augmentation des *Proteobacteria* (*Haemophilus*, *Branhamella*/ *Moraxella*, *Pseudomonas*) au détriment des bactéries anaérobies *Bacteroidetes* (*Prevotella*, *Veillonella*, *Porphyromonas*) et certaines *Firmicutes*, dont l'importance dans la fonction respiratoire est là encore soulignée.

LES DESSOUS DE L'ASTHME

Prenons l'asthme, l'exemple type de la maladie multifactorielle où les interactions hôte-microbiote-environnement entrent en jeu. Des études épidémiologiques ont démontré le lien entre l'environnement où grandit l'enfant, la colonisation microbienne pulmonaire et le risque asthmatique. Ainsi les enfants grandissant dans un milieu urbain et exposés à un environnement très aseptisé la première année de vie seraient plus à risque de développer un asthme allergique. Cette hypothèse dite «hygiéniste» a été développée à la faveur de la comparaison de populations aux modes de vie opposés comme les Allemands de l'Est et de l'Ouest avant la chute du mur de Berlin. On a également observé que les infections virales de la petite enfance, notamment les bronchiolites à rhinovirus, favorisent le développement de l'asthme sur un terrain pré-disposé. Par quel mécanisme ? Les infections virales en perturbant l'interface hôte-microbiote, favoriseraient la colonisation précoce de l'oropharynx par des bactéries pathogènes respiratoires (des pneumocoques en particulier) qui modifieraient la réponse inflammatoire locale favorisant la survenue de l'asthme.

Les maladies non chroniques, comme les infections pulmonaires, ont aussi à voir avec le microbiote. Qu'elles soient bactériennes ou virales, elles seraient favorisées par des altérations du microbiote des voies respiratoires