



HAL
open science

Microbiotes, poumon et aménagement des interfaces. Nouveaux regards sur l'immunologie, et peut-être sur l'homme ?

Gilles Renier, Caroline Poli, Céline Beauvillain, Alain Chevailler

► To cite this version:

Gilles Renier, Caroline Poli, Céline Beauvillain, Alain Chevailler. Microbiotes, poumon et aménagement des interfaces. Nouveaux regards sur l'immunologie, et peut-être sur l'homme ?. Revue Franco-phonie des Laboratoires, 2016. inserm-02912607

HAL Id: inserm-02912607

<https://inserm.hal.science/inserm-02912607>

Submitted on 6 Aug 2020

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

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

Microbiotes, poumon et aménagement des interfaces. Nouveaux regards sur l'immunologie, et peut-être sur l'homme ?

Gilles Renier^{a,b}, Caroline Poli^{a,c}, Céline Beauvillain^{a,c}, Alain Chevallier^{a,c}

RÉSUMÉ

S'intéresser au monde des microbiotes suppose d'abord d'essayer de discerner les limites et difficultés des méthodes en permettant l'étude. Au niveau pulmonaire, le microbiote semble être chez le sujet sain une expansion essentiellement bronchique de celui de l'oropharynx, cantonnée par l'épuration muco-ciliaire et la pauvreté des ressources disponibles localement. Les circonstances pathologiques agiront en favorisant une expansion plus ou moins globale et/ou une modification de sa répartition pouvant aller jusqu'à une perte de sa diversité. La pauvreté naturelle de ce microbiote nous incite, d'une part, à reconsidérer l'organisation de nos sociétés, inadaptée par sa concentration des individus; et d'autre part, pour l'immunologiste, l'incite à reconsidérer l'aménagement des interfaces de notre organisme avec son environnement et à repenser le système immunitaire, et l'enseignement de la discipline, en ouvrant peut-être ainsi une nouvelle période dans l'histoire de la discipline.

Interfaces - microbiotes - muqueuses - poumon.

1. Introduction

Que peut-on apporter à des allergologues qui vous interrogent sur « poumon et microbiote » (réunion de la SAICO du 4 décembre 2014) lorsque l'on n'est ni pneumologue, ni microbiologiste, ni spécialiste de l'immunité muqueuse, mais seulement un immunologiste de routine hospitalière ? Probablement d'abord un effort de rigueur pour essayer de décrypter les méthodes et les résultats obtenus, et ensuite sa capacité à répondre à côté de la question posée (ce qui fait partie du métier) et aller explorer ce que cela peut signifier pour la défense des frontières.

a Laboratoire d'Immunologie et d'Allergologie

CHU d'Angers, Angers
Cedex 09, F-49933 France

b Université d'Angers, UPRES EA 3142, Angers, F-49933 France

c Université d'Angers

Inserm, Unit 892, Angers, France

CNRS, Unit 6299, Angers, France

LabEx IGO «Immuno-Graft-Onc», Angers, France

* Correspondance

renigi@chu-angers.fr

article reçu le 15 février 2016, accepté le 6 avril 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Microbiota, lung and interfaces management. New views on Immunology, and may be on humans ?

Taking interest in microbiotas world needs first to deal with methodological limits and pitfalls. In the lung area, microbiota seems an expansion, basically bronchial, of the oropharynx one, and limited by mucociliary clearance and nutrient poverty. Pathological conditions lead to a somewhat global richness increase, and/or composition alterations that can end in a loss of diversity. The natural lowness of this microbiota, first, incites us to rethink our society's organization, inadequate by its individual's concentration; second, incites immunologists to reconsider body interfaces with environment, and to rethink immune system and Immunology teaching, possibly opening in this way a new era in this science story.

interfaces - microbiota - mucosa - lung.

L'approche est alors de se concentrer sur l'organe lui-même et ses particularités, et s'en servir comme d'un fil conducteur. Auparavant réputé stérile, à la lumière d'une microbiologie classique reposant sur des techniques de culture, le poumon ne peut être que propice à nourrir la réflexion. D'abord sur les nouvelles méthodologies, et en particulier leurs limites et difficultés, puisqu'elles conditionnent entièrement l'idée que l'on peut se faire de la réalité à partir des résultats obtenus. Ensuite seulement viennent les questions sur la connaissance et ses conséquences: existe-t-il un microbiote pulmonaire? Quelle est sa composition? Comment se constitue-t-il? À partir de quel moment? Quel est son rôle et en quoi cela peut-il modifier notre regard sur l'aménagement des frontières de notre organisme? Et donc sur le Système Immunitaire, voire sur l'homme? Ceci impose de replacer l'émergence de ces nouvelles données en perspective entre Immunologie et Microbiologie.

2. Une histoire de méthodes

2.1. Microbiologie et immunologie, des jumelles en regard des agents infectieux.

On peut probablement considérer que, même si elles plongent leurs racines dans la nuit des temps, la Microbiologie et l'Immunologie naissent véritablement à l'époque

de Louis Pasteur : pressentie de très longue date comme le montrent les masques utilisés par les médecins du Moyen-Âge lors des « pestes », c'est-à-dire des épidémies, la notion de germes devient alors palpable ; et leur culture permet leur atténuation pour en faire un outil de vaccination. Le constat d'immunité (du latin « *immunitas* » : exemption) face à la maladie infectieuse ouvre ainsi la porte à la manipulation et à l'analyse des moyens de la protection, ce qui conduit à la description du système immunitaire et de ses rôles ; l'Immunologie est née. Et parallèlement, la Microbiologie se développe autour de l'identification d'espèces cultivables en pathologie. De cette orientation initiale vers les maladies infectieuses, notamment humaines, a résulté une image éminemment négative des bactéries et des micro-organismes en général, dont témoigne la stérilisation à tous crins. Cependant, il n'est peut-être pas anodin de constater qu'en se centrant sur la description et l'étude des micro-organismes, la microbiologie s'est aussi trouvée secondairement en position d'ouverture sur le monde, et en particulier, sur l'écologie microbienne de l'environnement avec toute sa diversité ; pour en retour aujourd'hui s'affronter à l'écologie des territoires de l'organisme humain, avec des approches similaires. La notion de « flores commensales » qui sous-tend déjà une notion de bonne entente, va laisser la place au « microbiote », collection des espèces microbiennes (bactéries, virus, champignons...) présentes dans un environnement. Le terme « microbiome » est aussi utilisé, mais d'une façon hétérogène rendant sa définition délicate, floue et ambiguë ; la plus neutre serait probablement : ensemble du microbiote pris avec ses produits et son environnement [1].

En se centrant à l'inverse sur la description et l'étude des réactions de protection de l'hôte, en confrontant ses propres données avec chaque domaine de la pathologie notamment humaine, l'Immunologie a gardé cette démarche initiale d'essayer de relier causes et conséquences pour en manipuler la séquence. Ce faisant, son champ d'étude a débordé de la protection vis-à-vis des agressions extérieures pour prendre en compte la gestion de l'organisme lui-même et de ses déchets. Un bon exemple de cela est de voir l'auto-immunité s'inviter au sein des déficits immunitaires, pourtant définis autour de l'infection [2, 3]. Parallèlement, et au même titre que la médecine interne et l'allergologie, elle s'est placée en superposition avec l'ensemble des autres disciplines médicales, en apportant son propre point de vue en contrepoint de celui des « spécialités » organisées autour de la logique propre des organes ou tissus particuliers. Pour progresser, l'Immunologie décortique inlassablement chacune des composantes de nos mécanismes de défense et de régulation, et s'efforce de conceptualiser l'intégration de chacune d'entre elles dans une vision globale et cohérente : le Système Immunitaire. Ce dernier peut ainsi être défini aujourd'hui comme « l'ensemble des moyens et interactions préservant le bon état fonctionnel de l'organisme » ; et une fois encore, il se trouve en superposition avec l'ensemble des composantes de l'organisme. Conformément à la théorie du « soi » et du « non soi » énoncée par Frank Macfarlane Burnet [4], le terme de « flores commensales » convenait bien à l'Immunologiste puisqu'il marque qu'elles appartiennent à « l'autre extrahumain », qui certes « mange avec nous » mais relève toujours du « non soi ».

Les progrès dans la connaissance des « microbiotes », viennent aujourd'hui remettre sur le devant de la scène l'étroite parenté entre microbiologie et immunologie. Elle s'impose à nous et interroge sur le bien-fondé des schémas actuels de réorganisations hospitalières, ou de certaines hypothèses saugrenues concernant l'évolution de la formation des biologistes. Et pour l'Immunologiste, avec son besoin d'émettre et examiner des théories pour progresser, ces nouveautés ne peuvent que le conduire à examiner comment elles impactent son regard sur le monde et sur sa discipline. Le poumon apparaît suffisamment vierge de préconceptions pour servir de fil conducteur dans cette optique et le terme de microbiote restitue un statut de neutralité aux mondes microbiens qui vivent avec nous.

2.2. Les prismes du kaléidoscope [1,5,6]

Comme toujours, la connaissance dépend des moyens disponibles et c'est parce qu'il a su construire des « microscopes » capables d'un grossissement approchant les 300 fois et d'une résolution de 1,4 micron que la première description d'une communauté de micro-organismes, notamment au niveau de la plaque dentaire et des selles, revient probablement au drapier hollandais Antoni van Leeuwenhoek, dès 1683 [7]. Puis, à partir du dernier quart du XIX^e siècle, l'essor des méthodes de culture, de coloration et d'analyse du métabolisme permettra la description d'espèces, notamment pathogènes, et leur identification en pratique quotidienne. En dépit des progrès qu'ils pouvaient faire dans ces axes méthodologiques, les microbiologistes mesureront ensuite progressivement les limites inhérentes à ces techniques, que ce soit en pathologie, comme le montre la maladie de Whipple, ou dans l'analyse des « flores commensales ».

L'émergence de la biologie moléculaire est venue apporter de nouvelles approches. Un tournant décisif est ainsi franchi lorsque l'équipe de Carl R. Woese et George E. Fox entreprend la caractérisation de l'ARN 16S ribosomal (ARNr 16S) d'une série d'espèces procaryotes, dont certaines méthanogènes non cultivables, et de l'ARNr 18S d'eucaryotes. Leurs résultats sont conceptuellement révolutionnaires parce qu'ils établissent d'une part une vision phylogénétique du monde vivant procaryote et d'autre part l'individualisation des archées (Archaea) comme un troisième domaine du vivant indépendant, à côté des eubactéries d'une part (au sein des procaryotes), et d'autre part des eucaryotes [8, 9]. Cette approche d'utiliser un séquençage de l'ARN 16S est aussi une révolution méthodologique puisqu'elle va permettre de décrire et classer les espèces en s'affranchissant de la culture. L'ARN 16S en tant que constituant de la petite sous unité des ribosomes qui servent à fabriquer les protéines, est en effet par construction présent dans toute cellule, et caractéristique de celle-ci car non soumis aux échanges génétiques transversaux entre cellules. C'est aussi un « gardien du temps », son gène associant des régions dont les niveaux de diversité sont différents ce qui permet de résoudre diverses échelles de temps évolutifs. Au surplus, ses régions de faible diversité ont permis de développer des amorces de PCR permettant la détection d'à peu près toutes les eubactéries et archées sans se préoccuper de leur culture. Le séquençage du gène de l'ARN ribosomal 16S a ouvert l'accès non seulement à l'étude des micro-

organismes non cultivables mais aussi à l'exploration de l'écologie microbienne. La coexistence de régions conservées, utilisées pour lier les amorces des cycles d'amplification, et de séquences variables, que l'on va séquencer après leur amplification, va permettre en effet d'identifier et de quantifier chacune des diverses variantes de la séquence étudiée que l'on peut observer dans un échantillon. Chacune sera positionnée en fonction de ses similitudes dans l'arborescence taxonomique des espèces, et donc cataloguée dans les bases de données en tant que « *Organising Taxonomic Units* » (OTU); une partie d'entre elles correspondant à des espèces bactériennes déjà connues. Cette méthode profite de ce que l'ARN ribosomal n'est pas 16S mais 18S chez les eucaryotes; mais elle n'apporte guère d'informations fonctionnelles ou sur les micro-organismes non bactériens [1]. Les progrès technologiques, qui se sont accompagnés d'une chute drastique des coûts analytiques, ont finalement permis le développement de nouveaux champs méthodologiques: la « méta-génomique » vise à analyser l'ensemble des génomes présents (qui est là ?), la « méta-transcriptomique » vise à analyser l'ensemble des ARN transcrits présents (qui fait quoi ?), et la « méta-bolomique » et la « méta-protéomique » visent à analyser l'ensemble des produits présents (qu'est-il produit là ?). L'importance potentielle de ces nouveaux champs vient notamment de ce que la présence de l'ADN d'un micro-organisme ne renseigne pas en soi sur sa viabilité. Un exemple de représentation schématique de l'articulation de ces diverses approches peut être trouvé dans la figure présentée dans l'article récemment publié par Chung Owyang [10].

2.3. Les limites du kaléidoscope [1,5,6,11,12]

Il convient de garder en mémoire que l'observation n'est pas directe mais que l'on regarde les choses au travers d'un kaléidoscope de méthodes dont l'usage et les prismes sont confrontés à de nombreuses limites et difficultés (tableau I). Et il est évidemment important d'essayer de les recenser et de les prendre en compte avant de s'intéresser aux résultats. Certaines sont strictement méthodologiques. Elles peuvent porter sur la réalisation du prélèvement ou sur les techniques d'analyse. Dans ces deux cas un risque majeur est celui de la contamination: cellules humaines, souillures microbiennes de laboratoire, etc. Se pose ensuite la question de la qualité de l'extraction de l'ADN, et de son uniformité, les espèces Gram+ et Gram- n'étant pas égales sur ce plan. La méthodologie choisie peut ensuite entraîner également une distorsion dans la représentation relative des diverses espèces. Le séquençage des segments variables V1 à V3 ou V3 à V5 du gène de l'ARNr 16S peut ainsi donner des résultats différents [5]. D'autres sont liées à la masse considérable des données à traiter, avec la nécessité d'algorithmes pour filtrer les données afin d'éliminer le bruit de fond, normaliser les échantillons, définir ce qu'on range dans un même OTU ou rattacher une séquence dans l'arborescence taxonomique. D'où une préoccupation liée aux logiciels et aux bases de données disponibles, ainsi qu'aux outils bio-statistiques utilisables pour calculer diversités et similarités, etc., ou à la façon dont on peut appréhender et présenter les résultats. D'une façon générale, la diversité des méthodes, y compris dans l'analyse statistique et la présentation des résultats, est une

Tableau I – Les difficultés et limites du kaléidoscope.

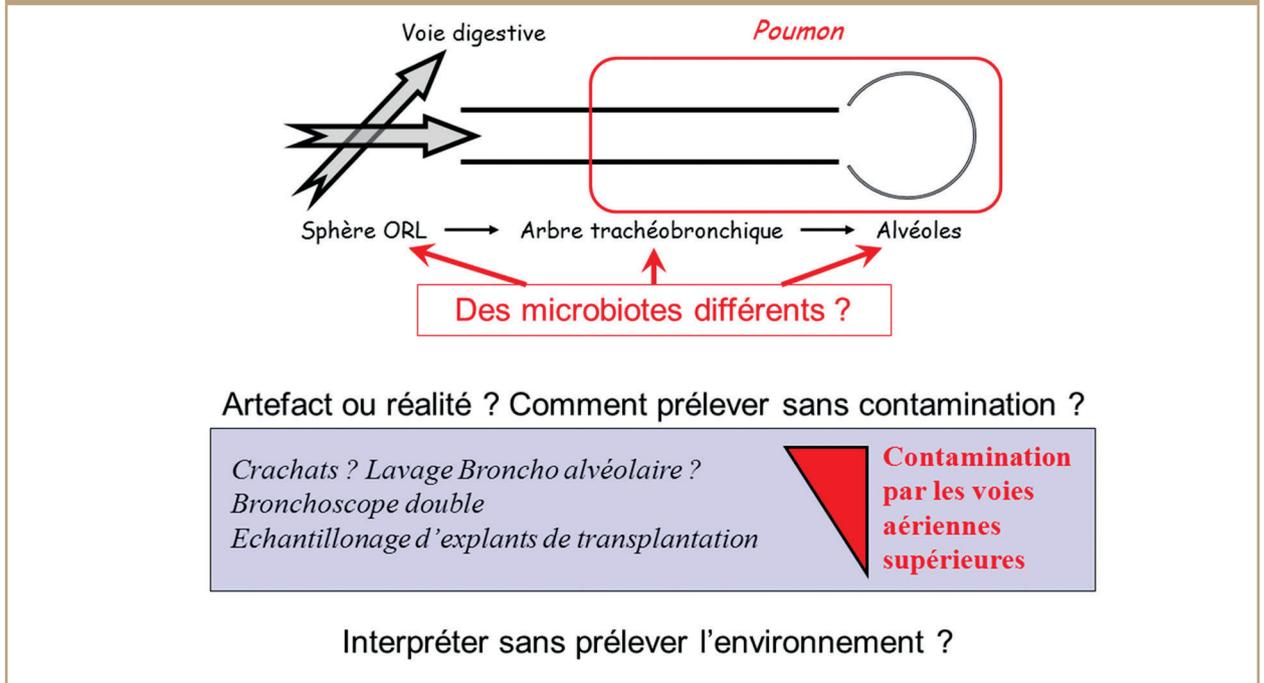
Liées au recueil des données
<ul style="list-style-type: none"> Contaminations : <ul style="list-style-type: none"> - au prélèvement : microbiennes ou liées à l'hôte - au laboratoire Qualité de l'extraction d'ADN / ARN Distorsions méthodologiques de représentation : (le résultat varie avec ce que l'on regarde) Distinguer morts et vivants ?
Liées à la masse des données
<ul style="list-style-type: none"> Dépendance des logiciels et bases de données Difficulté d'intégrer les données des méta...omiques Finesse de l'analyse et lisibilité de sa représentation
Liées à l'interprétation des données
<ul style="list-style-type: none"> Que représente vraiment l'échantillon ? Définir un « normal » collectif ? Réfléchir en communauté microbienne et plus en germe ? Réfléchir en dynamique microbienne ?
Limites inhérentes à la méthodologie
<ul style="list-style-type: none"> Absence de données topographiques précises Nécessité d'approches fonctionnelles expérimentales associées Faiblesse des informations orientées vers les éléments non bactériens

source notable de variabilité expérimentale [5]. Un logiciel ne peut que répercuter dans les résultats produits, les concepts et biais qui ont présidé à sa programmation. La pertinence de l'interprétation pourra également dépendre du niveau de finesse de l'analyse: l'expérience du passé a montré que par exemple le genre *Haemophilus* rassemble des espèces commensales comme *H. haemolyticus* et *H. parainfluenzae* aussi bien que pathogène comme *H. influenzae*; et que de plus la virulence peut varier selon les souches.

Un autre aspect est de changer de point de vue: abandonner un raisonnement centré sur la culture objective de la bactérie potentiellement pathogène pour une lecture s'appuyant sur une représentation relative d'une diversité de microorganismes. A cela s'ajoute, pour le clinicien et les autres biologistes, une difficulté à appréhender ce qu'est réellement une espèce bactérienne dans ce monde fluctuant échangeant des composantes génétiques. Ne pas prendre en compte d'éventuelles composantes virales et eucaryotes (fongique notamment), risque en outre de donner une vision partielle et tronquée de la réalité. Probablement faudra-t-il aussi apprendre à réfléchir en termes de dynamique microbienne: modulation de la virulence, succession séquentielle d'espèces, résistance, résilience... Peut-être le meilleur antibiotique n'est-il pas celui qui détruit le mieux le pathogène, mais celui qui préserve le mieux le microbiote, certaines composantes pouvant mettre des années à se reconstituer ? [13].

Deux ordres d'informations peuvent être obtenus: quantitatives, sur la masse globale des microorganismes, et qualitatives sur leur répartition, la représentation relative de chacun de ceux qui sont présents, ce que l'on peut aborder par une dualité, diversité générale et équilibre *versus* prédominance de certains représentants. La diversité peut être évaluée à l'intérieur d'un même échantillon (diversité alpha) ou comparée entre plusieurs échantillons

Figure 1 – Le poumon: un organe exemplaire des difficultés et interrogations liées au prélèvement dans l'étude des microbiotes.



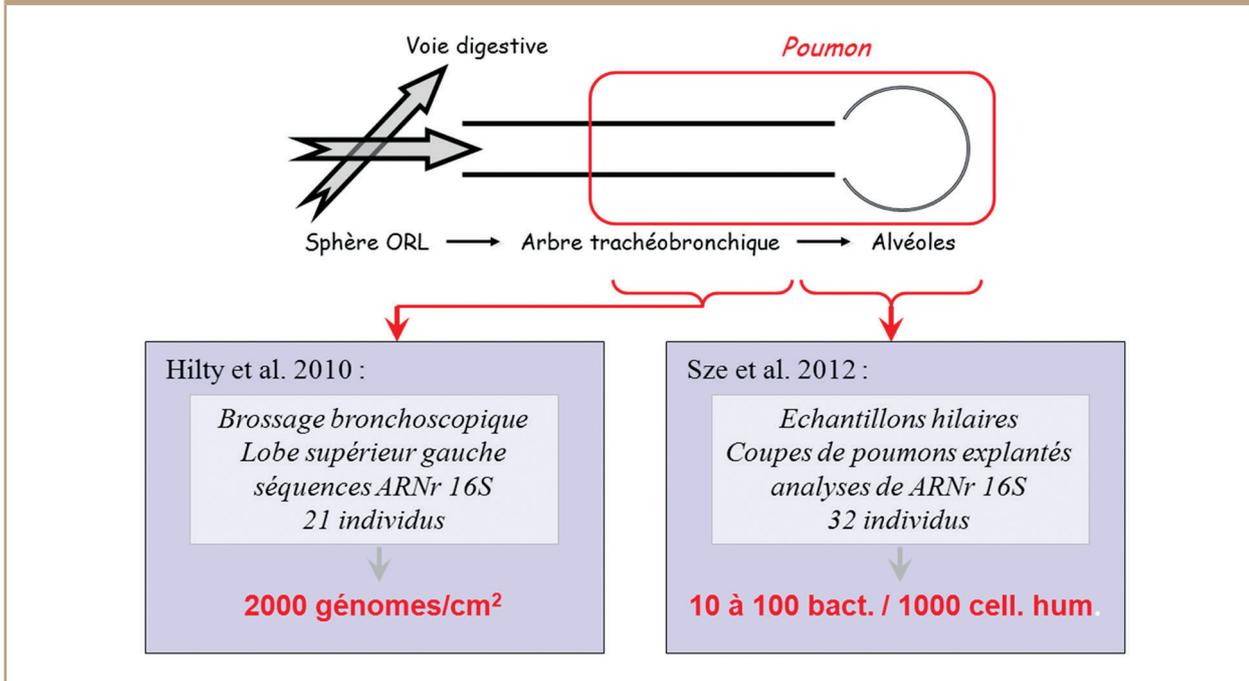
(diversité bêta) [1]. La représentation de ces données de façon compréhensible est complexe, avec un compromis à trouver entre finesse et lisibilité, par exemple dans une arborescence taxonomique. La seconde figure présentée par Morgan et al. [1] en est un bel exemple. Définir ce que pourrait être un microbiote « normal » est également problématique si l'on considère que par exemple au niveau digestif très peu de taxons parmi des milliers seraient partagés par 95 % des individus d'une population [1]. Le poumon (figure 1) est exemplaire de ces difficultés méthodologiques, notamment liées au prélèvement [5] : le cheminement naturel passe en effet par les voies aériennes supérieures, partie prenante de la sphère ORL où elles croisent en particulier la voie digestive, puis par une arborescence trachéo-bronchique se ramifiant jusqu'aux bronchioles, avant d'arriver aux alvéoles. Ce long enchaînement anatomique peut amener à s'interroger sur la possibilité de définir un microbiote pulmonaire comme un concept unique ou au contraire diversifié selon l'étage considéré. Une autre question confronte « artéfact » et « réalité ». Répondre à la question « le poumon est-il stérile, et jusqu'où ? » suppose de déterminer comment obtenir, de façon éthiquement acceptable, un échantillon non contaminé et utilisable. On sait très bien par exemple que les prélèvements de crachats sont contaminés lors de l'expectoration. De même, l'introduction d'un bronchoscope va s'accompagner de l'entraînement d'éléments provenant des voies aériennes supérieures et venant polluer les échantillons de lavage broncho-alvéolaire recueillis ; ceci nécessitera d'être pris en compte et minimisé par une procédure particulière [14]. On peut probablement établir une gradation dans les risques de contamination inhérents à chaque méthode de recueil ; la plus stérile étant probablement l'échantillonnage d'explants de transplantation (laquelle pose d'autres difficultés comme d'accéder à des poumons sains). Un autre écueil, parallèle

au précédent, est la très grande prépondérance quantitative de l'ADN humain dans les biopsies pulmonaires, ce qui rendra difficiles les études métagénomiques [6]. Cette difficulté particulière liée au prélèvement est probablement une des raisons pour lesquelles les premières études du « human microbiome project » ont porté sur des sites plus accessibles : bouche, nez, peau et selles. Une autre interrogation pourrait être de savoir si l'on peut interpréter le microbiote pulmonaire sans prélèvement parallèle de l'environnement : l'abondance bactérienne dans l'air ambiant des grands magasins parisiens n'a évidemment rien à voir avec l'air pur des montagnes ; de même, l'écologie microbienne des poussières diffère selon la présence ou non d'animaux familiers [5].

2.4. Des avancées vers le passé

Dresser des catalogues de germes présents dans un échantillon ne peut naturellement suffire à connaître et comprendre nos microbiotes et leurs interactions avec leur environnement. Cette exploration globale d'un prélèvement explanté ne peut ainsi renseigner sur la localisation précise de ses composantes, et c'est à la microscopie que l'on doit ce constat que certains éléments particuliers s'installent directement au contact de la muqueuse digestive, sous le mucus - qu'en est-il au niveau du poumon ? Des expériences de mutagenèse ont montré que quarante-sept gènes étaient impliqués dans l'implantation de *Lactobacillus casei* [15]. Et de nouvelles méthodologies de culture dédiées, la mise au point d'organoïdes, visent à démêler comment ces espèces particulières s'établissent et fonctionnent au fond de nos cryptes intestinales [16, 17]. Des approches plus classiques gardent ainsi toute leur pertinence et peuvent retrouver une nouvelle jeunesse. Et par ailleurs, depuis de nombreuses années déjà, l'exploration

Figure 2 – Au moins deux études limitant au mieux les risques de contamination montrent que le poumon est un organe doté d'un microbiote d'abondance modeste.



de l'écologie microbienne, notamment du tube digestif, s'appuie également sur des expérimentations avec des animaux qui peuvent être axéniques (« stériles »), holoxéniques (librement exposés) ou gnotoxéniques (hébergeant une flore connue), et qui offrent l'opportunité d'examiner l'impact de l'installation d'un microbiote donné [18].

3. Microbiote et poumon

3.1. Un microbiote pour le poumon ?

Jusqu'à une période récente, la vision commune était que le poumon était stérile. Cependant cette idée est aujourd'hui confrontée aux résultats d'un nombre croissant d'études chez le sujet sain comme dans diverses situations pathologiques. Le sujet est en pleine actualité comme en témoigne le supplément spécial édité par les *Annals of the American Thoracic Society* en 2014 ; la difficulté est de sélectionner les travaux démonstratifs pour lesquels la certitude ou probabilité d'une absence de contamination est la plus élevée possible. Au moins deux études nous semblent pleinement satisfaisantes à cet impératif (**figure 2**) :

- la première [19] étudie les séquences d'ARNr 16S dans des prélèvements obtenus par brossage bronchoscopique du lobe supérieur gauche chez 24 individus : 5 BPCO (Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive), 11 asthmatiques et 8 sujets sains. Elle évalue la densité microbienne à 2000 génomes/cm² ce qui selon les auteurs serait comparable au tiers supérieur de l'intestin.

- plus convaincante encore, la seconde [20] analyse les gènes d'ARNr 16S dans des échantillons prélevés stérilement au niveau du hile (plus riche) de coupes parenchymateuses de 32 poumons explantés de 8 sujets non-fumeurs et 8 fumeurs (pour cancer ou à visée de transplantation sans receveur compatible), 8 BPCO très sévères, 8 muco-

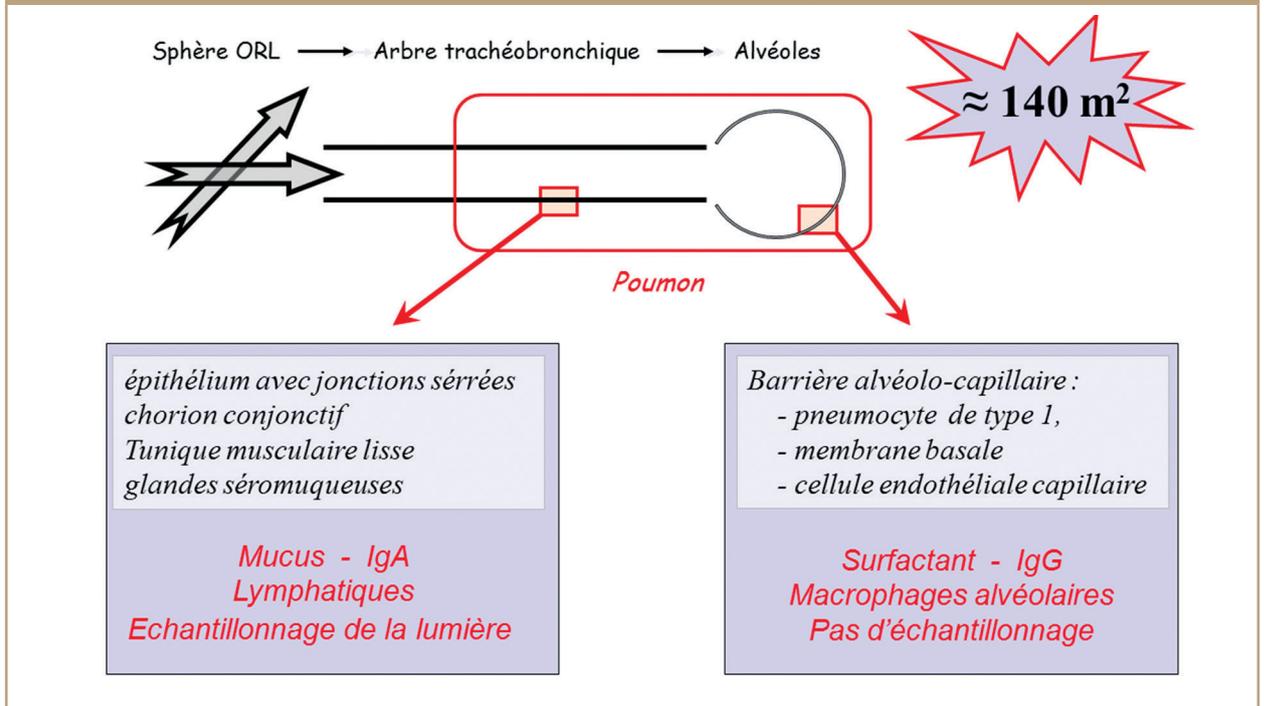
viscidoses très sévères ; 6 échantillons d'eau stérile servant de témoins négatifs. Elle évalue la densité microbienne à 10 à 100 bactéries pour 1 000 cellules humaines ; valeurs proches du seuil de détection de leur méthode.

Ces deux études apportent une preuve convaincante de la présence d'un microbiote pulmonaire ; et avec certitude au niveau de l'arbre bronchique. Les données sont par contre moins convaincantes au niveau des alvéoles puisque ceux-ci prédominent mais ne sont pas la composante exclusive dans les échantillons recueillis par la seconde étude, alors que la première n'évalue pas cette composante anatomique. L'interface pulmonaire de l'organisme renferme en réalité deux variétés structurales et fonctionnelles complètement différentes, avec une zone de transition entre elles (**figure 3**) :

- d'un côté, l'arborescence bronchique, issue d'une évagination antérieure de la voie digestive, partage avec celle-ci une paroi muqueuse épaisse avec production de mucus, présence de structures lymphoïdes et de vaisseaux lymphatiques, et la capacité d'échantillonner les éléments présents dans la lumière. Son rôle d'échange semble limité et concentré vers l'humidification, le réchauffement et le nettoyage de l'air qui y circule.

- de l'autre, la paroi alvéolaire, dédiée aux échanges gazeux apparaît aussi fine que possible et limitée à une structure minimale : cytoplasme des cellules endothéliales, lames basales fusionnées, cytoplasme étalé en voile des pneumocytes de type I, film endo-alvéolaire. Le mucus a laissé la place au surfactant et le système immunitaire résident se résume ici aux macrophages intra alvéolaires. Ce qui n'exclut nullement l'intervention effective des autres acteurs de l'immunité si besoin. Autre différence, les immunoglobulines présentes sont des IgG plutôt que des IgA [21, 22]. L'examen du microbiote pulmonaire peut-il faire totalement l'impasse sur cette dualité qui justifierait probablement une

Figure 3 – Le poumon apparaît comme un organe bipartite avec deux grandes variétés d’interfaces, l’une bronchique, orientée vers la transmission et l’épuration de l’air, et l’autre alvéolaire, adaptée à la diffusion passive des gaz.



évaluation spécifique des alvéoles ? La logique fonctionnelle de l'organe qui est d'assurer des échanges gazeux au travers d'une paroi aussi mince que possible, la présence à demeure des macrophages, cellules dont l'aptitude phagocytaire n'est pas à démontrer, plaident pour une stratégie de maintien de la stérilité des alvéoles.

3.2. Comment peut se constituer le microbiote du poumon ?

Deux études au moins paraissent particulièrement informatives sur la façon dont ce microbiote bronchique pourrait se constituer. La première, déjà citée [19], compare les résultats des brossages bronchoscopiques du lobe supérieur gauche à ceux d'écouillons prélevant d'une part le nez et d'autre part l'oropharynx. Les résultats obtenus font apparaître une similitude de la composition microbienne entre bronches et oropharynx, et une divergence commune avec celle du nez ; ceci suggère une constitution du microbiote bronchique par micro-aspirations à partir de l'oropharynx. La seconde étude [23], compare les séquences d'ARNr 16S dans des prélèvements obtenus de la bouche par gargarisme et du lobe moyen droit et/ou de la lingula par recueil de lavage broncho-alvéolaire chez 45 sujets non-fumeurs et 19 fumeurs. Comme Hilty et al, ils observent une similitude globale, mais aussi une surreprésentation de quelques espèces, notamment *Tropheryma whippelii*, des *Haemophilus* et des *Enterobacteriaceae*. Ceci suggère une influence des conditions locales. À noter que l'étude soigneuse de Warlson retrouve également *Tropheryma whippelii* dans trois échantillons de l'un des six sujets apparemment sains étudiés [14]. Globalement l'idée consensuelle qui se dégage est ainsi

celle d'une constitution du microbiote bronchique à partir de micro-aspirations issues de l'oropharynx et avec une diminution de son abondance au long de l'arbre bronchique. Charlson précise que l'estomac est l'objet d'un essaimage similaire avec cependant une abondance intermédiaire entre oropharynx et poumon [14]. La flore nasale, dont la composition se rapprocherait par ailleurs de celle de la peau, n'apparaît pas intervenir. L'influence du microbiome présent dans l'environnement aérien externe ne paraît pas avoir été évaluée en tant que telle, et semble devoir être également très marginale. Ceci pourrait sembler étonnant si l'on considère la fonction respiratoire de l'organe ; ce l'est peut-être moins si l'on se réfère à son origine évolutive dérivée du tube digestif et à la vocation de l'animal à se déplacer sur de longues distances, et donc dans des contextes aériens pouvant différer.

Reste la possibilité d'une modulation secondaire par effet de niche en fonction du terrain pulmonaire local. Erb-Downward et collaborateurs observent une diversité notable entre les communautés bactériennes d'échantillons provenant de différents sites d'un même poumon explanté d'un patient : ils observent que cette différence est en particulier frappante au niveau du lobe supérieur gauche, ce qu'ils rapprochent du constat clinique que, chez ces patients, l'emphysème débute le plus souvent dans cette région [24]. Il convient de remarquer là que le mode d'échantillonnage est différent de celui des études précédentes, et surtout qu'il s'agit d'un organe provenant d'un patient atteint d'une BPCO sévère et non d'un sujet apparemment sain.

Le second versant de l'interrogation sur la constitution de ce microbiote bronchique concernerait le moment de son apparition. La vision commune que le fœtus était par essence stérile était en harmonie avec une conception

purement pathogénique des micro-organismes, dans laquelle leur présence chez le fœtus aurait été *ipso facto* synonyme d'infection. Cette vision est naturellement remise en cause aujourd'hui : en quoi l'absence totale de microbiotes pourrait-elle être un quelconque avantage à la naissance ? Notamment d'un point de vue anti-infectieux. En réalité, aucun microbiote ne sera a priori mieux adapté à ce qui sera initialement l'entourage immédiat de l'enfant que celui de la mère. Il faut donc considérer qu'un des objectifs de la grossesse est d'assurer la transmission verticale mère-enfant de micro-organismes particuliers sélectionnés. Cet enjeu est a priori universel avec des stratégies diverses selon les espèces. [25]. Existe-t-il un microbiote pulmonaire prénatal ? Il ne semble pas y avoir de données sur le sujet, et la question est probablement anecdotique si l'on considère que sa composition dérive de microaspirations oropharyngées. Au pire, il est facile d'imaginer que l'ouverture des alvéoles pourrait suffire à générer une aspiration suffisante pour tapisser les conduits bronchiques. Ainsi le premier cri du nouveau-né pourrait-il être aussi celui de son microbiote découvrant un nouveau territoire.

3.3. Composition et modélisation du microbiote du poumon

La plupart des études cherchent à comparer l'état des microbiotes dans des situations pathologiques et/ou un tabagisme avéré avec celui de sujets témoins, réputés sains ; avec des résultats qui peuvent différer et ne donnent essentiellement de données que sur la composante

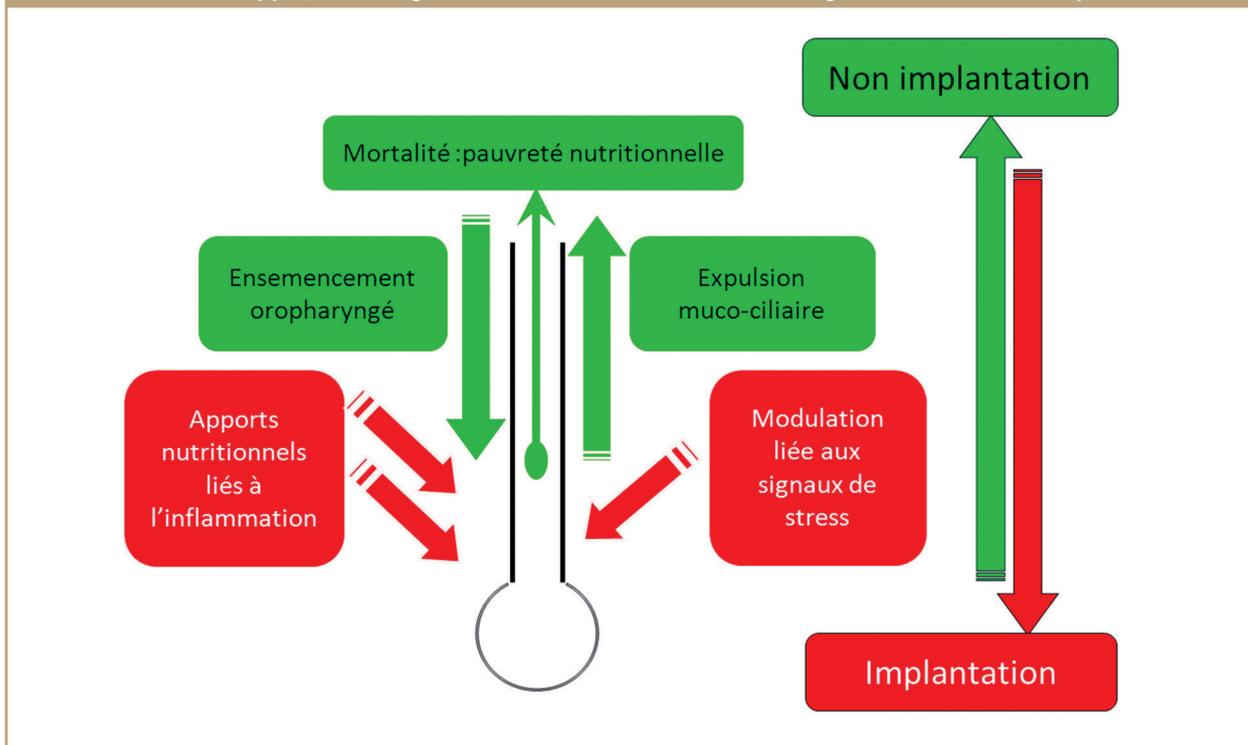
procariotique du microbiote. Les résultats de celle menée par Sze [20] sur des échantillons prélevés stérilement au niveau du hile de 32 poumons peuvent être récapitulés schématiquement comme suit :

- un niveau de diversité globale et d'abondance comparables entre les sujets atteints de BPCO (8 individus), fumeurs (8 individus) et non-fumeurs (8 individus), mais une diversité effondrée et une abondance très augmentée chez les 8 sujets atteints d'une mucoviscidose sévère.
- une composition bactérienne différente entre BPCO d'une part, mucoviscidose d'autre part, et sujets fumeurs et non-fumeurs regroupés ici dans un troisième « cluster ».

Pour l'immunologiste qui s'interroge sur sa discipline, l'élément le plus marquant est sans doute l'extraordinaire degré de la perturbation des populations microbiennes observé dans la mucoviscidose. Elle démontre que la défaillance d'un simple canal ionique, responsable de défauts de fluidité et de clairance muco-ciliaire, conduit à un cercle vicieux d'obstruction, inflammation et infections. Puisque l'objectif est « l'immunitas », cela plaide pour une définition large du système immunitaire, non cantonnée à la description des moyens conventionnels attribués à l'immunité innée et adaptative, mais étendue à l'ensemble des moyens assurant le bon état fonctionnel de l'organisme.

Un effort de modélisation a été récemment publié [26] pour essayer d'expliquer ce qui est observé dans les diverses études réalisées (figure 4). Elle s'appuie sur le constat que de façon consensuelle, le microbiote chez le sujet

Figure 4 – Modélisation de la constitution du microbiote pulmonaire à l'état physiologique (en vert) où il est contenu par la pauvreté du milieu ambiant et l'épuration muco-ciliaire; et de sa modulation par son environnement lors des états pathologiques (en rouge) où les apports nutritionnels vont lui permettre de se développer, et les signaux liés au stress favoriser l'émergence de certaines espèces.



sain reflète essentiellement celui de l'oropharynx et en apparaît une extension se constituant par microaspiration. Elle s'articule autour de trois propositions et distingue la situation chez le sujet sain de celle en cas de pathologie.

* Chez le sujet sain et sans atteinte pulmonaire, le microbiote présent ne traduit qu'un équilibre entre l'arrivée de germes par microaspiration à partir de l'oropharynx et leur disparition locale (mortalité, élimination par le système muco-ciliaire...). Les facteurs locaux sont alors négligeables ou inopérants. La richesse et la composition de la flore dépendent alors essentiellement de la distance du site par rapport à la sphère oropharyngée.

* En cas de pathologie, cet équilibre se trouve rompu et l'écologie microbienne est remodelée par l'irruption de divers facteurs selon deux axes :

- d'une part, l'homéostasie nutritionnelle à l'interface de l'hôte est modifiée. L'absence d'impact local à l'état basal peut s'expliquer en effet par l'extrême pauvreté nutritionnelle de cet environnement, qui s'oppose à la survie ou à la croissance des espèces. Par contre, il a été montré dans un modèle murin que de provoquer l'apparition d'un œdème inflammatoire, notamment alvéolaire, riche en protéines, en enrichissant le milieu, entraînait un accroissement de la masse bactérienne sans diminution de sa diversité globale. De plus le microbiote ainsi obtenu facilitait lui-même une atteinte alvéolaire ; d'où une aptitude à générer un cercle vicieux.

- d'autre part, les signaux de communication émis en cas de stress ne sont pas neutres sur l'écologie bactérienne. Les effets étant variables selon les espèces, ceci conduit à une contraction de la diversité avec émergence d'espèce pathogène dominante ; par exemple, les catécholamines améliorent ainsi la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

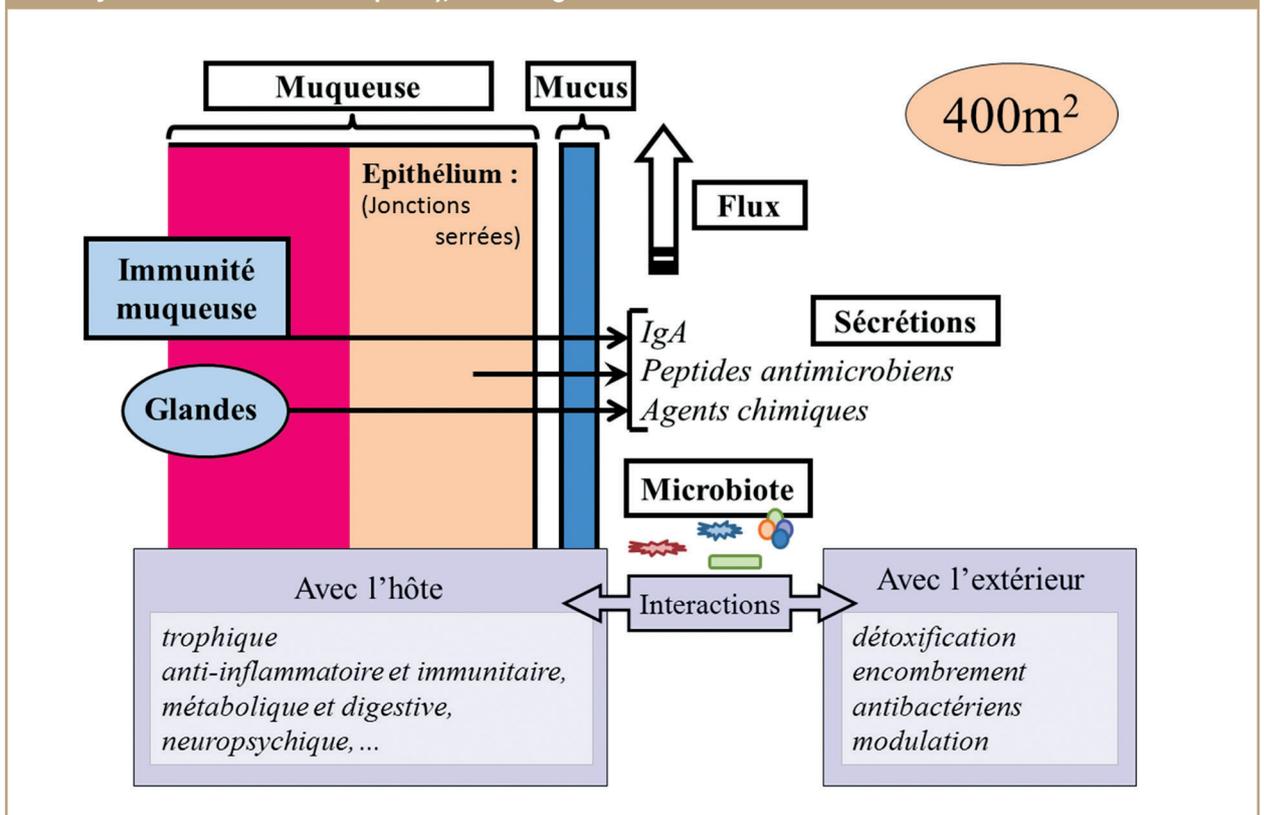
Cette modélisation a l'avantage de faire comprendre pourquoi l'installation d'une pneumonie peut être explosive, ou encore la fréquence des surinfections après les atteintes virales. Elle suggère aussi que contrairement à l'intestin, l'équilibre et la protection pourraient reposer sur la non implantation des germes.

4. Microbiotes, poumon et aménagement des frontières

4.1. Microbiotes et aménagement des frontières [21,22,27,28]

La compréhension et les conséquences que l'on pourra tirer de ces informations obligent à replacer chaque micro-organisme dans son contexte et le rôle qu'il peut y jouer. Celui-ci s'inscrit au niveau des barrières, zones d'échanges avec l'extérieur, qui séparent l'organisme hôte de son environnement, et au milieu de leurs moyens de défenses (figure 5). D'une façon générale, ces moyens peuvent

Figure 5 – Le microbiote s'insère au sein des mécanismes généraux de défense des barrières (moyens mécaniques d'étanchéité, flux d'élimination, sécrétions de produits chimiques ou biologiques dotés d'activités antimicrobiennes ou de réparation, sécrétions issues des cellules épithéliales, de glandes ou du système immunitaire muqueux), et interagit à la fois avec l'hôte et avec les intervenants extérieurs.



être déclinés selon plusieurs axes : des moyens mécaniques d'étanchéité (jonctions serrées intercellulaires, kératinisation de la peau, mucus des muqueuses), des flux d'élimination (desquamation, expectoration...), des sécrétions de produits chimiques (H^+ , $NaCl$...) ou biologiques dotés d'activités antimicrobiennes ou de réparation, sécrétions issues des cellules épithéliales, de glandes ou du système immunitaire muqueux (IgA...), et enfin le microbiote. Ce dernier est en interaction avec son hôte sur lequel il peut exercer toute une série d'influences (digestive et métabolique, trophique, immunitaire, voire neuropsychique...), et d'autre part avec l'environnement et ses agressions potentielles contre lesquelles il va également pouvoir jouer un rôle protecteur (détoxification de xénobiotiques, occupation des espaces d'implantation, synthèse de produits antimicrobiens...). Le double équilibre entre l'hôte et son microbiote, et au sein de ce microbiote, serait ainsi essentiel à la protection et à la bonne santé de l'hôte.

La vision que l'on a au niveau des muqueuses est très largement dominée par ce que l'on comprend au niveau digestif [27 et Kolopp-Sarda dans ce numéro]. Cependant le poumon représente une situation particulière parce qu'il s'agit d'une surface d'échanges gazeux développée pour interagir avec l'air ambiant, selon un mécanisme d'aller-retour et non de traversée. Et chez l'homme, il s'est différencié pour prendre en charge un fort débit (près de 12 000 L/jour) d'un air très pauvre en micro-organismes, avec de possibles contaminations particulières, possiblement temporairement denses comme avec les pollens par exemple. Il n'est ainsi - et Homo avec lui - pas naturellement adapté à la pollution citadine et à la concentration humaine urbaine, avec ses densités élevées de germes. L'asthme et les bronchopneumopathies en sont-ils une contrepartie ?

La défense du territoire repose ainsi prioritairement sur les mécanismes d'épuration physique : d'abord le piégeage progressif des particules au niveau des voies aériennes supérieures et du mucus de l'arbre bronchique, particulièrement au niveau des embranchements, et pour ce qu'il en reste par les macrophages alvéolaires ; puis l'expulsion continue grâce aux mouvements ciliaires des cellules épithéliales, ou accélérée et amplifiée par la toux et l'éternuement. Les macrophages alvéolaires sont destinés à être expulsés pour la plupart, et orientés vers leur activité phagocytaire et non oxydative, ce qui limite leur agressivité locale. On retrouve naturellement la sécrétion de toute une série de molécules protectrices (défense et régulation) [21, 22]. À côté de ces dispositifs, le poumon est d'autant plus intégré dans le réseau des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses, que la déglutition oriente les éléments remontés par le système muco-ciliaire vers le territoire intestinal. Ceci renforce le rôle central que peut jouer ce dernier, alors que le poumon apparaît plus marginal. La présence d'un tissu lymphoïde associé aux bronches (le « BALT » des anglophones) est ainsi très variable selon les espèces et les individus. Contrairement au rat ou au lapin par exemple, où il est constitutif, il semble que l'on puisse retenir qu'il n'est pas normalement présent chez l'homme, mais inductible comme une adaptation aux circonstances telles qu'une irritation ou infection, notamment chroniques ; en particulier chez l'enfant et aux embranchements bronchiques.

Chez l'homme normal, ce manque de BALT serait au moins en partie compensé par le réseau des cellules dendritiques qui se développe à partir de la naissance en réponse à l'exposition aux antigènes [28, 29].

Dans ce contexte, le mode de constitution du microbiote pulmonaire axé vers le renouvellement avec peu ou pas de prolifération, et possiblement une part de mortalité, est sans doute révélateur d'un fonctionnement différent, a priori essentiellement protecteur et détoxifiant, articulé autour de la non-implantation. Qu'on peut imaginer aussi en cohérence avec l'apparition tardive de l'organe comme une expansion du tube digestif, et avec le développement de l'anneau de Waldeyer dont il souligne l'importance fonctionnelle.

4.2. Une vision renversante de l'immunologie

La survie d'un organisme repose sur deux fonctions essentielles : se nourrir et se défendre ; avec globalement dans les deux cas une participation active des microbiotes. Pour assurer le maintien du bon état fonctionnel de l'organisme, le Système Immunitaire doit éliminer toute menace et donc la reconnaître, qu'elle soit endogène (dérèglements des cellules ou masse des déchets liée à leur mort...) ou exogène (agents infectieux ou toxiques...). Il le fait en s'appuyant sur des motifs généraux identifiés au cours de l'évolution comme « non-soi » (ce qui ne signifie plus nécessairement dangereux), par exemple une redondance de mannose. Et il peut gérer ces motifs grâce à des récepteurs préformés, par exemple la « mannose binding protein », dont il est rentable de disposer en quantité suffisante pour être immédiatement efficace, puisqu'on sait qu'ils seront couramment utiles. C'est le support de ce qu'on appelle l'immunité innée. Et s'il n'y avait pas de variabilité et interférences du monde extérieur, elle suffirait entièrement, puisque tout serait prévisible.

L'intrusion de cette variabilité, d'origine exogène, et donc non prévisible, impose de disposer de mécanismes permettant de la prendre en charge. Ceci suppose la capacité de mettre en œuvre à la demande de nouveaux moyens qui correspondent à ce que l'on appelle l'immunité adaptative ; et la rentabilité impose qu'il s'agisse de potentialités mécanistiques qui ne prendront toute leur place qu'en fonction du besoin. Ainsi le Système Immunitaire pourra-t-il s'adapter à l'environnement de l'organisme et recruter par ce biais les moyens de l'immunité innée contre de nombreux intervenants. On comprend alors que cette immunité adaptative, en dépit de son extrême complexité, ne joue en réalité qu'un rôle complémentaire. Et aussi que l'essentiel va se jouer aux interfaces avec l'extérieur. C'est en effet là que l'organisme est confronté à des menaces permanentes et imprévisibles. Et ce n'est qu'en cas de brèche, accidentelle ou provoquée par l'implantation d'un pathogène, que les acteurs dédiés de l'immunité innée puis adaptative auront à jouer tout leur rôle.

Si, en miroir, on regarde dans les ouvrages destinés aux étudiants [30, 31], le poids relatif représenté par ces trois articulations de nos stratégies défensives, on s'aperçoit qu'en gros 65 % des pages sont consacrées à l'immunité adaptative, 30 % à l'immunité innée et 5 % à la défense des frontières.

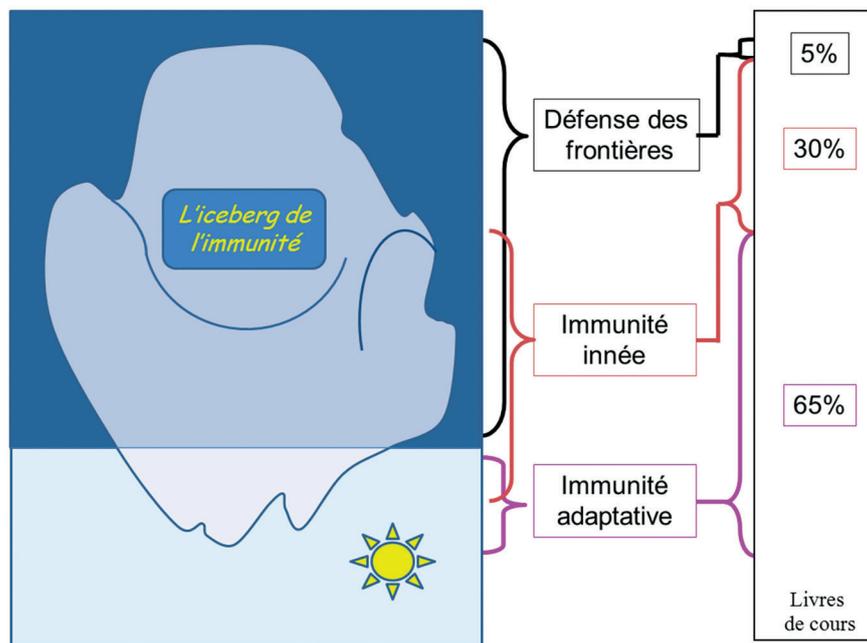


Figure 6 – Une vision renversante de l'Immunologie : par la permanence de ses interventions dans la protection de l'organisme et leur caractère peu apparent, la défense des frontières ressemble à la masse cachée de l'iceberg, contrairement à l'immunité adaptative qui attire le regard. Face à cela, la part réservée dans les ouvrages d'enseignement de l'Immunologie aux trois composantes de nos moyens de défense semble disproportionnée, et pourrait principalement refléter l'impact de leur visibilité dans l'histoire de la discipline.

Cette présentation largement inversée de notre Système Immunitaire (figure 6) résulte naturellement d'une complexité supposée plus grande de l'adaptatif, mais aussi bien plus probablement de l'histoire de la discipline. La prééminence de l'immunité adaptative reflète-t-elle autre chose que le fait qu'elle était simplement plus facile à repérer au départ ? Comme la partie émergée de l'iceberg... En remettant en lumière nos interfaces, les microbiotes qui y résident, viennent nous inviter à reconsidérer et peut-être réorienter l'enseignement de la discipline ; et achever de gommer ainsi les biais intellectuels qu'il a pu induire.

4.3. Une nouvelle phase de l'histoire de l'immunologie et un nouveau regard sur l'homme

L'actuelle mise en lumière des microbiotes nous renvoie à la fin du XIX^e siècle où Pasteur s'interrogeait déjà sur un éventuel effet bénéfique de l'environnement microbien. Cependant l'urgence était alors à la lutte contre les grandes maladies infectieuses, et l'immunologie s'est constituée autour d'une approche raisonnée pour promouvoir la protection de l'individu au travers de la vaccination et de la sérothérapie [18]. Cette première phase de l'histoire de l'Immunologie est ainsi tendue vers l'acquisition d'une immunité, que plus tard on requalifiera d'adaptative, que l'on démontrera être spécifique du pathogène considéré, et que l'on cherchera à décrire, comprendre et évaluer. Et il se trouve que les moyens techniques de l'époque étaient essentiellement adaptés à l'étude du versant humoral de la réponse, et par suite à la description des anticorps. Cette première période débouche sur la théorie, philosophique, du « soi » et du « non-soi » proposée par Frank Macfarlane Burnet, dont il convient cependant de garder en mémoire, qu'elle est historiquement née dans la perspective de la tolérance.

Après la seconde guerre mondiale, les progrès méthodologiques mettent en lumière le côté cellulaire, avec notamment l'entrée en scène et le démembrement des lymphocytes, et la description des phénomènes de coopération entre cellules. L'importance de l'immunité innée, ou naturelle, va alors émerger et Charles Janeway va en faire la gardienne des clefs de la réponse immunitaire. Cette phase conduit à la théorie du danger de Polly Matzinger. Pour celui qui ne veut pas s'immiscer dans des querelles de chapelles, on peut en retenir que c'est la perception du danger par l'organisme, notamment via l'immunité naturelle, qui déclenche la réaction immunitaire ; le « non-soi » devenant en quelque sorte, ce qui s'accompagne de cette perception de danger. Il n'est écrit nulle part dans la séquence d'un épitope si il vient du « soi » ou du « non-soi », et c'est seulement le contexte de sa reconnaissance qui détermine les conséquences de celle-ci.

Avec le XXI^e siècle commence probablement une nouvelle période de l'histoire de la discipline avec l'apparition au premier plan des préoccupations de régulation et la résurgence des microbiotes. L'aménagement des interfaces de l'organisme et leur gestion ou prise en compte par le système immunitaire deviennent des interrogations centrales. Et de façon intéressante un nouveau regard philosophique nous est parallèlement proposé avec la théorie de la discontinuité avancée par Thomas Pradeu [32], dans laquelle la réponse est déclenchée par une discontinuité forte dans les interactions entre récepteurs et motifs antigéniques. En assimilation avec les théories précédentes, on pourrait dire que ce qui n'est pas là « comme depuis toujours », est reconnu comme « non-soi » et potentiellement « dangereux ». Ce sont trois façons d'aborder la même problématique, avec des approches différentes et en partie complémentaires, mais qui traduisent aussi l'évolution de la discipline.

Cette mise en lumière de l'aménagement des interfaces de l'organisme et des microbiotes qui y résident et y jouent un rôle protecteur, va même plus loin que de nous convier à regarder différemment l'Immunologie (figure 7). Elle nous interroge sur la place qu'il nous faut accorder

à nos microbiotes vis-à-vis de notre propre entité, ce qui nous renvoie à cette question : qu'est-ce que l'homme ? La réponse peut être recherchée dans les gènes, et leur origine évolutive ; elle impose alors la modestie (figure 8) : l'apport primate ne serait que de 6 %, vertébré de 13 %,

Figure 7 – Une nouvelle phase de l'histoire de l'immunologie ? En même temps que l'exploration des microbiotes prend un nouvel essor, notre époque voit apparaître au premier plan des préoccupations de régulation et de gestion des interfaces de l'organisme ; tandis qu'un nouveau regard philosophique nous est proposé avec la théorie de la discontinuité.

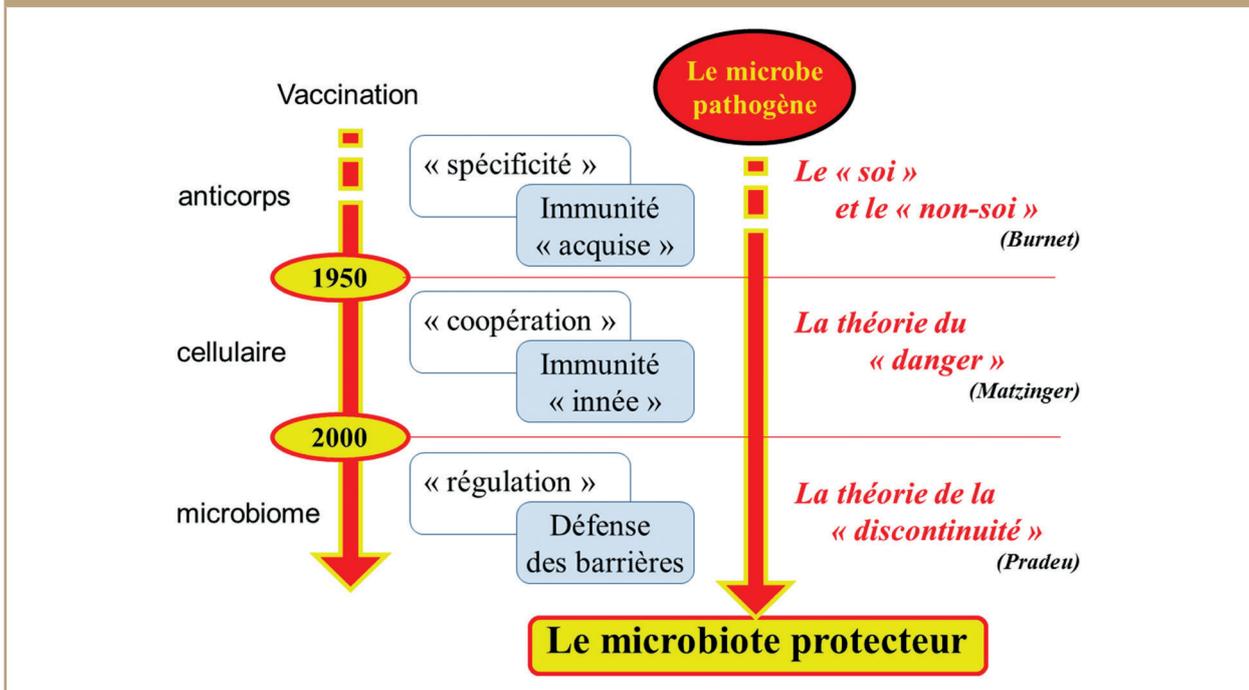
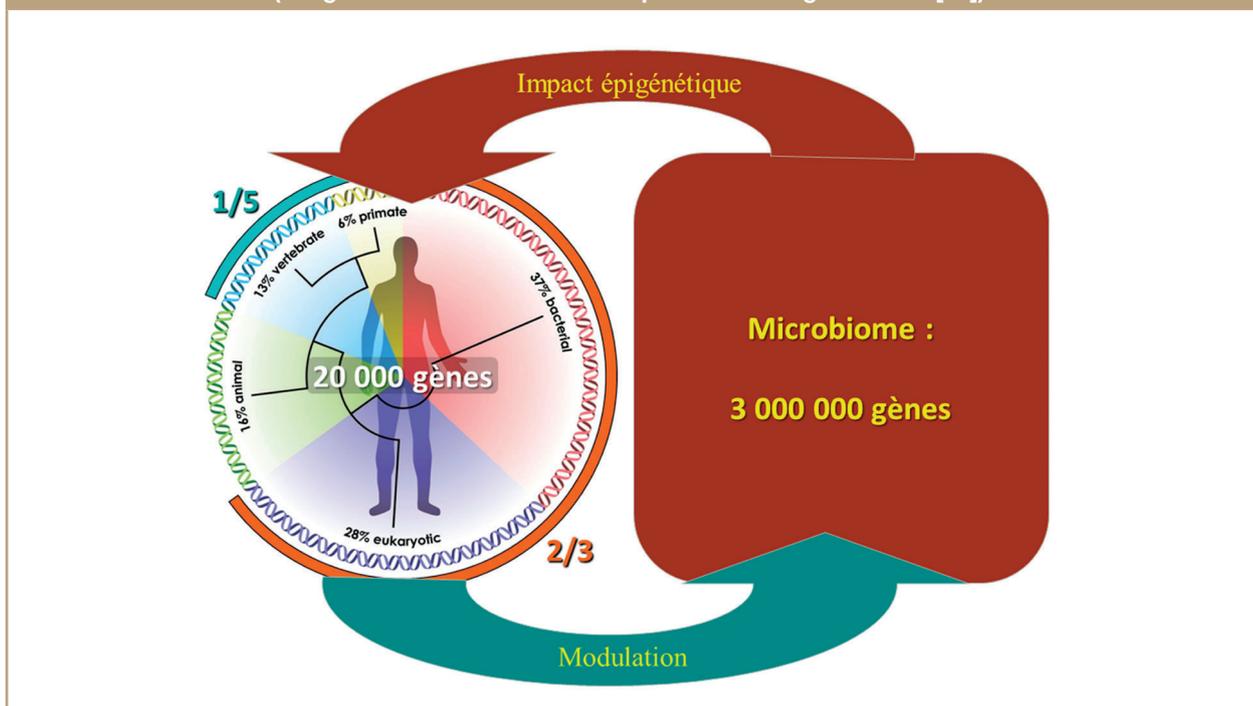


Figure 8 – Une histoire de gènes pour un nouveau regard sur l'homme (image de l'homme modifiée d'après McFall-Ngai M et al. [33]).



animal de 16 %, eucaryote de 28 % et bactérien de 37 % [33]. Et à côté de cela, on estime que nos microbiotes représentent de l'ordre de dix fois plus de cellules et cent cinquante fois plus de gènes que nous-mêmes. Et ces deux ensembles interagissent et s'influencent au point que la théorie de l'hologéome propose que ce soit la communauté des deux, l'hobolonte, qui soit l'objet réel de l'évolution [34].

5. Conclusion

Au niveau pulmonaire, le microbiote semble être chez le sujet sain une expansion essentiellement bronchique de celui de l'oropharynx, cantonnée par l'épuration muco-

ciliaire et la pauvreté des ressources disponibles localement. En regard, le tissu lymphoïde associé aux bronches apparaît plus inductible que constitutif chez l'homme. Cette interface semble ainsi particulière par son orientation vers la non implantation des germes et leur éviction des surfaces d'échanges gazeux ; ce qui la rend aussi mal adaptée à la concentration des individus et la pollution de nos sociétés. Tout ceci incite l'immunologiste à repenser le système immunitaire en redonnant toute sa place à l'aménagement des interfaces de notre organisme.

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Morgan XC, Segata N, Huttenhower C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends Genet* 2013;29(1):51-8.
- [2] Lehman HK. Autoimmunity and Immune Dysregulation in Primary Immune Deficiency Disorders. *Curr Allergy Asthma Rep* 2015;15:53.
- [3] Mahajan A, Herrmann M, Muñoz LE. Clearance Deficiency and Cell Death Pathways: A Model for the Pathogenesis of SLE *Front Immunol* 2016;7:35.
- [4] Pradeu Th. Les incertitudes du soi et la question du bon modèle théorique en immunologie. *Med Sci (Paris)* 2005;21:872-5
- [5] Beck JM. ABCs of the lung microbiome. *Ann Am Thorac Soc* 2014;11(Suppl 1):S3-6.
- [6] Walters WA, Knight R. Technology and techniques for microbial ecology via DNA sequencing. *Ann Am Thorac Soc* 2014;11(Suppl 1):S16-20.
- [7] Gest H. The discovery of microorganisms by Robert Hooke and Antoni Van Leeuwenhoek, fellows of the Royal Society. *Notes Rec R Soc Lond* 2004;58(2):187-201.
- [8] Nair P. Woese and Fox: Life, rearranged. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109(4):1019-21.
- [9] Woese CR, Fox GE. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74(11):5088-90.
- [10] Owyang C, Wu GD. The gut microbiome in health and disease. *Gastroenterology* 2014;146(6):1433-6.
- [11] Berger G, Wunderink RG. Lung microbiota: genuine or artifact? *Isr Med Assoc J* 2013;15(12):731-3.
- [12] Huang YJ, Charlson ES, Collman RG, et al. The role of the lung microbiome in health and disease. A National Heart, Lung, and Blood Institute workshop report. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187(12):1382-7.
- [13] Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW et al. Defining the human microbiome. *Nutr Rev* 2012;70 (Suppl 1):S38-44.
- [14] Charlson ES, Bittinger K, Haas AR, et al. Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184(8):957-63.
- [15] Licandro-Seraut H, Scornec H, Pédrón T et al. Functional genomics of *Lactobacillus casei* establishment in the gut. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(30):E3101-E3109.
- [16] Schnupf P, Gaboriau-Routhiau V, Gros M et al. Growth and host interaction of mouse segmented filamentous bacteria in vitro. *Nature* 2015;520(7545):99-103.
- [17] Nigro G, Rossi R, Commere PH et al. The cytosolic bacterial peptidoglycan sensor Nod2 affords stem cell protection and links microbes to gut epithelial regeneration. *Cell Host Microbe* 2014;15(6):792-8.
- [18] Ducluzeau R, Raibaud P. *Ecologie microbienne du tube digestif*. Paris. Masson. 1979. 96 pp.
- [19] Hilty M, Burke C, Pedro H et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS ONE* 2010;5(1):e8578.
- [20] Sze MA1, Dimitriu PA, Hayashi S et al. The lung tissue microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;185(10):1073-80.
- [21] DeLong PA, Kotloff RM. An overview of pulmonary host defense. *Semin Roentgenol* 2000;35(2):118-23.
- [22] Nicod LP. Pulmonary defence mechanisms. *Respiration* 1999;66(1):2-11.
- [23] Morris A, Beck JM, Schloss PD et al. Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187(10):1067-75.
- [24] Erb-Downward JR, Thompson DL, Han MK et al. Analysis of the lung microbiome in the "healthy" smoker and in COPD. *PLoS ONE* 2011;6(2):e16384.
- [25] Funkhouser LJ, Bordenstein SR. Mom knows best: the universality of maternal microbial transmission. *PLoS Biol* 2013;11(8):e1001631.
- [26] Dickson RP, Erb-Downward JR, Huffnagle GB. Homeostasis and its disruption in the lung microbiome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2015;309(10):L1047-55.
- [27] Bourlioux P. Actualité du microbiote intestinal (Current view on gut microbiota). *Ann Pharm Fr* 2014;72(1):15-21.
- [28] Renz H, Brandtzaeg P, Hornef M. The impact of perinatal immune development on mucosal homeostasis and chronic inflammation. *Nat Rev Immunol* 2011;12(1):9-23.
- [29] Tschernig T, Pabst R. Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) is not present in the normal adult lung but in different diseases. *Pathobiology*. 2000;68(1):1-8.
- [30] Espinosa E, Chillet P. *Immunologie parcours LMD*. Paris. Ellipses édition. 2010;511 pp.
- [31] Collège des enseignants d'Immunologie (ASSIM). *Immunologie fondamentale et immunopathologie (cours de L2-L3 Médecine)*. Issy-les-Moulineaux. Elsevier Masson. 2013;260 pp.
- [32] Pradeu T, Jaeger S, Vivier E. The speed of change: towards a discontinuity theory of immunity? *Nat Rev Immunol* 2013;13(10):764-9.
- [33] McFall-Ngai M, Hadfield MG, Bosch TC et al. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(9):3229-36.
- [34] Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. *FEMS Microbiol Rev* 2008;32(5):723-35.