

REPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTÈRE DE  
L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB –BLIDA-



FACULTÉ DE MEDECINE  
DÉPARTEMENT DE PHARMACIE



Mémoire présentée en vue de l'obtention du titre de :

« Docteur en Pharmacie »

« Session juin 2021 »

*Microbiote intestinal et les pathologies  
Métaboliques*

Présentée par :

*MOKHTARI Youcef*

*ENCADRE PAR Dr LARBAOUI Khelidja*

*JURY*

*Président: Pr GHOUINI Ahmed*

*Examineur: Dr BENAMARA MOUNIA*

*Encadrante : Dr LARBAOUI Khelidja*

*ANNEE=2021*



## **REMERCIEMENTS:**

Je tiens tout particulièrement à remercier,

**Les membres du jury,**

A notre Professeur et président de jury, monsieur **GHOUNI Ahmed** professeur de physiologie a la faculté de médecine Blida 1, *je vous remercie vivement de me faire l'honneur de présider le jury et d'examiner cette mémoire.*

A notre Maitre **LARABAOUI Khelidja** docteur en physiologie a la faculté de médecine Blida 1 pour avoir été ma directrice de mémoire, Je vous remercie pour le temps que vous m'avez accordé et pour vos précieux conseils.

A notre Maitre **BENAMARA MOUNIA** docteur en microbiologie a la faculté de médecine Blida 1, *Je vous remercie vivement a acceptez de vous avoir dans notre jury pour juger mon travail.*

***Merci de me faire bénéficier de votre expérience ; veuillez agréer mon plus profond respect et ma sincère reconnaissance***

**Maman, Papa,**

Grâce à vous, j'ai pu réaliser mes études dans les meilleures conditions. Je vous remercie également pour votre soutien durant la réalisation de ce travail mais aussi pendant toutes ces années d'études.



# TABLE DES MATIERES:

REMERCIEMENTS:.....	II
TABLE DES FIGURES: .....	VI
LISTE DES ABRÉVIATIONS:.....	VII
INTRODUCTION: .....	1
PARTIE 1: .....	2
<b>LE MICROBIOTE INTESTINAL</b> .....	<b>2</b>
I-FLORE INTESTINALE:.....	3
1-Définition:.....	3
2-L'épithélium intestinal : .....	3
3- Composition:.....	5
3-1-le phylum des Firmicutes: .....	5
3-2-le phylum des Bacteroidetes : .....	6
3-3-le phylum des Actinobacteria : .....	6
4- Diversité : .....	6
5-Méthodes d'analyse de la composition du microbiote intestinal : .....	8
5-1-Les techniques basées sur la culture : .....	9
5-2-Techniques basées sur la biologie moléculaire : .....	9
5-2-1- L'ARN ribosomal 16S : .....	9
5-2-2-L'hybridation in situ en fluorescence : .....	10
5-2-3-Les techniques d'empreintes : .....	10
5-2-4-Les micro-puces à ADN : .....	10
5-2-5-La PCR quantitative : .....	11
5-2-6-La Métagénomique par séquençage de type « shotgun » : .....	11
5-2-7-La métatranscriptomique : .....	12
5-2-8-La métaprotéomique : .....	12
5-2-9-La métabolomique : .....	13
6-Mise en place du microbiote intestinal dans l'intestin: .....	13
6-1-Facteurs propres à l'individu: .....	13
6-2-Mode d'accouchement: .....	13
6-3- L'alimentation : .....	15
6-3-1- Lait maternel et lait infantile : .....	15
6-3-2- Alimentation de l'adulte : .....	16
6-4-L'environnement: .....	17
6-5-Exposition aux antibiotiques: .....	17
7-Les fonction de la flore intestinale : .....	18
7-1-Fonction de barrière et de protection : .....	18
7-1-1- Effet barrière : .....	18
7-1-2- Microbiote intestinal et système immunitaire : .....	20
7-2-Fonction métabolique : .....	22
Le microbiote interstinal est considéré comme un organe qui est très noble de par les multiples fonctions qu'il exerce dont les répercussions pour l'hôte sont pour la plupart bénéfiques. ....	22
7-2-1- Métabolisme des glucides : .....	22
7-2-2-Métabolisme des protéines : .....	23
7-2-3-Métabolisme des lipides : .....	24
7-2-4- Métabolisme des gaz : .....	25
7-2-5- Devenir des métabolites bactériens ; .....	25
7-2-5-a- Les Acides Gras à Chaîne Courte : .....	25
7-2-5-b- Les Vitamines : .....	26



7-2-5-c- Les produits issus du métabolisme protéique : .....	26
7-2-5-d- Le lactate : .....	26
8- Interactions hôte – microbiote dans l'intestin : homéostasie intestinale : .....	27
9-Variation de la flore au cours du temps : .....	28
9-1- L'alimentation : .....	28
9-2-L'usage de médicaments tels que les antibiotiques : .....	28
9-3- Les hospitalisations : .....	28
9-4- Certaines situations cliniques : .....	29
9-5- L'âge : .....	29
<b>PARTIE 2: .....</b>	<b>31</b>
<b>LIEN ENTRE LE MICROBIOTE ET LES MALADIES.....</b>	<b>31</b>
I-OBESITE : .....	32
1-Définition: .....	32
2- EPIDEMIOLOGIE : .....	33
3-Physiopathologie de l'obésité : .....	34
3-1-Mécanismes: .....	35
3-1-1-Mécanismes métaboliques : .....	35
3-1-2-Inflammation de bas grade : .....	36
4- LE MICROBIOTE INTESTINAL DANS L'OBESITE : .....	37
5- Contrôle nutritionnel de l'obésité par l'intermédiaire du microbiote intestinal : .....	38
5-1- Probiotiques, Prébiotiques et Symbiotiques : .....	38
5-1-1- Définition : .....	38
5-1-1-a- Les probiotiques : .....	39
5-1-1-b- Les prébiotiques et symbiotiques : .....	39
5-2- Classifications et propriétés : .....	39
5-3- Utilisations actuelles des probiotiques : .....	40
5-4- Mode d'action : .....	40
5-4-1-Probiotiques et obésité : .....	40
5-4-2- Prébiotiques et obésité : .....	42
<b>COMMENT REDUIRE LA CHARGE DU SURPOIDS ET DE L'OBESITE? .....</b>	<b>43</b>
II- DIABETE .....	45
1-Définition : .....	45
2- Classification: .....	45
3- Physiopathologie du diabète type 2 : .....	46
3-1-Rappels anatomiques et histologiques du pancréas : .....	46
3-2- Physiopathologie : .....	46
3-2-1- Insulinorésistance : .....	47
3-2-2- Altération de l'insulinosécrétion : .....	49
5- Implication du microbiote intestinal dans le développement du diabète : .....	52
5-1- Composition du microbiote intestinal dans le diabète de type 2: .....	52
5-2- Les particularités du microbiote intestinal dans le diabète de type 2: .....	53
III- LE MICROBIOTE INTESTINAL ET LES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES .....	55
1- La maladie de Crohn : .....	55
1-1-Définition : .....	55
1-2- Symptômes : .....	55
1-3-Complications : .....	56
1-4-Etiologies : .....	57
1-5-Les traitements : .....	57
1-6- La flore intestinale dans la MC : .....	58
<b>CONCLUSION: .....</b>	<b>61</b>



**RESUME:..... 63**  
**ABSTRACT:..... 64**  
**BIBLIOGRAPHIE :..... 65**

Youscef



## TABLE DES FIGURES:

Figure 1: le microbiote intestinale (4) .....	3
Figure 2: Epithelium intestinal (6) .....	4
Figure 3: Arbre phylogénétique représentant les différents sous-ensembles (phyla) des groupes bactériens composant le microbiote intestinal (9) .....	5
Figure 4: Diversité du microbiote intestinal (11).....	7
Figure 5: Principales méthodes d'analyses du microbiote intestinal (12) .....	8
Figure 6: Facteurs influençant l'établissement, l'évolution et la stabilité du microbiote intestinal (36) .....	14
Figure 7: Influence de d'accouchement sur la composition du microbiote (35) .....	14
Figure 8: Composition du microbiote selon l'alimentation du nouveau-né (40).....	15
Figure 9: impact du régime alimentaire sur l'abondance du microbiote (42) .....	16
Figure 10: impact des antibiotiques sur l'abondance du microbiote intestinal (42) .....	17
Figure 11: Organisation schématique de la barrière intestinale (46).....	19
Figure 12: Effet barrière du microbiote intestinale (46) .....	19
Figure 13: Organisation simplifiée de l'immunité intestinale en condition physiologique (46) .....	20
Figure 14: Dialogue entre microbiote et système immunitaire (50).....	21
Figure 15: Les différentes fonctions du microbiote intestinal (53) .....	22
Figure 16: Chaîne trophique de la fermentation des glucides (51).....	23
Figure 17: Principales voies du métabolisme des protéines dans le côlon (53) .....	24
Figure 18: Devenir de l'hydrogène dans le côlon (54).....	25
Figure 19: évolution du microbiote intestinale en fonction du temps (63) .....	29
Figure 20: Principaux facteurs influençant la colonisation physiologique de l'intestin par le microbiote intestinal .....	30
Figure 21: Corpulence selon l'Indice de Masse Corporelle (65) .....	32
Figure 22: Facteurs impliqués dans le développement de l'obésité (69) .....	34
Figure 23: Histoire naturelle de l'obésité (71).....	35
Figure 24: Ratio Firmicutes/Bacteroidetes (78) .....	37
Figure 25: Structure chimique de l'acide linoléique et ALC (86) .....	41
Figure 26: action du prébiotique sur l'inflammation (89) .....	43
Figure 27: Résistance à l'insuline et hyperglycémie (91) .....	45
Figure 28: Anatomie du pancréas (93) .....	46
Figure 29: Rôle du pancréas dans le contrôle de la glycémie (95) .....	47
Figure 30: Représentation simplifiée de la progression de l'insulinorésistance lors du développement du diabète de type 2 (96) .....	48
Figure 31: Dysbiose et insulinorésistance (103) .....	50
Figure 32: Réaction inflammatoire induite par les LPS (111) .....	51
Figure 33: Endoscopie d'ilion touchée de maladie de Crohn (124) .....	56
Figure 34: Le microbiote dans la maladie de Crohn (127).....	58



## **LISTE DES ABRÉVIATIONS:**

**ADN : Acide désoxyribonucléique**

**AGCC : acides gras à courtes chaînes**

**ALC : Acide linoléique conjugué**

**AMPC : Adénosine monophosphate cyclique**

**ATP : Adénosine triphosphate**

**CD14: Cluster of différenciation 14**

**CD14-/- : Déficience en CD14**

**CNRS : Centre national de la recherche scientifique**

**FIAF: Fasting-induced adipose factor**

**FOS: fructo-oligosaccharides**

**GLP-1: Glucagon-like peptide-1**

**GOS: Gluco-oligosaccharides**

**GPR 41/ 43: G protein receptor**

**IFN- $\gamma$ : Interféron gamma**

**IgA : Immunoglobulines A**

**IL-10 : Interleukine 10**

**IL-8 : Interleukine 8**

**IL-6 : Interleukine 6**

**IMC : Indice de Masse Corporelle**

**Inserm : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale**

**IRS1: Insulin receptor substrat 1**

**IRS2: Insulin receptor substrat 2**

**LBP: Lipopolysaccharide-binding protein**

**LDL : Lipoprotéines de faible densité**

**LTh1 / LTh2/ LTh17: lymphocytes T auxiliaires 1/2/17**



**LPL : lipoprotéine lipase**

**LPS: Lipopolysaccharide**

**LT CD8 +: lymphocytes T cytotoxiques**

**MAM : Molécule Anti-inflammatoire du Microbiote**

**MC : Maladie de Crohn**

**MDP : Muramyl dipeptide**

**MICI : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin**

**NF-kB: Nuclear factor-kappa B**

**NOD2: Nucleotide-binding oligomerization domain 2**

**OS: Oligosaccharides**

**PAMPs: Pathogen Associated Molecular Pattern**

**PI3K: Phosphoinositide 3-kinase**

**PKC: Protéine kinase-c**

**PRRs: Pattern recognition receptor**

**Pyy: Peptide YY anorexigène**

**SIDA : Syndrome d'Immuno Déficience Acquise**

**TGF- $\beta$ : Transforming Growth Factor  $\beta$**

**TLR: Toll-like receptors**

**Treg: lymphocytes T régulateurs**

**TLR4: Récepteurs Toll-like de type 4**

**TNBS: Acide 2, 4, 6-trinitrobenzène sulfonique**

**TNF-a: Tumor Necrosis Factor a**

**UFC: Unité formant colonie**

**UPR: Unfolded protein response**

**VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine**





Kouçerf



## Glossaire:

**Le microbiote** correspond à l'ensemble des micro-organismes peuplant un microbiome. Le microbiote humain comprend les bactéries, virus, champignons (levures), archées et autres micro-organismes, présents sur ou dans le corps humain

**Le microbiome** fait référence aux gènes ou à la constitution génétique du microbiote. La collection de gènes globaux de la communauté microbienne est considérée dans le microbiome. **Microbiome humain** fait référence au matériel génétique complet du microbiote humain. Comparé au génome humain, le microbiome humain est considéré comme le deuxième génome et contient 100 fois plus de gènes que les gènes humains..

**Un écosystème** caractérise un milieu dans lequel les conditions physicochimiques sont relativement homogènes et permettent le développement d'un ensemble d'organismes vivants. Dans un milieu, les conditions climatiques (comme la température, le rayonnement solaire, l'humidité), géologiques (caractéristiques du sol) et hydrologiques (eaux souterraines par exemple) définissent un biotope, un lieu de vie qui permet le développement de certaines espèces végétales, animales et fongiques.

**la métagénomique** consiste à étudier collectivement les gènes, sans les détailler individu par individu. L'avantage est une rapidité plus grande de l'analyse et le principe présente également une pertinence d'un point de vue écologique. L'information importante est en effet de savoir quels gènes, donc quelles fonctions biologiques, existent dans le milieu.

**Les archées** sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes (il n'y a pas de noyau dans la cellule). Leur taille varie entre 0,1 et 15 microns et elles vivent dans à peu près tous les milieux. On trouve des archées dans des milieux extrêmes (anaérobies, à forte salinité, très chauds ou à grande profondeur).

**Les antibiotiques** (du grec anti : contre, et biôtikos : qui concerne la vie) sont des substances chimiques, naturelles ou synthétiques, qui ont une action spécifique sur les micro-organismes : bactéries ou protozoaires. Lorsque ces molécules peuvent les tuer, elles sont dites bactéricides

Le **virome** humain, ou métagénome viral, inclut tous les virus susceptibles d'être retrouvés chez l'homme qu'il s'agisse des virus responsables d'infections aiguës, chroniques ou latentes ou encore des virus intégrés au génome humain tels les rétrovirus endogènes.

Les **épithéliums** de revêtement **unistratifiés ou simples, constitués d'une seule couche de cellules**, se distinguent les uns des autres uniquement par la forme de celles-ci.

Les **plaques de Peyer** sont des acteurs majeurs du tissu lymphoïde associé à la muqueuse intestinale (MALT, mucosa associated lymphoid tissue). Il s'agit d'agrégats de follicules lymphoïdes principalement retrouvés dans l'iléon et le côlon.

Les **cellules de Paneth** sont situées au fond des cryptes : ce sont des cellules sécrétrices exocrines à action antimicrobiennes (en particulier du lysozyme, de la phospholipase A2 et plusieurs peptides de la famille des défensines comme les cryptidines) ; elles déversent leurs produits de sécrétion dans la lumière des cryptes. Elles contribuent donc au rôle de défense de la barrière muqueuse intestinale.

**Lamina propria** Membrane qui tapisse les cavités naturelles de l'organisme, constituée essentiellement d'un épithélium et d'un chorion, et accessoirement de fibres élastiques musculaires, de glandes, de villosités, etc., selon la muqueuse considérée.

Les **bactériophages**, plus communément appelés phages, sont des virus infectant les bactéries. Le cycle viral productif aboutit à la formation de nouveaux virions et peut s'accompagner de la lyse de la bactérie hôte (cycle lytique).

Le **prophage** correspond à la forme du bactériophage lorsqu'il est inséré dans le génome de la bactérie infectée. On parle alors de virus lysogène, par opposition au virus lytique, qui, lui, se multiplie et tue la cellule. Un même bactériophage peut se retrouver sous une ou l'autre forme.



## INTRODUCTION:

Le microbiote est défini par l'ensemble des micro-organismes **commensaux** (c'est-à-dire bactéries, champignons, achées, virus), vivant dans un environnement qui lui est propre. Sa composition varie en fonction de **la niche écologique** à laquelle il est rattaché, chaque niche ayant des conditions physico-chimiques différentes (milieux buccal, intestinal, génital, cutané...). Le microbiote intestinal, particulièrement celui présent dans la lumière colique, est le plus abondant, et ne contient pas moins de  $10^{14}$  micro-organismes. (1)

Avec environ 1000 espèces différentes, cet **écosystème** microbien occupe une place de premier ordre au sein de l'organisme, en participant à de nombreux processus métaboliques. Les techniques actuelles de biologie moléculaire ont permis l'analyse poussée du microbiote, et l'identification de sa fonctionnalité pour l'hôte. Il possède un large spectre d'action, avec comme fonctions principales la fermentation, la digestion de fibres, la synthèse de vitamines, la fonction de barrière contre les divers pathogènes ainsi que son implication dans le système immunitaire. La flore microbienne se trouve, en temps normal, à l'état d'équilibre. Toutefois, l'altération de cet équilibre, provoquée par une antibiothérapie, un changement de régime alimentaire, le stress ou encore une pathologie de la sphère gastro-intestinale est appelée **dysbiose**. Ce phénomène de dysbiose est incriminé dans de nombreuses pathologies, et a permis de comprendre l'origine de certaines maladies, notamment celles corrélées à des mécanismes **auto-immuns** ou **inflammatoires**. (1)

Le microbiote joue un rôle déterminant en offrant des fonctions biologiques et métaboliques utiles pour l'hôte, qui ne peuvent pas être effectuées par le métabolisme humain. Cette **symbiose** complexe est dépendante d'interactions entre la génétique de l'hôte et des microbes, et de l'environnement. (1)

Les études menées chez **les souris axéniques** (dépourvues de flore intestinale) ont clairement démontré le rôle important du microbiote intestinal dans **l'homéostasie énergétique** de l'hôte. Les souris axéniques, comparativement aux souris pourvues en flore intestinale, sont protégées de l'obésité induite par un régime à haute teneur en graisse, mais aussi des désordres métaboliques associés comme l'intolérance au glucose; leur sensibilité à l'insuline est augmentée. (2)

Cependant cette «résistance» de la souris axénique à un régime à haute teneur en graisse n'est pas constante. Elle est dépendante de la composition du dit régime, suggérant que c'est plutôt l'interaction entre les germes intestinaux et les nutriments qui détermine le développement de l'obésité; Les études d'intervention chez les souris axéniques ont également montré que des modifications du microbiote intestinal, dont la composition est différente chez les souris obèses et minces, peuvent être à l'origine de l'obésité. (2)

**PARTIE 1:**  
***LE MICROBIOTE INTESTINAL***

## I-Flore intestinale:

### *1-Définition:*

La flore ou **microbiote** est l'ensemble des micro-organismes non pathogènes dits **commensaux**, vivant dans un environnement spécifique appelé **microbiome**, chez un hôte qui peut être animal, végétal ou une matière pouvant être elle-même d'origine animale ou végétale (3).

Notre organisme est composé de plusieurs microbiotes, notamment au niveau de la peau, de la bouche et du vagin, mais le microbiote intestinal est le plus important d'entre eux.

Les principaux micro-organismes qui composent le microbiote intestinal sont des bactéries, mais on y trouve aussi des archées, des virus et des champignons.

Le microbiote se localise entre la lumière du tube digestif et le mucus présent à la surface de l'épithélium intestinal, il est présent tout au long du tube digestif mais sa concentration est maximale au niveau de l'intestin grêle et du côlon. Au total, un individu abrite dans son tractus intestinal  $10^{14}$  micro-organismes. (3)

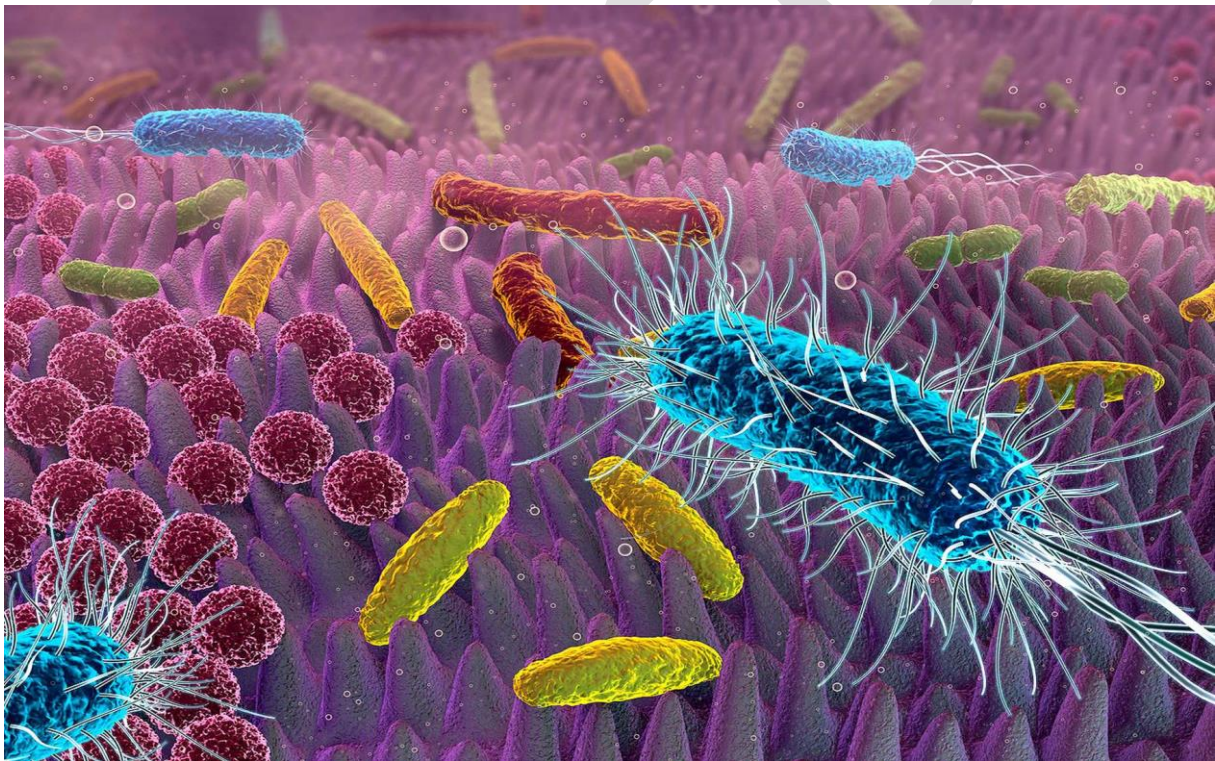


Figure 1: le microbiote intestinale (4)

### *2-L'épithélium intestinal :*

L'épithélium retrouvé le long de l'intestin grêle et du côlon est un **épithélium prismatique simple** constitué de plusieurs types cellulaires (5). La structure particulière, sous

forme **d'invaginations** et de **cryptes**, ainsi que la présence de microvillosités permet à ce tissu d'avoir une surface d'absorption très importante.

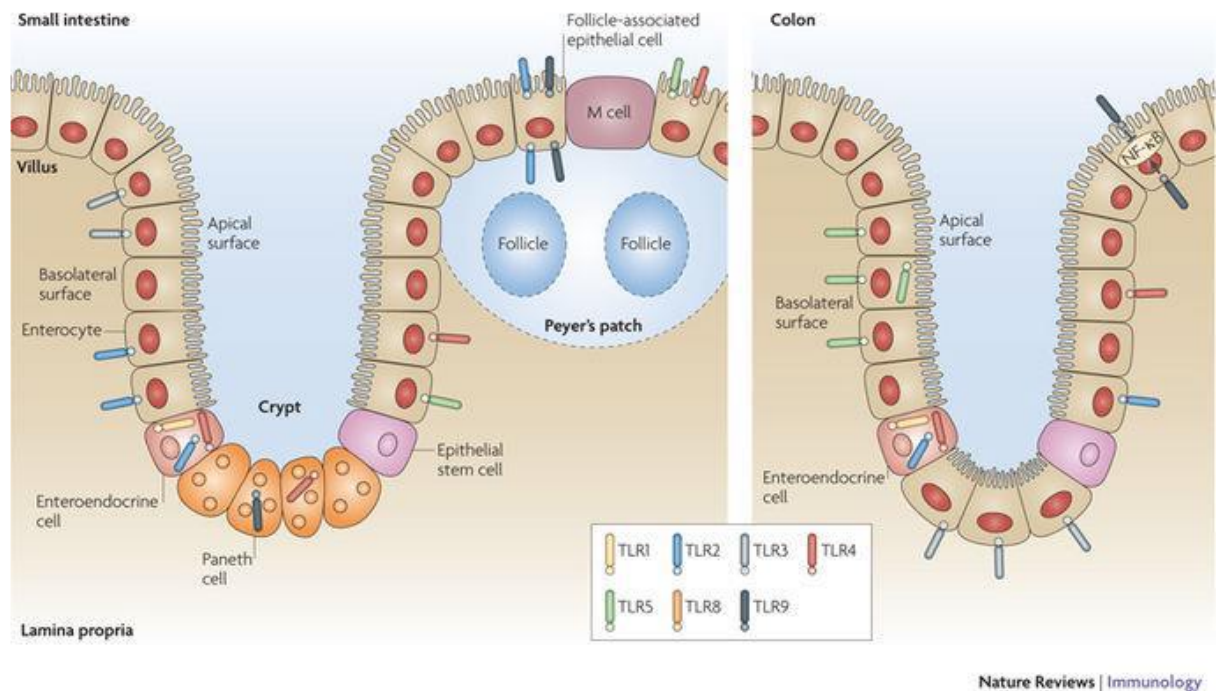


Figure 2: Epithelium intestinal (6)

Les cellules majoritairement retrouvées sont les **entérocytes** (ou **côlonocytes** au niveau du côlon). Ce sont des cellules pourvues de **microvillosités** ayant différentes fonctions. Elles permettent l'absorption des nutriments, grâce notamment à la production d'enzymes spécifiques et jouent également un rôle de protection par un effet barrière (5).

les autres cellules sont des cellules sécrétrices :

- les cellules **caliciformes** qui sécrètent le mucus,
- les cellules **endocrines**,
- dans l'iléon **les cellules M** sont retrouvées au niveau des **plaques de Payer** où elles reconnaissent et captent les antigènes et les micro-organismes présents dans la lumière intestinale,

au fond des **cryptes** de l'intestin grêle on retrouve **les cellules de Paneth** participant au système **immunitaire inné** en sécrétant des peptides antimicrobiens.

Sous l'épithélium de revêtement se situe un tissu conjonctif de soutien appelé **lamina propria** ou **chorion**. Ce tissu comporte un réseau vasculaire et lymphatique **très dense** qui permet l'absorption des nutriments digérés. Il renferme également de nombreux éléments cellulaires participant au système immunitaire, qui servent de ligne de défense contre les microbes qui auraient franchi l'épithélium intestinal.

### 3- Composition:

Chaque individu abrite dans son tube digestif  $10^{14}$  micro-organismes qui composent son microbiote intestinal, ce qui est **10 fois** plus important que le nombre total de cellules eucaryotes dans le corps humain (7).

Des variations **qualitatives** et **quantitatives** de la flore intestinale sont observées tout au long du tube digestif de la bouche à l'anus. La flore buccale est très diversifiée et comprend des bactéries aérobies et anaérobies, la flore gastrique est en revanche limitée quantitativement et qualitativement. Les concentrations varient de manière croissante, en effet, au niveau de l'estomac il y a quelques centaines de bactéries par gramme de contenu alors qu'au niveau du côlon distal on retrouve  $10^{11}$  bactéries par gramme de contenu (8).

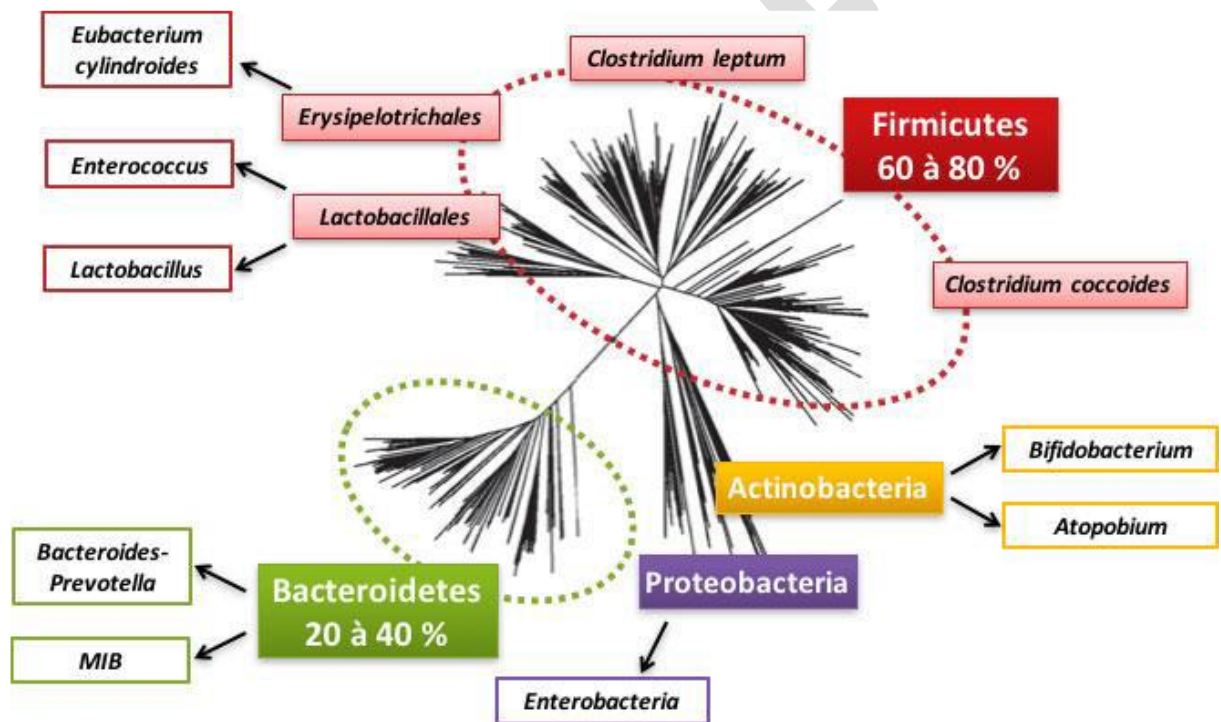


Figure 3: Arbre phylogénétique représentant les différents sous-ensembles (phyla) des groupes bactériens composant le microbiote intestinal (9)

#### 3-1-le phylum des Firmicutes:

Les Firmicutes sont des bactéries à gram positif. Elles représentent habituellement plus de la moitié des micro-organismes de la flore ; Ce phylum comporte 3 classes de bactéries :

- la classe I des **Clostridia** qui contient les genres *Clostridium*, *Ruminococcus* et *Faecalibacterium*,
- la classe II des **Mollicutes** contenant les bactéries du genre *Mycoplasma*
- la classe III des **Bacilli** contenant les genres *Listeria*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Streptococcus*.



### ***3-2-le phylum des Bacteroidetes :***

Ce phylum représente jusqu'à 30% de la population bactérienne.

On y retrouve notamment les bactéries du genre *Bacteroides* qui sont des bactéries sous forme de bacille gram négatif anaérobie et le genre *Prevotella*.

### ***3-3-le phylum des Actinobacteria :***

Les Actinobacteria représentent en général moins de 10 % de la population du microbiote. Ce sont des bactéries gram positif, notamment des genres *Actinomyces*, *Mycobacterium* ou *Bifidobacterium*.

On trouve également des bactéries du phylum des ***Proteobacteria***, contenant l'ordre des Entérobactériales qui sont des bactéries anaérobies facultatives que l'on retrouve en faible quantité.

De façon minoritaire, on retrouve des bactéries des phyla ***Fusobacteria***, ***Verrucomicrobia*** et ***Spirochaetes***.

- La composante fongique est constituée de champignons et de levures.

- Des **archées** sont également retrouvées : ce sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes. Elles ont longtemps été considérées comme des bactéries mais les analyses génétiques et les méthodes de classification phylogénétiques ont permis de justifier la création d'un groupe à part entière. Dans le tractus digestif humain, ces archées sont en grande majorité méthanogènes.

- Les **virus** sont des agents infectieux qui nécessitent un hôte. Ils utilisent le métabolisme et les constituants de son hôte pour se répliquer.

On retrouve une importante quantité de virus **bactériophages**, **archaeophages** ou **prophages**, insérés dans certains génomes bactériens. Les phages, en infectant et en lysant certaines bactéries sont impliqués dans le maintien de la diversité des espèces microbiennes.

Il a été établi que l'ensemble des individus peuvent être répartis en 3 groupes ou entérotypes distincts selon **la signature bactérienne** caractérisée par un genre bactérien dominant parmi *Prevotella*, *Bacteroides* et *Ruminococcus*.

## ***4- Diversité :***

Bien qu'il puisse exister un noyau commun caractérisé par la présence de phyla dominants, on peut noter une certaine hétérogénéité individuelle. En termes d'abondance, de nature des genres et d'espèces bactériennes, le microbiote humain s'organise en trois configurations préférentielles.

Ces trois **entérotypes**, ou **signatures bactériennes intestinales**, sont respectivement dominés par les genres *Bacteroides*, *Prevotella*, et *Ruminococcus*. Ils sont indépendants de l'origine géographique de l'individu, de son âge, son état de santé, ou son mode de vie, bien que l'alimentation puisse avoir un impact majeur. L'entérotype *Prevotella* serait dominant chez les individus consommant beaucoup de fruits et légumes, tandis que l'entérotype *Bacteroides* serait prépondérant chez les individus ayant un régime occidental riche en sucres rapides, en protéines et graisses animales (10).

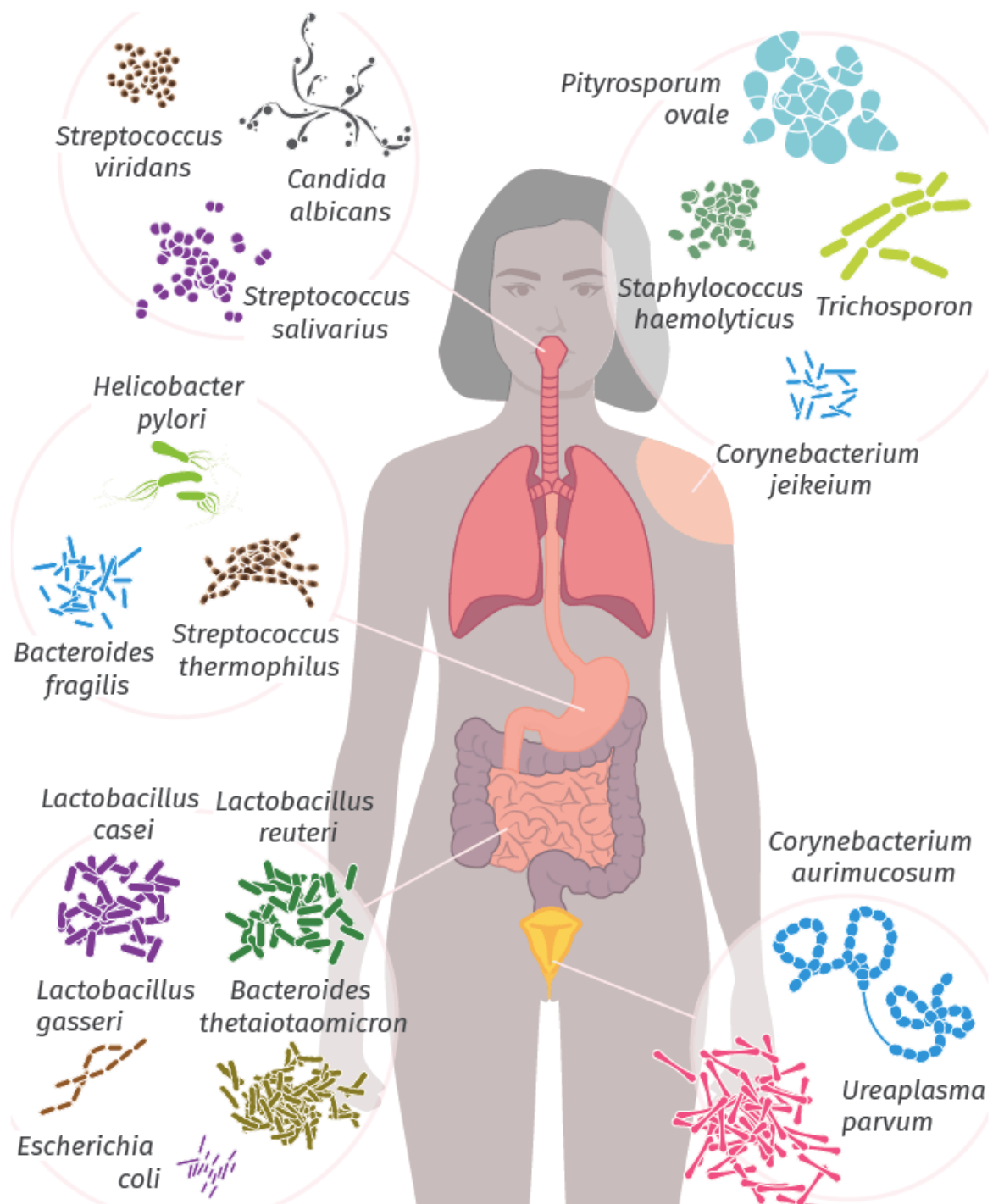


Figure 4: Diversité du microbiote intestinal (11)

Chaque entérotype est associé à une fonction métabolique. Pour les *Bacteroides*, il s'agit de la biosynthèse de la biotine. Les *Ruminococcus* ont pour fonction principale la biosynthèse de l'hème, tandis que les *Prevotella* permettent la biosynthèse de la thiamine (10).

Le tube digestif présente une diversité tant longitudinale que transversale. En effet, il se compose d'une succession de compartiments avec des propriétés physico-chimiques qui leur sont propres. Chacun de ces compartiments abrite des niches écologiques spécifiques, mais le côlon contient la population microbienne la plus dense. Transversalement, deux niches écologiques se distinguent en strates: la lumière intestinale d'une part, le mucus intestinal d'autre part (10).

### ***5-Méthodes d'analyse de la composition du microbiote intestinal :***

Plusieurs méthodes se confrontent pour analyser le microbiote intestinal (Figure2), chacune ayant des avantages et des inconvénients.

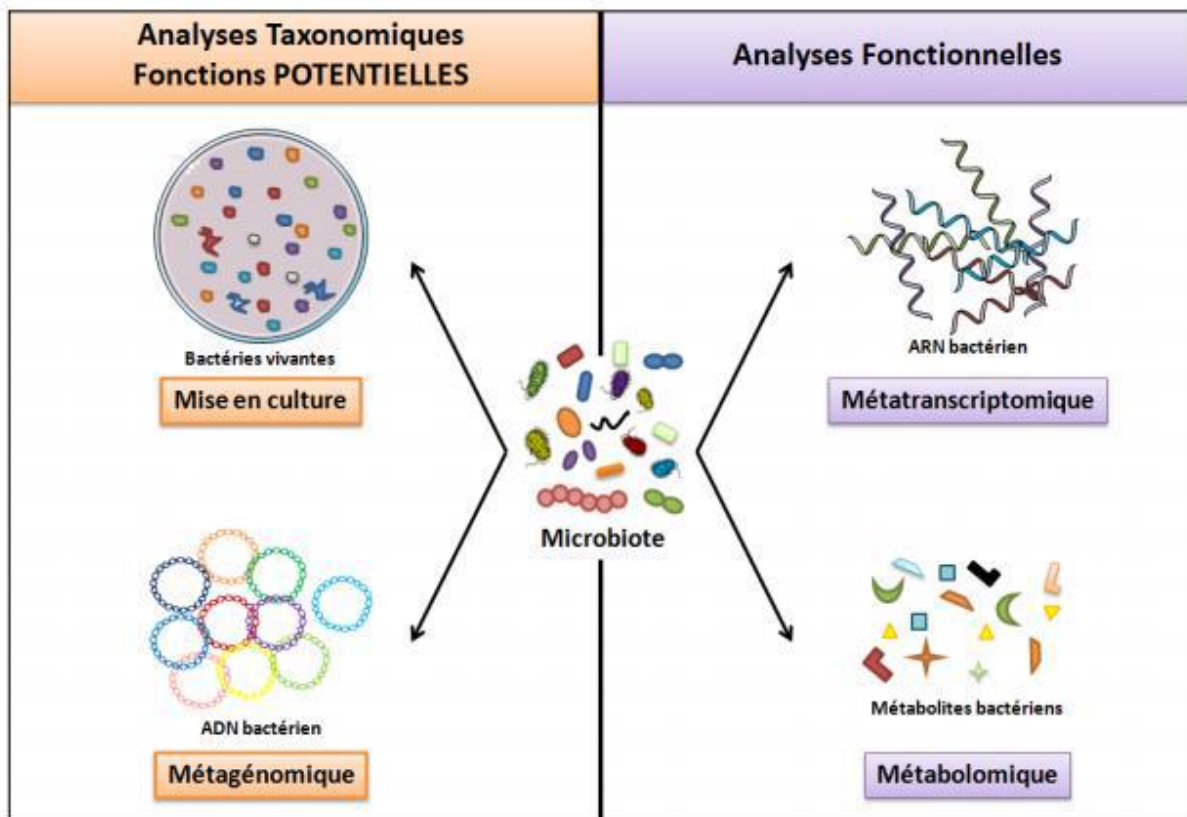


Figure 5: Principales méthodes d'analyses du microbiote intestinal (12)

## ***5-1-Les techniques basées sur la culture :***

Jusqu'à la fin du XXe siècle, la composition du microbiote intestinal était étudiée uniquement par les techniques bactériologiques classiques fondées sur la culture de selles sur différents milieux dans des atmosphères variées permettant une analyse simple, peu coûteuse, et avec une bonne sensibilité ( $10^2$  unités formant colonie/g (UFC/g) de selles). Néanmoins, cette méthode n'est pas appropriée pour la culture des bactéries anaérobies strictes, rendant difficile la caractérisation du microbiote intestinal, puisque 80% des espèces ne sont pas cultivables in vitro.

La technique de la « **culturomique** » consiste à cultiver des échantillons de selles dans un large panel de conditions différentes, en faisant varier les milieux et les atmosphères. Elle identifie ensuite toutes les colonies isolées par spectrométrie de masse **MALDI-TOF**, ce qui permet d'identifier plus d'espèces. Cette technique possède également une bonne sensibilité, avec un seuil de détection estimé à  $10^2$  **UFC/g** de selles. Toutefois, les bactéries anaérobies strictes restent incultivables.

## ***5-2-Techniques basées sur la biologie moléculaire :***

### ***5-2-1- L'ARN ribosomal 16S :***

Grâce à l'avènement de la biologie moléculaire et le développement du **séquençage**, la composition du microbiote intestinal a pu être étudiée plus en détail. Le séquençage du gène codant l'ARN ribosomal 16S obtenu d'un extrait d'ADN total sur échantillon de selles, est majoritairement utilisé. Ce marqueur bactérien universel est en effet présent chez toutes les bactéries, avec des régions conservées et des régions hypervariables spécifiques à chaque espèce bactérienne (13).

C'est une technique à coût modéré permettant une meilleure caractérisation de la composition et de la diversité du microbiote intestinal que la **culture classique** ou la **culturomique**. Cependant les inconvénients sont nombreux : l'existence de biais liés à l'amplification, l'identification est souvent limitée au genre et la sensibilité est médiocre ( $10^6$  UFC/g de selles).

Les techniques de séquençage dites de « **nouvelle génération** » telles que le **pyroséquençage 454**, les méthodes **Illumina** ou **SOLiD** permettent le séquençage d'amplicons d'ADNr 16S sans passer par une étape de clonage, et permettent également le séquençage parallèle de beaucoup d'échantillons dans un même temps.

Ce sont des techniques rapides qui permettent l'identification **phylogénétique**, la détection et l'identification de nouvelles espèces bactériennes. Ainsi, le **pyroséquençage** par exemple, a été utilisé pour comparer les microbiomes d'individus minces et obèses ou encore pour comparer les microbiomes de patients atteints du syndrome de l'intestin irritable et de contrôles sains (14).

Afin de déterminer la composition bactérienne, les ADNr 16S séquencés sont assemblés en Unités Taxonomiques Opérationnelles (**OTUs**) basées sur leur pourcentage d'identité de séquence. Ce pourcentage est utilisé pour déterminer les niveaux taxonomiques : Des **OTUs** contenant des séquences avec plus de 99% d'identité sont des taxa de niveau souche.

Des OTUs contenant plus de 97% d'identité sont considérés comme étant de la même espèce. Des OTUs d'espèces différentes mais appartenant au même genre ont des identités de séquence supérieures à 95%. Enfin des OTUs avec plus de 90% d'identité correspondent au niveau taxonomique de la famille (15).

#### *5-2-2-L'hybridation in situ en fluorescence :*

L'hybridation in situ en fluorescence est basée sur l'utilisation des sondes oligonucléotidiques couplées à un marqueur fluorescent qui s'hybrident à des séquences d'ARNr 16S complémentaires spécifiques d'une espèce ou d'un groupe bactérien. Quand l'hybridation se produit, les événements de fluorescence peuvent être comptés et triés en utilisant la cytométrie en flux (16). C'est une technique semi-quantitative rapide et peut être réalisée directement sur des échantillons frais, évitant ainsi des biais dus aux traitements des échantillons avant analyse. Cependant cette technique ne permet pas de détecter de nouvelles espèces bactériennes puisqu'elle nécessite la connaissance préalable de la séquence de l'ARNr 16S des bactéries ciblées.

#### *5-2-3-Les techniques d'empreintes :*

Les techniques d'empreintes (**fingerprinting**) sont des méthodes qui permettent de générer un profil ADN microbien formé par les différents fragments d'ADN bactériens de chaque échantillon et comparer différentes communautés microbiennes présentes dans différents échantillons.

Les gènes codant les ARNr 16S sont amplifiés puis séparés par une électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE) (17) ou par une électrophorèse sur gel en gradient de température (TTGE) (18). Les bandes d'intérêts peuvent être prélevées et ensuite séquencées.

Les techniques d'empreintes permettent l'identification des phylotypes les plus abondants et la comparaison rapide entre des individus malades et des individus sains (19). Cependant cette technique ne permet pas de fournir une identification phylogénétique directe ni d'avoir l'accès aux phylotypes sous-dominants du microbiote intestinal.

#### *5-2-4-Les micro-puces à ADN :*

C'est une technologie haut-débit qui permet l'identification phylogénétique des bactéries du microbiote intestinal (20 -21) en utilisant des amplicons d'ARNr 16S ou bien de l'ADN

extrait de fèces. Les sondes oligonucléotidiques couplées à des marqueurs fluorescents sont fixées sur une lame de verre et s'hybrident aux molécules d'ADN (ou d'ARN 16S) complémentaires. La fluorescence qui en résulte est alors détectée par un laser.

C'est une technique rapide et semi quantitative qui permet la détection de plusieurs espèces simultanément. Cependant, plusieurs sondes peuvent s'hybrider sur une même cible (phénomènes d'hybridations croisées) et la détection des espèces est limitée par les sondes placées sur la puce.

#### ***5-2-5-La PCR quantitative :***

C'est une technique qui permet la quantification des bactéries ou un groupe bactérien spécifique par amplification de séquences d'ADNr 16S spécifiques d'espèces bactériennes (ou d'un groupe bactérien) (22) en utilisant des amorces complémentaires fluoromarkées. Elle consiste à estimer les quantités d'ADNr 16S cibles présents dans l'échantillon à l'aide d'une courbe standard issue d'amplifications parallèles d'un nombre de copies connues. L'intensité du signal est proportionnelle à la quantité d'ADNr 16S cible présent dans l'échantillon.

La PCR quantitative est une technique rapide et précise. Cependant, elle est axée sur des groupes bactériens connus au départ et ne peut pas identifier de nouvelles espèces bactériennes.

#### ***5-2-6-La Métagénomique par séquençage de type « shotgun » :***

La **métagénomique** représente l'avancée la plus récente dans le développement de l'analyse du microbiote intestinal. Elle consiste à analyser l'ensemble des génomes bactériens présents dans un écosystème donné par séquençage direct de l'ensemble de l'ADN d'un échantillon de selles, par fragmentation aléatoire « shotgun » sans étape d'amplification. Elle permet d'une part une identification plus complète et mieux représentative de la diversité du microbiote, et d'autre part la caractérisation des fonctions métaboliques du microbiote.

L'étude **MetaHIT**, lancée en 2008 et coordonnée par l'INRA a été fondée sur l'analyse métagénomique d'échantillons de selles recueillies auprès de 124 personnes. Elle a ainsi identifié un total de 3,3 millions de gènes différents, appartenant à plus de 1 000 espèces différentes, dont une large majorité est d'origine bactérienne. Au plan individuel, cette étude a montré que chaque individu portait en moyenne 540 000 gènes microbiens, soient plus d'une centaine d'espèces. Il y a donc 150 fois plus de gènes dans le génome du microbiote que dans le génome humain. Ce fut surtout la première étude à démontrer l'extrême richesse de la flore intestinale, en identifiant des centaines d'espèces bactériennes inconnues jusque-là.

La métagénomique est un outil très puissant permettant la description du potentiel génétique des micro-organismes présents dans un environnement défini, mais ne permet pas un suivi de leur activité ou de leurs expressions géniques. Comme il est important de noter que cette technique indépendante de la culture souffre d'un manque de sensibilité ( $10^6$  UFC/g de selles), soit un nombre 10 000 fois plus faible que celui de la culture classique (23).

#### ***5-2-7-La métatranscriptomique :***

La métatranscriptomique repose sur l'extraction et l'analyse des séquences d'ARNm d'une communauté microbienne dans le but de caractériser les profils d'expression génique qui en découle. Cette technique permet ainsi d'obtenir des informations phylogénétiques de même que la connaissance des fonctions exprimées par cette communauté. A l'heure actuelle, peu d'études métatranscriptomiques se sont réalisées sur le microbiote intestinal. Des puces à ADNc ont par exemple été utilisées pour étudier l'activité de certaines bactéries au sein du tractus digestif (24-25). Plus récemment, Gosalbes et coll. ont analysé le métatranscriptome fécal de 10 individus en bonne santé (26). Cependant le nombre de copies d'ARN transcrit est très variable selon le gène considéré, ce qui risque évidemment de biaiser le calcul de l'abondance relative. D'autre part, la présence d'un transcrit n'indique pas que ce dernier sera nécessairement responsable de la synthèse d'une protéine fonctionnelle dans le milieu. Par ailleurs, le temps de demi-vie de l'ARNm est relativement court et l'ARNm ne représente qu'une petite fraction de l'ARN total extrait (comparativement aux ARNr et aux ARNt) (27-28).

#### ***5-2-8-La métaprotéomique :***

Les protéines sont responsables du phénotype de l'organisme étudié et représentent de bons marqueurs biologiques des cycles métaboliques susceptibles de se produire dans un milieu donné (29).

Cette approche repose sur la séparation des protéines à étudier par une électrophorèse à 2 dimensions, suivie d'une digestion enzymatique et une ionisation avant l'identification par spectrométrie de masse et par comparaison à des bases de données de référence. Les étapes de séparation des protéines peuvent être modifiées de manière à sélectionner les protéines de l'hôte qui interagissent avec des protéines microbiennes spécifiques, permettant d'avoir un aperçu sur les interactions impliquées dans le maintien de la symbiose hôte-microbiote (30). Cependant les inconvénients de cette technique résident dans l'efficacité des protocoles d'extraction et de purification qui doivent prendre en compte la localisation des protéines à extraire, soit de façon intra- ou extracellulaire, ou encore en liaison à des particules minérales ou organiques (31).

### ***5-2-9-La métabolomique :***

La métabolomique correspond au criblage non sélectif des liquides biologiques dans le but de révéler et de distinguer les métabolites issus du microbiote et ceux issus du métabolisme de l'hôte.

La teneur des métabolites présents dans un système biologique informe sur le niveau ultime de l'expression génique tout en incluant la contribution des apports exogènes via l'alimentation et les interactions entre le microbiote intestinal et son hôte. Une analyse métabolomique requiert une technique de séparation telle que l'électrophorèse par capillaires ou la chromatographie gazeuse ou liquide, suivie de la spectrométrie de masse. On peut également utiliser la résonance magnétique nucléaire (RMN) couplée à la spectroscopie du fait qu'elle est plus reproductible que celle utilisant la spectrométrie, par contre cette dernière est plus sensible.

Parmi les difficultés rencontrées dans cette approche : la grande diversité des métabolites qui ne peuvent être déduits du génome et le manque de banques de données métabolomiques qui empêche l'identification structurale de nouveaux métabolites qui n'ont pas été déjà caractérisés (32). Enfin, il existe également des problèmes de reproductibilité et de standardisation inter-plateformes.

### ***6-Mise en place du microbiote intestinal dans l'intestin:***

Le microbiote intestinal est ***un écosystème dynamique***, dont la composition varie selon bon nombre de facteurs : la génétique, l'alimentation, la prise médicamenteuse, les changements de régimes alimentaires... Toutefois, le microbiote intestinal tente toujours de faire face aux perturbations pour se rapprocher de sa composition initiale (33).

#### ***6-1-Facteurs propres à l'individu:***

La composition du microbiote serait en partie due à notre génétique. Cela a été étudié sur des jumeaux monozygotes, en effet, ces derniers vivant dans des conditions de vie semblables présentaient un microbiote similaire tandis que des personnes partageant le même environnement mais moins proches génétiquement (frères et sœurs par exemples) présentaient un microbiote plus distinct (33).

#### ***6-2-Mode d'accouchement:***

Les chercheurs ont identifié des différences de composition du microbiote intestinal chez les nourrissons selon qu'ils soient nés par césarienne ou par voie naturelle.

En effet, les enfants nés par voie vaginale présente un microbiote proche du microbiote vaginal et fécal de leur mère tandis que ceux nés par césarienne sont exposés à l'environnement hospitalier et au microbiote cutané de la mère (34, 35).



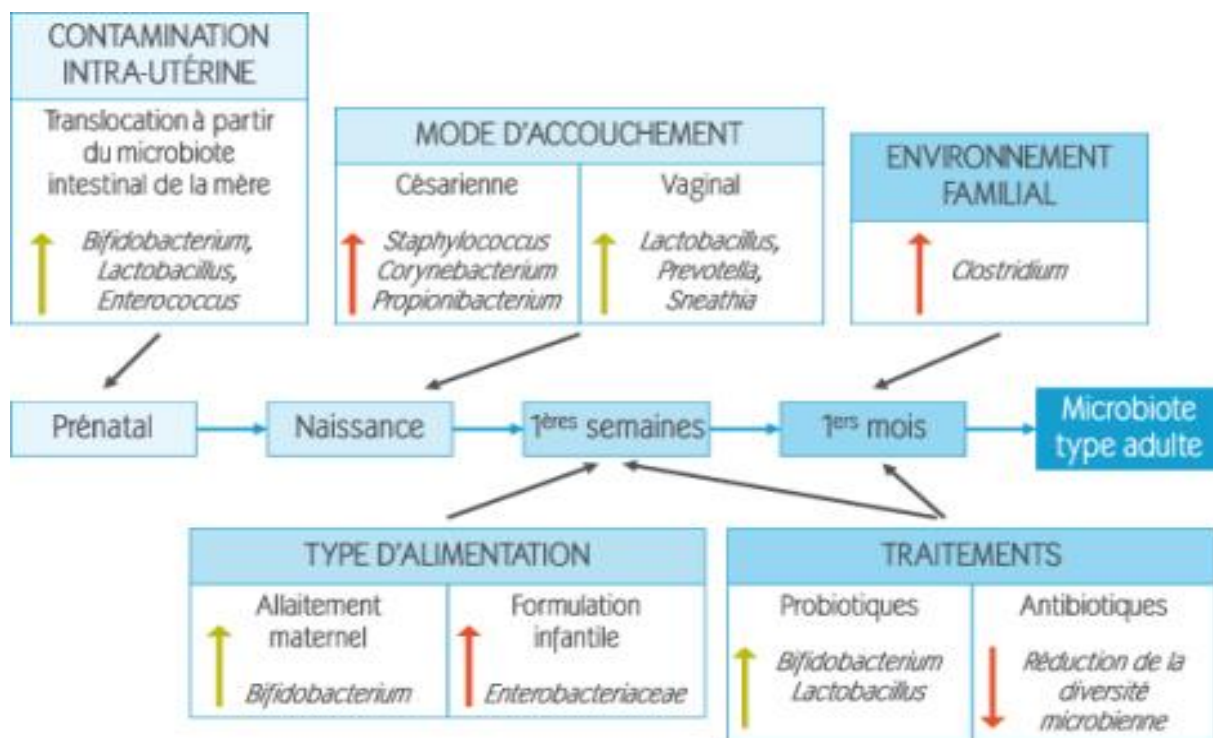


Figure 6: Facteurs influençant l'établissement, l'évolution et la stabilité du microbiote intestinal (36)

Ces études ont montré que les enfants nés par voie basse ont une forte proportion de *Lactobacillus* et de *Prevotella*. Les enfants nés par césarienne présentaient une plus faible proportion de *Bifidobactéries* et *Bacteroides fragilis* comparés aux autres et étaient par contre d'avantage colonisés par *Clostridium difficile*.

Le terme de la grossesse semble également jouer un rôle dans la mise en place du microbiote intestinal. Les enfants nés prématurément ont un microbiote moins diversifié et les espèces anaérobies strictes semblent s'implanter plus tardivement que chez les nourrissons nés à terme. Toutefois, cela pourrait être dû au fait que les prématurés naissent souvent par césarienne et reste hospitalisés plus longtemps avec souvent un traitement antibiotique (35).

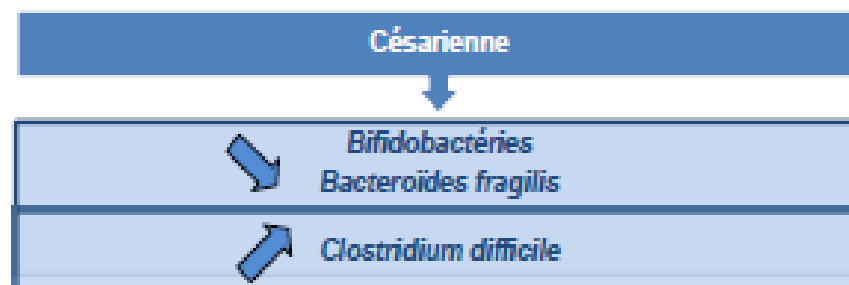


Figure 7: Influence de d'accouchement sur la composition du microbiote (35)

## 6-3- L'alimentation :

### 6-3-1- Lait maternel et lait infantile :

L'alimentation contribue aussi à l'instauration du microbiote. Des études se sont intéressées à la différence de composition du microbiote intestinal de nourrissons nourris au lait maternel ou avec des préparations infantiles (34).

Les enfants nourris au sein présentent un microbiote riche en *Bifidobactéries* et *Lactobacilles* et une proportion moindre d'*Escherichia coli* et de *Clostridium difficile* (34).

Les enfants nourris au lait infantile ont un microbiote plus complexe, les *Bifidobactéries* sont toujours très présentes mais en plus faible proportion que chez les enfants allaités et on retrouve une abondance importante de *Bacteroides*, *Clostridium* et *Staphylococcus* (37).

Le lait maternel, contrairement au lait de vache, est très riche en lactose. Le lactose entraîne une forte production d'acide lactique grâce au métabolisme microbien, ce milieu acide va favoriser la croissance des *Bifidobactérium* et *Lactobacillus*. Les Oligosaccharides (prébiotiques) du lait maternel sont également bifidogènes (38). Le lait maternel est de plus naturellement riche en bactéries commensales telles que des *Staphylocoques*, *Streptocoques* et *Bifidobactéries*. (39)

Il a été observé que les enfants nourris au sein présentaient moins risque de Développer des diarrhées infectieuses et des allergies.

Toutefois, les préparations infantiles tendent à se rapprocher de la composition du lait maternel. Avec l'avènement du rôle du microbiote intestinal, on trouve désormais de nombreuses préparations enrichies en probiotiques ou prébiotiques pour favoriser la digestion des nourrissons et conférer à l'enfant nourri avec ces laits un Écosystème intestinal proche de celui des enfants nourris au sein (40).

Lait maternel	Lait infantile
Bifidobactéries +++	Bifidobactéries ++
Lactobacillus +++	Bacteroides +
Bacteroides +	Clostridium +
	Staphylocoques +

Figure 8:Composition du microbiote selon l'alimentation du nouveau-né (40)

Une étude présentée en 2016 par la Society for Maternal-Fetal Médecine d'Atlanta (39) s'est intéressée à l'impact que pouvait avoir l'alimentation de la mère allaitante sur le microbiome du nourrisson. Dans cette étude, 2 cohortes de femmes allaitant leurs bébés suivaient deux régimes alimentaires différents. La première cohorte (7 femmes) recevait 60 % de leur apport calorique quotidien en glucose ou en galactose. Dans la seconde cohorte (7 femmes) les femmes ont reçu soit un régime riche en graisses, soit riche en glucides. Des échantillons de lait ont été analysés à la fin de chaque régime.

Il a été montré que le microbiome du lait maternel varie suivant l'alimentation maternelle et semble corrélé au métabolisme de l'alimentation consommée.

L'analyse du microbiome du lait de femme montre qu'un régime enrichi en galactose augmente l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme, la signalisation, et la motilité si on compare au microbiome des femmes consommant un régime enrichi en glucose.

### 6-3-2- Alimentation de l'adulte :

Lors de la diversification alimentaire, les différences de composition initiale du microbiote intestinal tendent à disparaître. Le microbiote va se complexifier avec notamment un enrichissement en *Bacteroides*, *Entérocoques*, et *Streptocoques*. On considère que le microbiote est « adulte » vers l'âge de 2 ans (41).

Le microbiote reste assez stable dans le temps, chaque individu a une « signature » qui lui est propre. Nous avons vu précédemment la notion d'entérotipe, caractérisé par l'abondance relative en *Bacteroides* (entérotipe 1), *Prevotella* (entérotipe 2) ou *Ruminococcus* (entérotipe 3). L'entérotipe pourrait être lié aux habitudes alimentaires sur le long terme. D'après l'étude du Perelman School of Médecine de Philadelphie, un régime riche en graisses et protéines animales (Western diet) conduit aux entérotypes 1 et 3, tandis qu'un régime riche en sucre et carbohydrates (type régime végétarien) conduit à un entérotipe 2.

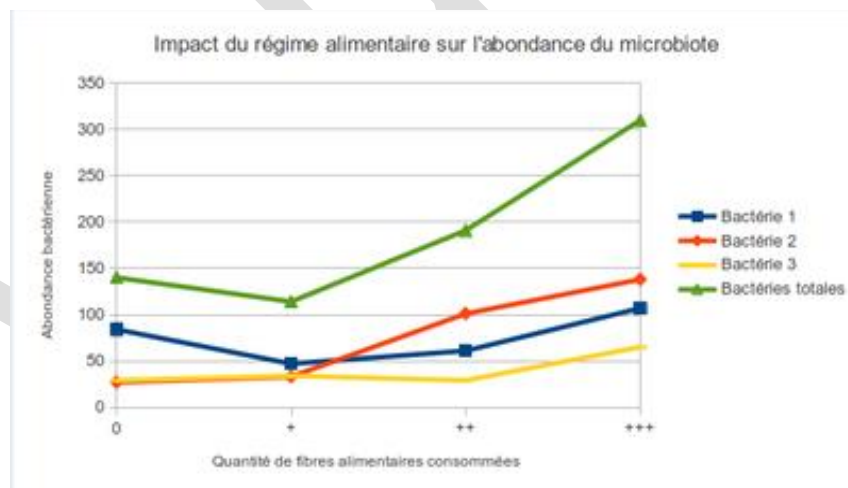


Figure 9: impact du régime alimentaire sur l'abondance du microbiote (42)

Une alimentation riche en fibres conduit à un microbiote riche, c'est-à-dire présentant une plus grande diversité et stabilité dans le temps.

Une étude de 2014 (43) a montré que la composition du microbiote intestinal s'adaptait très rapidement au type de régime alimentaire. Pour cela il a étudié la composition du microbiote de 11 sujets qui passaient successivement d'un régime omnivore à un régime végétarien puis à un régime ne contenant que des produits d'origine animale. Le microbiote

passait ainsi d'un entérotipe 2 pour le régime végétarien à un entérotipe 1 pour le régime carnivore. Ces données laissent à penser que l'on pourrait moduler notre microbiote intestinal avec notre alimentation.

#### **6-4-L'environnement:**

L'environnement de l'enfant joue un rôle dans le développement de son microbiote, en effet il détermine l'exposition aux bactéries. Les procédures d'hygiène strictes dans les maternités pourraient être à l'origine d'une exposition diminuée de l'enfant aux microorganismes et entraînerait une colonisation retardée par les *Bacteroidetes* et *Bifidobactérium* (44).

Une étude a également mis en évidence qu'un nouveau-né ayant des frères et sœurs plus âgés présentait une abondance de *Bifidobactéries* plus élevée que les enfants uniques (34).

Une enfance dans un environnement de type ferme, avec présence d'animaux permettrait d'enrichir le microbiote et favoriserait la diversité (34).

#### **6-5-Exposition aux antibiotiques:**

L'antibiothérapie a pour effet délétère d'altérer considérablement le microbiote intestinal. Une étude réalisée par **Penders et al** a montré que l'administration d'antibiotiques chez l'enfant durant le premier mois de vie entraîne une diminution de l'abondance de *Bifidobacterium* et de *Bacteroides fragilis*. De plus, cette altération du microbiote peut favoriser par la suite la colonisation par des espèces pathogènes opportunistes résistantes aux antibiotiques.

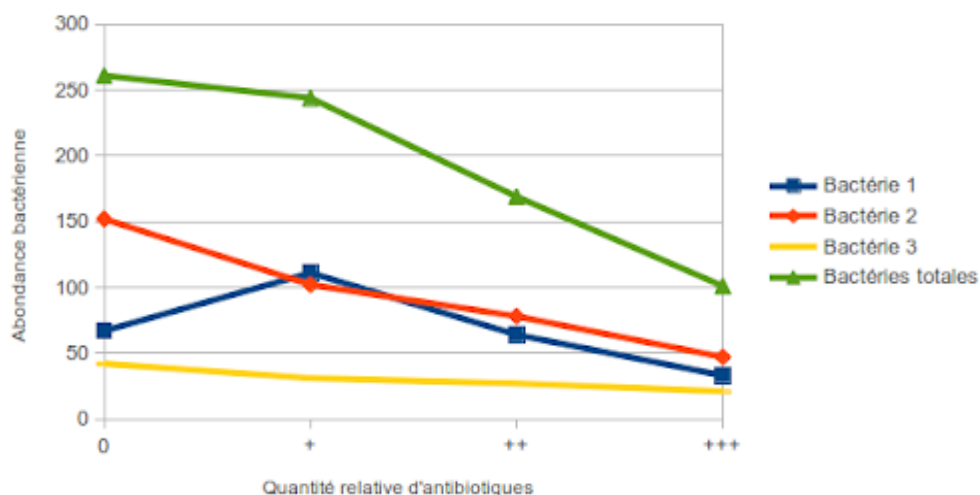


Figure 10: impact des antibiotiques sur l'abondance du microbiote intestinal (42)

Le microbiote intestinal est désormais considéré par la communauté scientifique comme un organe à part entière. Il se met en place dès les premières minutes de vie et deviendra une véritable signature individuelle stable au cours des années. À l'âge adulte, des

traitements médicamenteux, ou un régime alimentaire ponctuel peuvent le modifier temporairement, mais notre écosystème bactérien a une aptitude à être résilient et à retrouver rapidement son état d'équilibre. Toutefois, de mauvaises habitudes alimentaires sur le long terme pourraient entraîner une modification durable du microbiote.

Il s'avère, également que le microbiote intestinal joue un rôle clé dans différentes fonctions physiologiques et qu'il peut également être impliqué dans certaines pathologies.

## ***7-Les fonction de la flore intestinale :***

Le microbiote participe à la synthèse vitaminique, les bactéries de la flore peuvent notamment produire de la biotine (vit B8), des folates (vit B9) et de la vitamine B12. Elles participent également à la production de vitamine K, vitamine essentielle de la coagulation. Le microbiote peut de plus intervenir dans le métabolisme des xénobiotiques.

Par certaines de ses fonctions, la flore intestinale joue notamment un rôle de support pour l'épithélium intestinal, En effet, elle assiste l'épithélium intestinal dans ses fonctions de digestion et d'absorption des nutriments, en permettant la digestion des nutriments qui ne sont pas pris en charge par les enzymes humaines. Le microbiote va avoir un rôle de fermentation et la putréfaction des résidus alimentaires non digestibles, en produisant des acides gras à courtes chaînes (**AGCC**), sources d'énergie.

La flore participe également au rôle de barrière, pour maintenir un équilibre stable au sein de la muqueuse intestinale et constituer une ligne de défense face aux agressions de l'environnement.

### ***7-1-Fonction de barrière et de protection :***

#### ***7-1-1- Effet barrière :***

Afin d'assurer l'homéostasie et d'empêcher le développement de pathogènes, la muqueuse intestinale a développé plusieurs systèmes de défense, largement sous le contrôle du microbiote intestinal.

Tout d'abord, le microbiote intestinal entre en compétition avec les pathogènes pour les nutriments et les récepteurs d'adhésion épithéliaux. Les bactéries commensales sécrètent également des **bactériocines** qui inhibent la croissance de souches bactériennes proches de la bactérie productrice. Ces bactériocines ont bien souvent **un spectre d'action plutôt étroit**.

Le microbiote intestinal est capable de synthétiser des acides gras qui diminuent le **pH** local et empêchent la prolifération de certains pathogènes. Enfin, la transformation d'acides biliaires primaires en acides biliaires secondaires par le microbiote peut rendre l'environnement hostile à la prolifération de certains pathogènes. C'est le cas de ***Clostridium difficile*** qui ne peut se développer correctement en présence d'acide désoxycholique. Ces mécanismes de protection sont appelés « **effets barrière directs** » (45).

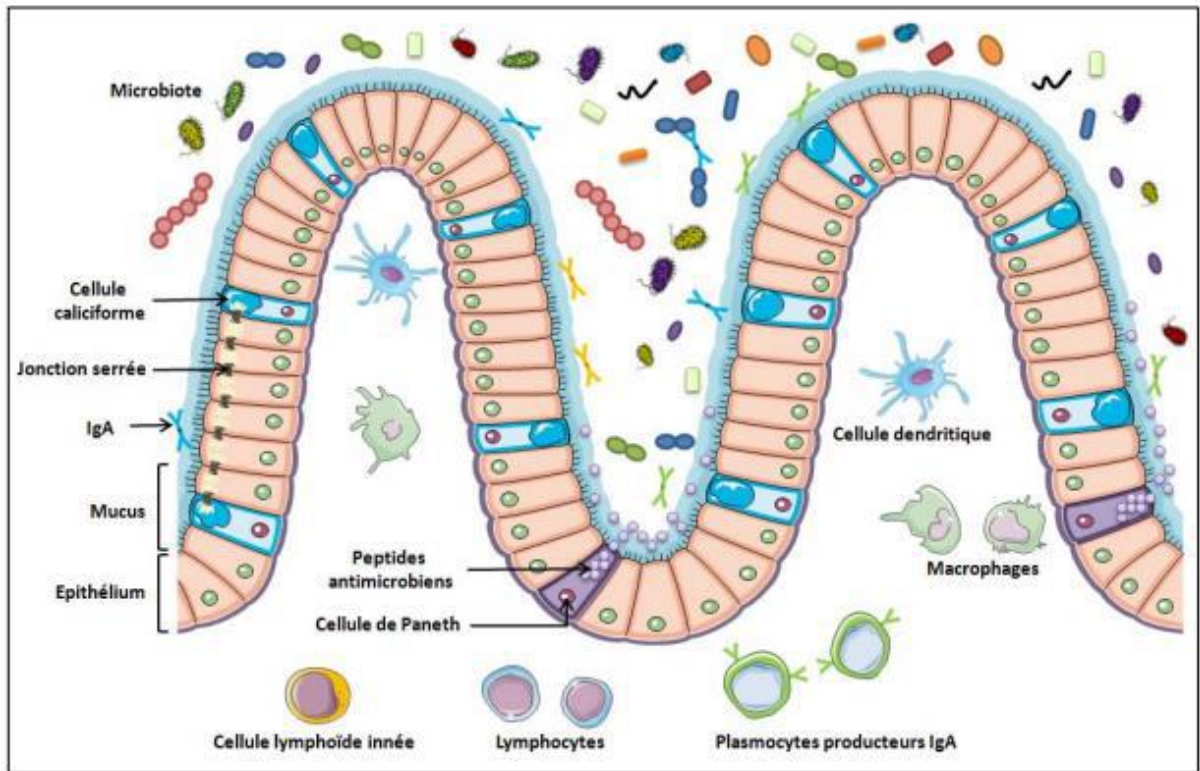


Figure 11: Organisation schématique de la barrière intestinale (46)

Le microbiote intestinal utilise également plusieurs mécanismes indirects. Il participe au maintien de la couche de mucus présente au niveau du pôle apical des cellules épithéliales de l'intestin. Les bactéries et leurs produits maintiennent une certaine distance avec les cellules de l'hôte en régulant la quantité de mucus produite en modulant les gènes codant pour les mucines.

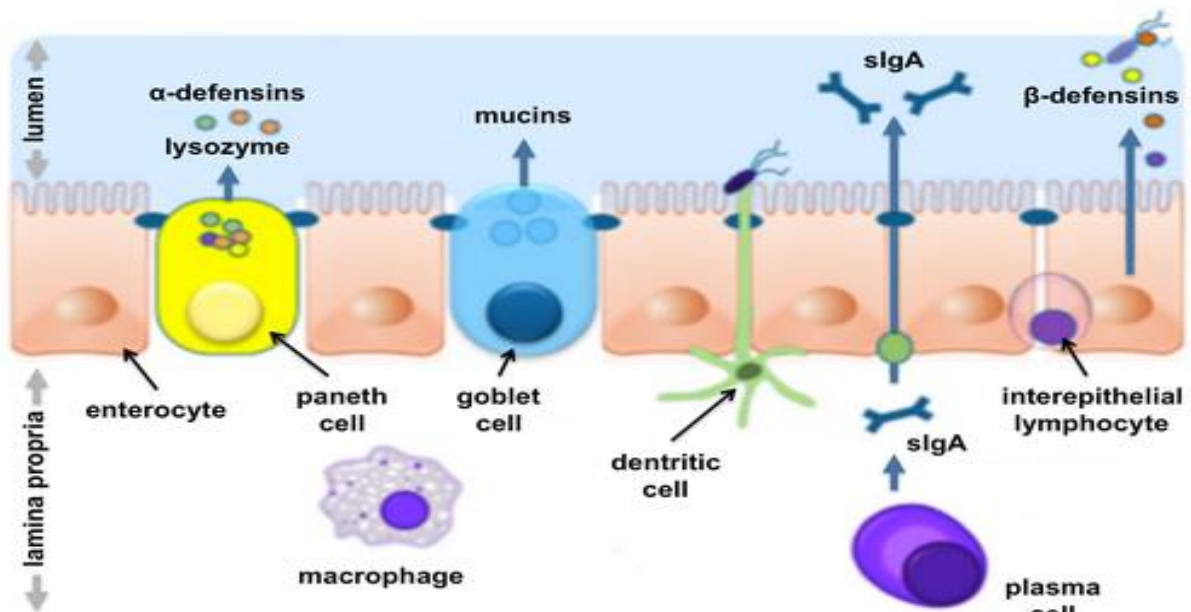


Figure 12: Effet barrière du microbiote intestinale (46)

D'autre part, la communication étroite entre les cellules épithéliales et les bactéries commensales aboutit à la production de peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales, les entérocytes et les cellules de Paneth (47).

Par ailleurs, la sécrétion d'IgA par les plasmocytes de la muqueuse intestinale limite le contact du pathogène avec la surface épithéliale et son entrée dans la muqueuse.

Enfin, le microbiote intestinal influence la réparation épithéliale, et impacte l'expression des gènes codant pour les protéines formant les jonctions serrées des cellules épithéliales et participe à cet effet barrière **indirect** (45,47).

### 7-1-2- Microbiote intestinal et système immunitaire :

Outre ses propriétés de barrière, le microbiote intestinal impacte fondamentalement le système immunitaire. Cette découverte vient de l'observation de déficits immunitaires majeurs chez des animaux **axéniques**, c'est-à-dire nés et élevés stérilement (48, 49). Dans ce type d'expérience, les souris axéniques présentent de nombreuses anomalies du système immunitaire intestinal : hypoplasie des plaques de Peyer, diminution du nombre de lymphocytes dans la **lamina propria**, moins de plasmocytes dans les centres germinatifs, population de lymphocytes T diminuée, réduction de la sécrétion intestinale d'IgA, diminution des taux d'immunoglobines sériques et de production de cytokines. Ces anomalies disparaissent lorsqu'on leur inocule le microbiote de **souris Wild Type [qui veut dire type sauvage ou encore "normal"]** (49).

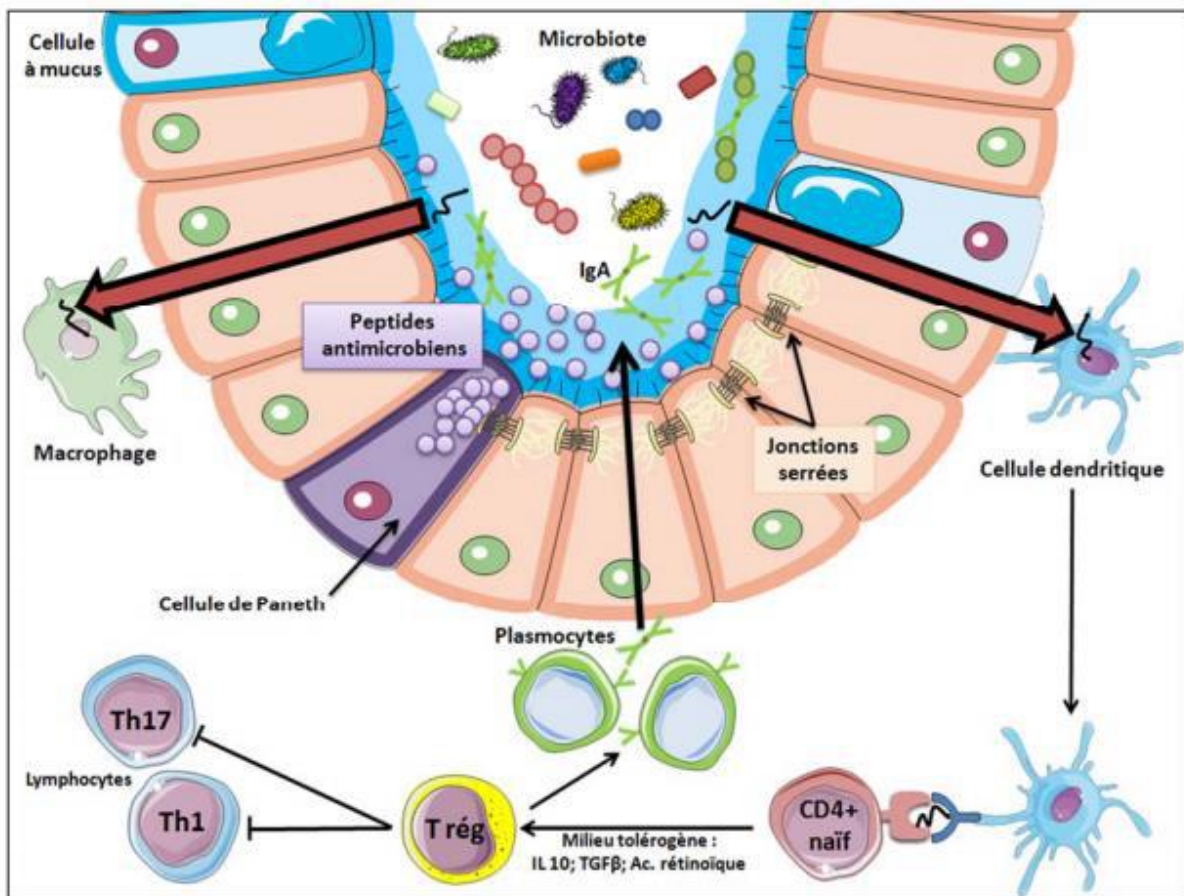


Figure 13: Organisation simplifiée de l'immunité intestinale en condition physiologique (46)

Le bon fonctionnement de l'immunité réside dans la collaboration étroite entre les bactéries du microbiote intestinal et les cellules immunitaires. Lorsqu'un antigène arrive à la muqueuse intestinale, il est capté par des **récepteurs TLR** présents à la surface des cellules épithéliales. Certaines bactéries sont capables d'empêcher cette interaction par la production de mucus. La barrière physico chimique constitue donc un premier niveau de protection, tandis que les immunités **innée** et **acquise** agissent à un second niveau.

Le microbiote intestinal régule le nombre de cellules dendritiques locales, et stimule le développement de macrophages et monocytes. Les acides gras à chaîne courte comme le butyrate inhibent la production de cytokines pro-inflammatoires, tandis que l'acétate joue un rôle dans le recrutement de neutrophiles. L'interaction entre les bactéries commensales et les cellules dendritiques amène à la production d'**IgA** par les lymphocytes B, limitant la pénétration de pathogènes dans la muqueuse intestinale. La population de lymphocytes T CD8+ (**LT CD8 +**) dans l'espace intra-épithélial se maintient grâce aux signaux émis par le microbiote intestinal. De même, le maintien de la population de lymphocytes T régulateurs, ou **Treg**, est dû en parti au microbiote. Si certaines bactéries stimulent les populations **Th17** intestinales, d'autres agissent sur les **Treg**.

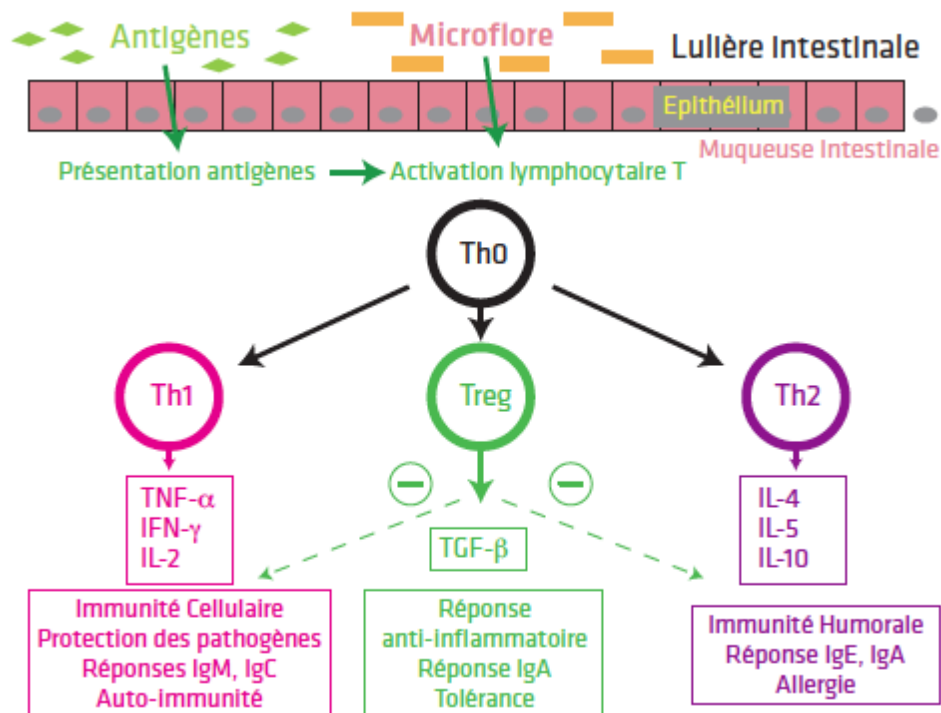


Figure 14: Dialogue entre microbiote et système immunitaire (50)

Par ces multiples interactions, on constate que le microbiote intestinal joue un rôle majeur sur l'**homéostasie** du système immunitaire, et inversement (10).



## 7-2-Fonction métabolique :

Le microbiote intestinal est considéré comme un organe qui est très noble de par les multiples fonctions qu'il exerce dont les répercussions pour l'hôte sont pour la plupart bénéfiques.

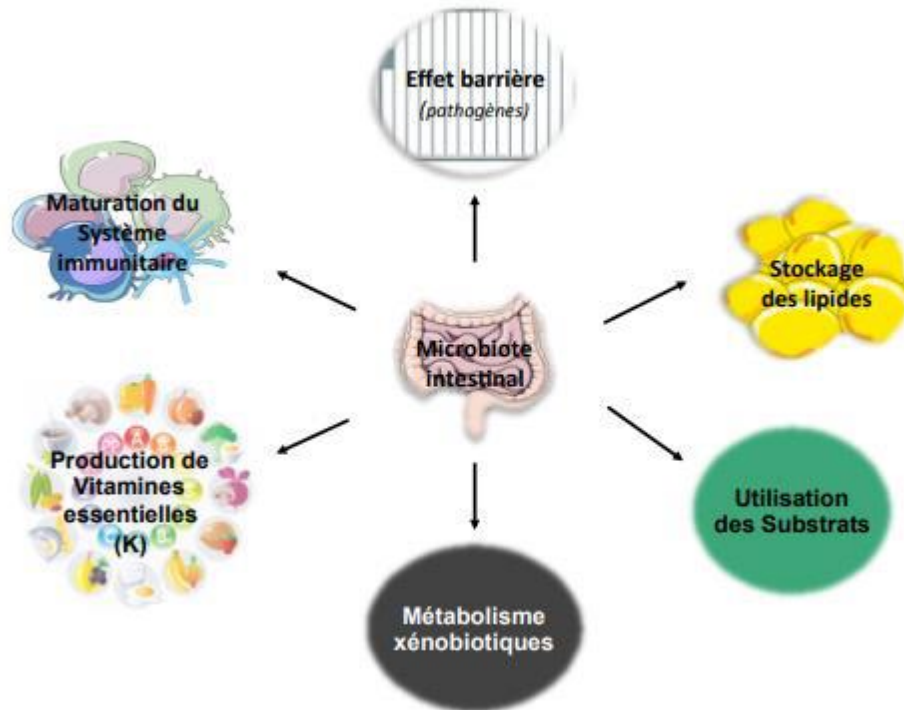


Figure 15: Les différentes fonctions du microbiote intestinal (53)

### 7-2-1- Métabolisme des glucides :

Les glucides disponibles au niveau du côlon sont principalement les **polyosides** issus des céréales et des fibres alimentaires. La dégradation anaérobie met à contribution plusieurs groupes bactériens **fibrolytiques** appartenant aux deux **phyla** majeurs, les *Bacteroidetes* et les *Firmicutes*, et les espèces concernées appartiennent aux genres *Bacteroides*, *Roseburia*, *Ruminococcus* et *Eubacterium*. Le métabolisme des polyosides aboutit à la production de métabolites fermentaires, que sont les **acides gras à chaîne courte** (Short Chain Fatty Acid, **SCFA**), les gaz, et des micronutriments (polyphénols, vitamines) aux propriétés anti-oxydantes et/ou anti-inflammatoires (51).

Concernant la fermentation des glucides, la majorité des espèces utilisent la **glycolyse** pour convertir les glucides en pyruvate. Ce pyruvate est ensuite transformé en acides gras à chaîne courte (acétate, propionate et butyrate) et gaz (hydrogène, dioxyde de carbone et méthane).

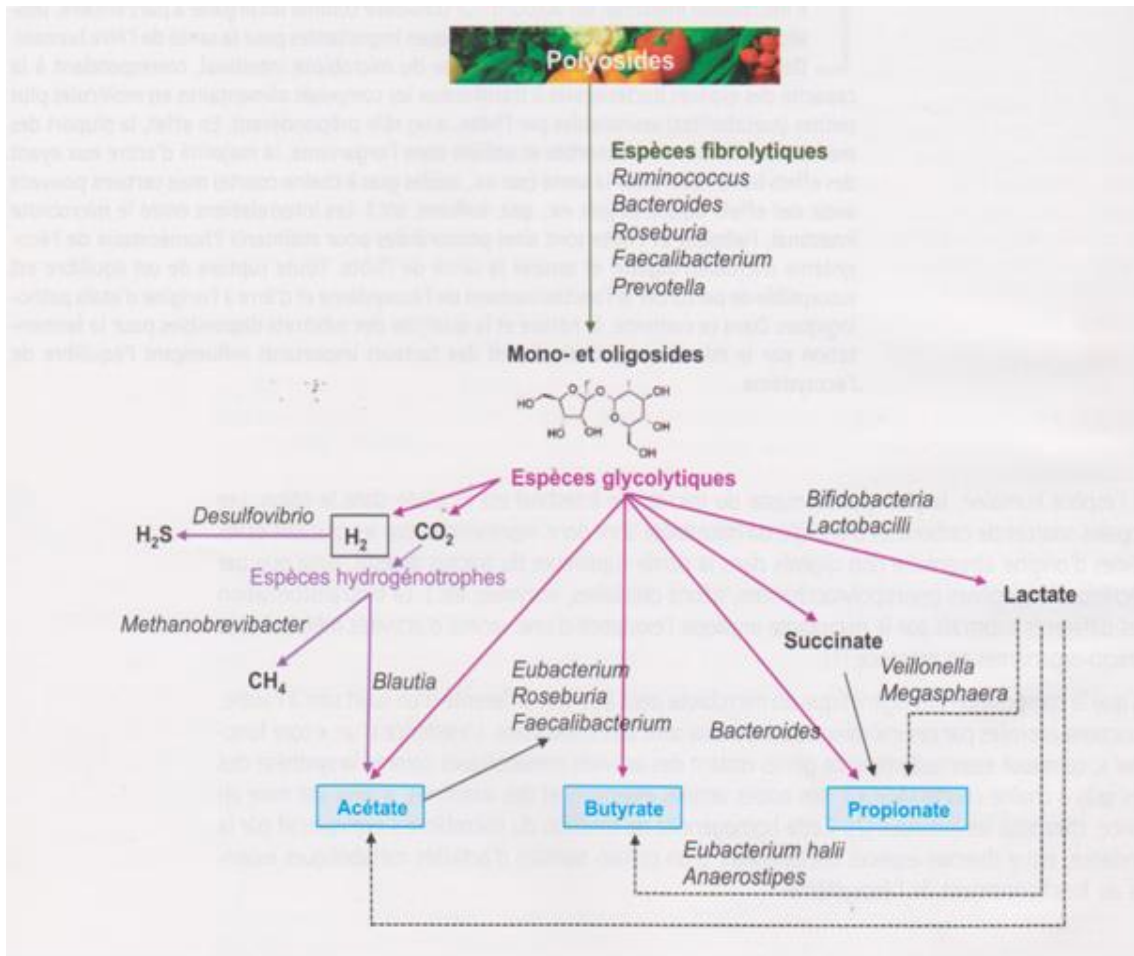


Figure 16: Chaîne trophique de la fermentation des glucides (51)

### 7-2-2-Métabolisme des protéines :

Les protéines qui arrivent au côlon sont soit d'origine **exogène** (issues du bol alimentaire), soit d'origine **endogène** (enzymes, mucines...). La biodégradation des protéines est nécessaire à la récupération de l'azote et du carbone qui les composent. Les espèces bactériennes possédant une **activité protéolytique** sont les *Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus* (52).

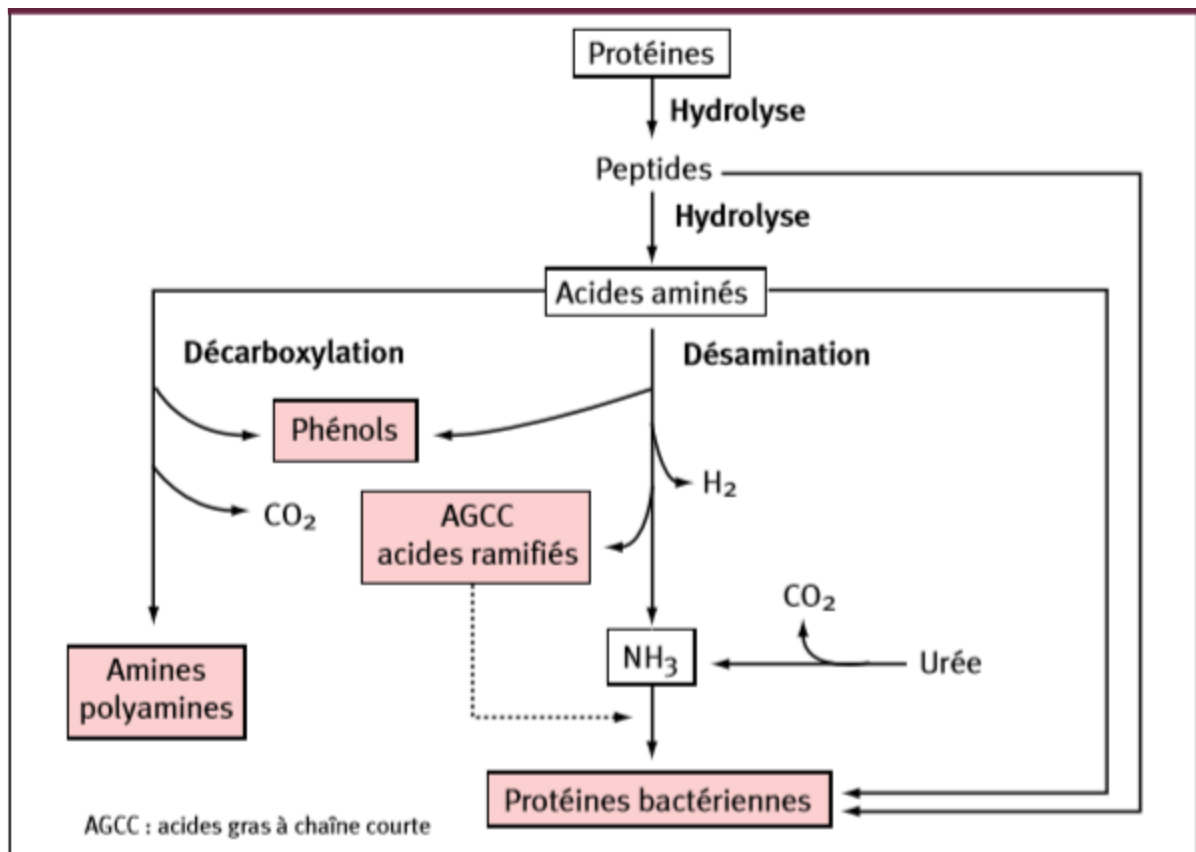


Figure 17: Principales voies du métabolisme des protéines dans le côlon (53)

### 7-2-3-Métabolisme des lipides :

Dans la lumière colique, les lipides proviennent de trois origines : les lipides arrivant du tractus intestinal en amont, les lipides provenant de la desquamation des cellules épithéliales coliques et les lipides bactériens.

Les acides gras non absorbés dans l'intestin grêle sont transformés dans le côlon par les bactéries du microbiote par des phénomènes d'hydrolyse, d'oxydation, de réduction et d'hydroxylation. Ainsi, un régime riche en graisses module la composition bactérienne en faisant varier le ratio Bacteroidetes/Firmicutes (54).

Le microbiote intestinal participe également au métabolisme cholestérol colique en le transformant en coprostanol, non absorbé par l'intestin et donc éliminé dans les fèces. Les bactéries responsables de ce métabolisme restent très mal connues. Ce n'est qu'en 2007 qu'une souche bactérienne convertissant le cholestérol et issue d'un microbiote fécal humain a été isolée et caractérisée pour la première fois. Cette souche est étroitement apparentée à l'espèce *Bacteroides dorei* (55).

Les acides biliaires sont synthétisés par le foie à partir du cholestérol (acides biliaires primaires). Ils sont également conjugués à la glycine ou à la taurine et vont être réabsorbés dans l'iléon terminal puis retournent au foie via le système porte, avant d'être à nouveau sécrétés dans la bile (cycle entéro-hépatique des acides biliaires). Ils participent à la

fragmentation des lipides alimentaires conduisant ainsi à la formation de microgouttelettes (micelles) ce qui facilite alors la digestion des lipides par la lipase pancréatique au niveau du duodénum.

Seuls 5 % des acides biliaires sécrétés dans la bile échappent à ce cycle et parviennent au côlon où ils sont métabolisés par les bactéries du microbiote en acides biliaires dits secondaires selon des réactions de déconjugaison, oxydation et épimérisation (55-56). Plus de 20 acides biliaires ont ainsi été mis en évidence dans les fèces humaines, ce qui démontre la grande variété de conversions possibles des acides biliaires par le microbiote intestinal

#### 7-2-4- Métabolisme des gaz :

L'hydrogène est le gaz le plus produit lors de la fermentation. Les espèces produisant de l'H<sub>2</sub> in vitro lors de la fermentation des oses ou des polyosides appartiennent principalement aux genres *Clostridium*, *Ruminococcus* et *Eubacterium*. L'H<sub>2</sub> produit est en partie excrété par voie pulmonaire et anale, mais la plus grande part est réutilisée in situ par les micro-organismes hydrogénotrophes (57).

Ces espèces maintiennent une pression partielle en hydrogène faible afin de permettre une oxygénation complète des substrats (58). Trois mécanismes hydrogénotrophes ont été décrits dans le côlon humain : la méthanogenèse, la sulfato-réduction et l'acétogenèse réductrice.

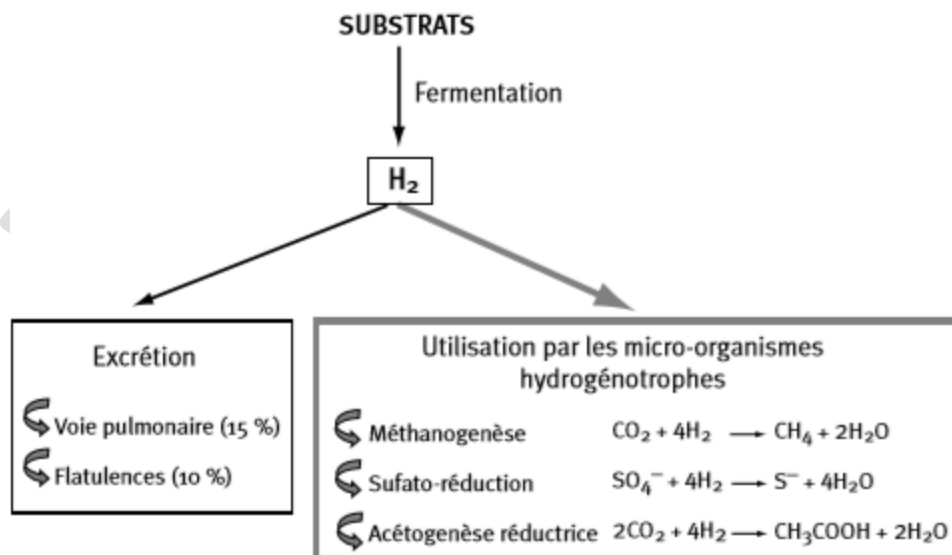


Figure 18: Devenir de l'hydrogène dans le côlon (54)

#### 7-2-5- Devenir des métabolites bactériens ;

##### 7-2-5-a- Les Acides Gras à Chaîne Courte :

L'**acétate** est un précurseur de la synthèse du cholestérol et d'acides gras à chaîne longue. Il contribue également à la régulation de l'appétit par son action dans l'hypothalamus (59).

Le **butyrate** a un rôle important dans l'inhibition de l'histone désacétylase, enzyme responsable de dommages associés au stress oxydatif. Ces propriétés confèrent au butyrate des propriétés anticancéreuses. Il est considéré comme ayant des propriétés anti-inflammatoires (60).

Le **propionate** régule la libération d'hormones de la satiété, inhibe la synthèse du cholestérol et possède également des propriétés anti-inflammatoires (60).

#### 7-2-5-b- Les Vitamines :

Les vitamines B12, B8 et K2 sont produites en grande quantité par le microbiote intestinal et constituent un apport vitaminique suffisant pour l'hôte. D'autres vitamines sont produites par le microbiote, mais en quantité insuffisante pour couvrir les besoins de l'homme. C'est le cas des vitamines B1, B2, B6 et B9.

#### 7-2-5-c- Les produits issus du métabolisme protéique :

L'ammoniaque, en concentration élevée, compromet le bon déroulement de la synthèse d'acides nucléiques, et altère la morphologie des cellules intestinales. Les métabolites issus de la dégradation d'acides aminés aromatiques engendreraient une altération de la fonction barrière de l'épithélium. Les métabolites issus de la dégradation des acides aminés comme la valine, l'isoleucine et la leucine sont utilisés comme marqueurs de l'activité protéolytique du microbiote.

#### 7-2-5-d- Le lactate :

Le lactate se trouve au niveau du côlon sous deux formes isométriques. Le D-lactate, présent en quantité importante dans le plasma et les urines des patients atteints de maladies inflammatoires de l'intestin, est un marqueur de la perméabilité intestinale. Le lactate est également utilisé comme substrat dans la synthèse de sulfure, élément pouvant avoir des effets nocifs pour l'hôte (10).

## ***8- Interactions hôte – microbiote dans l'intestin : homéostasie intestinale :***

**L'homéostasie** se définit comme la capacité de l'organisme à maintenir un état de stabilité relative entre les différentes composantes de son milieu interne et ce malgré les variations constantes de l'environnement externe (3).

Le microbiote intestinal est composé de nombreux micro-organismes qui sont tolérés par le système immunitaire intestinal et qui vivent en synergie avec leur hôte.

Ce microbiote peut être considéré comme un organe à part entière ayant co-évolué avec son hôte pour parvenir à une relation **symbiotique** menant à l'homéostasie physiologique ; L'hôte fournit un environnement riche en nutriments que les bactéries commensales utilisent pour effectuer leurs fonctions telles que la production de certaines vitamines, la digestion de polysaccharides complexes grâce à des activités enzymatiques non présentes chez l'hôte et la mise en place d'un système immunitaire efficace (4, 5).

Les bactéries de la flore intestinale favorisent la mise en place des défenses immunitaires **innées** et **adaptatives**. Mais le système immunitaire intestinal doit maintenir en permanence un état de tolérance vis-à-vis de la flore intestinale tout en étant capable d'induire des réponses immunes pro-inflammatoires protectrices contre les pathogènes gastro-intestinaux.

Le maintien d'un tel équilibre repose sur l'existence de mécanismes de régulation garantissant une réactivité réduite du système immunitaire intestinal vis-à-vis des bactéries commensales inoffensives.

A l'état physiologique, on retrouve un phénomène de tolérance des bactéries du microbiote et des protéines alimentaires par le système immunitaire intestinal. Les **PAMPs** présents sur les bactéries commensales sont détectés par les **PRRs** présents notamment sur les cellules épithéliales, ce qui déclenche une production de **TGF- $\beta$**  par les cellules épithéliales et les macrophages (7).

Sous l'influence de cette **cytokine**, les cellules dendritiques des **plaques de Peyer** ou de la **lamina propria** ayant également reconnu ces antigènes non pathogènes vont avoir une maturation partielle et migrer vers les ganglions lymphatiques pour synthétiser un fort taux d'**IL-10** (*cytokine anti-inflammatoire*).

L'IL-10 va alors orienter la différenciation des **LT CD4+ naïfs** en **LT régulateurs** qui vont synthétiser de l'IL-10 et de l'**IFN- $\gamma$**  pour d'une part, inhiber l'activation des LT **effecteurs** **LTh1**, **LTh2** et **LTh17** responsables de l'augmentation du taux de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et d'autre part, inhiber à la fois les macrophages qui permettent l'élimination des agents pathogènes et le recrutement des polynucléaires neutrophiles responsables des lésions intestinales. Ainsi, cet équilibre entre les mécanismes effecteurs et régulateurs permet de maintenir l'homéostasie intestinale et une tolérance fonctionnelle. Lorsqu'un pathogène entre dans la couche de mucus et vient au contact des cellules épithéliales, cela

peut perturber l'intégrité de la barrière épithéliale. Les pathogènes et leurs **PAMPs** sont reconnus par les **PRRs** et induisent des signalisations intracellulaires conduisant à la production de peptides antimicrobiens et de cytokines. Ces éléments vont conduire à limiter la propagation du pathogène et au recrutement des cellules immunitaires (7).

## ***9-Variation de la flore au cours du temps :***

Suite à l'influence d'un certain nombre de facteurs, aussi bien endogènes, que de facteurs environnementaux, l'homéostasie intestinale peut être perturbée et aboutir à un état de **dysbiose**.

**Les facteurs suivants vont pouvoir entraîner des variations de la flore**

### ***9-1- L'alimentation :***

Comme vu précédemment dans la mise en place de la flore, la colonisation bactérienne n'est pas la même selon le type d'alimentation, notamment l'allaitement par rapport au lait artificiel. Il a été également observé des différences marquantes entre les populations ayant un régime végétarien, ou sans gluten, par rapport au reste de la population. Par ailleurs, il semble exister des différences frappantes liées au pays, même au sein de pays ayant le même niveau de vie ce qui suggère que les différentes habitudes alimentaires et les modes de vie impactent fortement le microbiote intestinal sur le long terme (61).

### ***9-2- L'usage de médicaments tels que les antibiotiques :***

Le rôle des antibiotiques est par définition de détruire les bactéries. Cette action ne se limite pas aux bactéries pathogènes mais touche également les bactéries de la flore commensale. L'altération de la flore dépendra de la sensibilité des bactéries selon le spectre de l'antibiotique utilisé et de la durée d'utilisation (62).

Cette dysbiose va provoquer des troubles digestifs à type de diarrhée, mais sera majoritairement transitoire et réversible à l'arrêt des antibiotiques (62).

### ***9-3- Les hospitalisations :***

Lors d'une hospitalisation, une rencontre avec certains germes peut aboutir à une colonisation de la flore intestinale qui aboutira au développement de ce germe aux dépens des espèces commensales.

C'est le cas lors d'une infection par la bactérie **Clostridium difficile**, qui peut rester latente mais qui peut se développer suite à une fragilisation de la flore (par exemple suite à la prise d'antibiotiques).

#### 9-4- Certaines situations cliniques :

Dans certaines maladies, il a été observé une modification caractéristique dans la composition de la flore intestinale. Les études en cours cherchent à déterminer si cette dysbiose est une cause ou une conséquence de la pathologie.

Ces observations ont été faites pour des maladies telles que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, le diabète ou les maladies métaboliques (62).

#### 9-5- L'âge :

Comme vu précédemment, les nouveau-nés peuvent avoir une flore très diversifiée selon différents facteurs tels que l'alimentation, le mode d'accouchement et le terme de naissance. Le microbiote ne sera stable pour un enfant donné qu'entre l'âge de 2 et 4 ans.

Il a été montré que la variabilité interindividuelle des souches qui composent la flore intestinale des personnes âgées est très importante et est supérieure à celle observée chez des adultes plus jeunes. Les variations observées sont différentes en fonction du lieu de vie de la population et de leur mode d'alimentation et ne permettent pas d'établir des modifications spécifiques relatives au vieillissement (63).

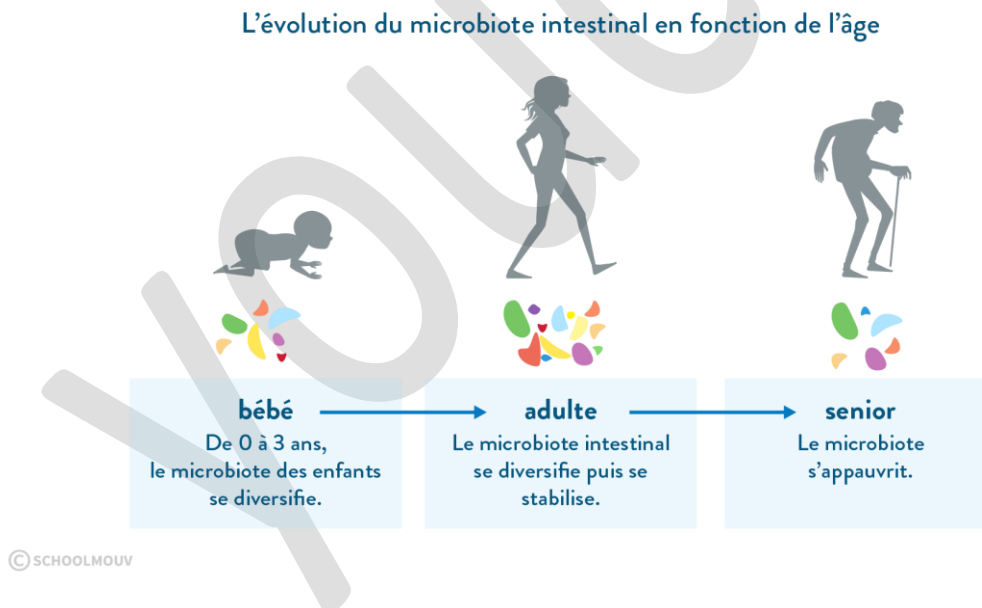


Figure 19: évolution du microbiote intestinale en fonction du temps (63)

Nous venons de présenter le microbiote intestinal, cet ensemble des micro-organismes vivant dans nos intestins. Nous avons vu l'ensemble de ses caractéristiques et de ses fonctions et l'importance du maintien de l'homéostasie intestinale.

Par la suite, nous allons nous pencher en détail sur des situations dans lesquelles on retrouve une dysbiose de la flore intestinale, c'est-à-dire un déséquilibre de cet écosystème. L'objectif est d'analyser la flore intestinale dans diverses pathologies chroniques, de



localisations gastro-intestinales ou non, et de déterminer si les sujets malades sont porteurs de différences au niveau de la composition du microbiote.

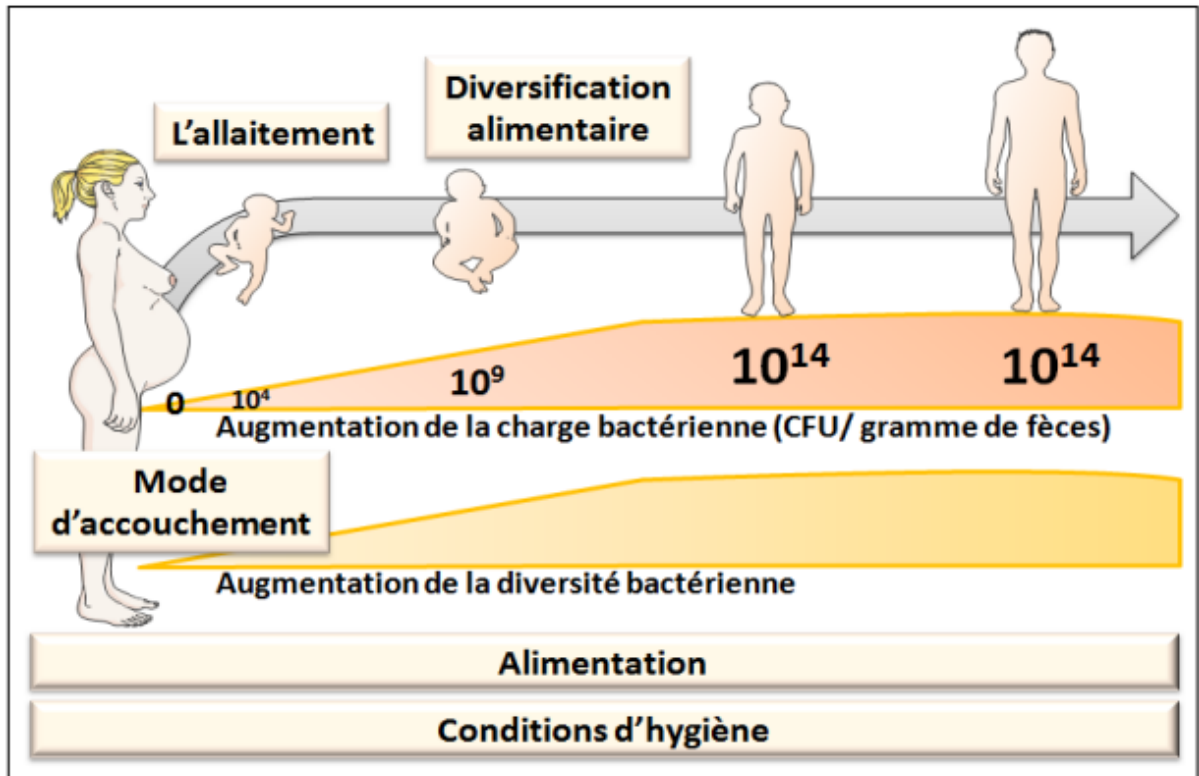


Figure 20: Principaux facteurs influençant la colonisation physiologique de l'intestin par le microbiote intestinal

(64)

**PARTIE 2:**  
**LIEN ENTRE LE MICROBIOTE ET LES MALADIES**

# I-OBESITE :

## *1-Définition:*

Chaque minute dans le monde, environ 5 personnes meurent des conséquences de leur obésité. Cette pathologie multifactorielle cause ainsi le décès de 2.8 millions de personnes par an et constitue la cinquième cause de décès mondiale (65).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), le surpoids et l'obésité sont définis comme un excès de masse grasse qui entraîne des conséquences néfastes pour la santé. La mesure de référence internationale actuelle est l'indice de masse corporelle (IMC) [ou indice de Quételet ou Body Mass Index (BMI)]. Il s'agit du rapport du poids par la taille au carré et est exprimé en  $\text{kg}/\text{m}^2$ . Chez un adulte le surpoids est défini par un IMC compris entre 25 et 30  $\text{kg}/\text{m}^2$  et l'obésité par un IMC supérieur à 30  $\text{kg}/\text{m}^2$  (66).

La classification de l'OMS distingue 4 types d'obésité selon l'IMC en termes de sévérité : obésité type I ou modérée, pour un IMC entre 30,0 et 34,9  $\text{kg}/\text{m}^2$ , obésité type II ou sévère pour un IMC entre 35,0 et 39,9  $\text{kg}/\text{m}^2$ , et obésité type III ou massive pour un IMC supérieur à 40  $\text{kg}/\text{m}^2$ . Il est montré en effet que plus l'IMC augmente, plus la morbi-mortalité s'élève (66)

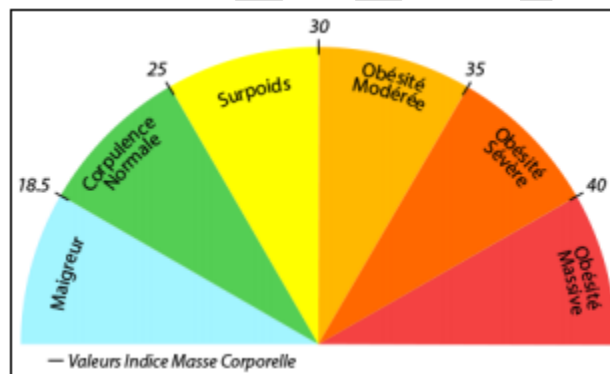


Figure 21:Corpulence selon l'Indice de Masse Corporelle (65)

Indépendamment de l'indice de masse corporelle, les spécialistes distinguent également deux formes d'obésité, selon le type de répartition de la masse grasse :

- L'obésité androïde ou abdominale où la masse grasse s'installe plutôt dans le haut du corps principalement au niveau du ventre. Cette forme serait plus dangereuse pour la santé, entraînant plus facilement des problèmes d'hypertension, de diabète ou des troubles cardiovasculaires. C'est pourquoi certains médecins préfèrent à l'IMC la mesure du tour de taille qui est supérieur à 80 cm chez la femme et supérieur à 94 cm chez l'homme de race caucasienne, ces mesures anthropométriques sont utilisables pour les obésités modérées mais non applicables pour les obésités sévères et massives pour lesquelles d'autres examens se discutent (DEXA, scanner) (67).

- L'obésité gynoïde lorsque la masse grasse s'installe plutôt dans le bas du corps principalement au niveau des fesses et des cuisses. Pour savoir si l'on est atteint d'obésité gynoïde, il faut calculer son rapport taille / hanches. Les personnes atteintes ont un rapport de 0,80 et moins. L'obésité gynoïde aurait moins de retentissements sur la santé, entraînant principalement des problèmes articulaires ou des insuffisances veineuses. Elle est néanmoins plus difficile à vaincre que l'obésité androïde (67).

## ***2- EPIDEMIOLOGIE :***

D'après les estimations mondiales récentes, environ **13%** de la population adulte est obèse (11% des hommes et 15% des femmes). En 2014, on estimait que 41 millions d'enfants de moins de 5 ans étaient en surpoids ou obèses. La prévalence de l'obésité a plus que doublée au niveau mondial entre 1980 et 2014 (68).

D'après les estimations mondiales récentes de l'OMS:

- En 2016, plus de 1,9 milliard d'adultes – personnes de 18 ans et plus – étaient en surpoids. Sur ce total, plus de 650 millions étaient obèses.
- En 2016, 39% des adultes étaient en surpoids (39% des hommes et 40% des femmes).
- La prévalence de l'obésité a presque triplé au niveau mondial entre 1975 et 2016.

En 2019, on estimait que 38,2 millions d'enfants de moins de 5 ans étaient en surpoids ou obèses. Autrefois considérés comme des problèmes spécifiques des pays à haut revenu, le surpoids et l'obésité sont désormais en augmentation dans les pays à revenu faible ou intermédiaire, en particulier en milieu urbain.

En Afrique, le nombre d'enfants en surpoids ou obèses a augmenté de près de 24% depuis 2000. Près de la moitié des enfants de moins de 5 ans en surpoids ou obèses vivaient en Asie en 2019.

Plus de 340 millions d'enfants et d'adolescents âgés de 5 à 19 ans étaient en surpoids ou obèses en 2016.

La prévalence du surpoids et de l'obésité chez les enfants et les adolescents âgés de 5 à 19 ans a augmenté de façon spectaculaire, passant d'à peine 4 % en 1975 à un peu plus de 18 % en 2016. L'augmentation a été la même chez les garçons que chez les filles: en 2016, 18 % des filles et 19 % des garçons étaient en surpoids.

À l'échelle mondiale, le surpoids et l'obésité sont liés à davantage de décès que l'insuffisance pondérale. Il y a plus de personnes obèses qu'en insuffisance pondérale, et ce dans toutes les régions à l'exception de certaines parties de l'Afrique subsaharienne et de l'Asie (68).

### 3-Physiopathologie de l'obésité :

À l'état physiologique, l'homéostasie énergétique vise à maintenir le poids corporel stable tout au long de la vie. L'obésité s'installe lorsqu'il existe un déséquilibre entre les apports et les dépenses énergétiques (69).

L'évolution croissante de l'obésité s'explique en partie par une modification de nos modes de vie, à savoir une sédentarisation de plus en plus importante et une augmentation de la disponibilité des denrées alimentaires (69).

Le déséquilibre énergétique peut être déclenché par des facteurs biologiques (facteurs génétiques, hormonaux, pharmacologiques, métaboliques), interagissant avec des facteurs comportementaux (facteurs psychologiques et sociaux), économiques et environnementaux : il se produit alors un excès d'apports alimentaires par rapport aux dépenses énergétiques, d'où un stockage excessif de l'énergie dans le tissu adipeux (69).

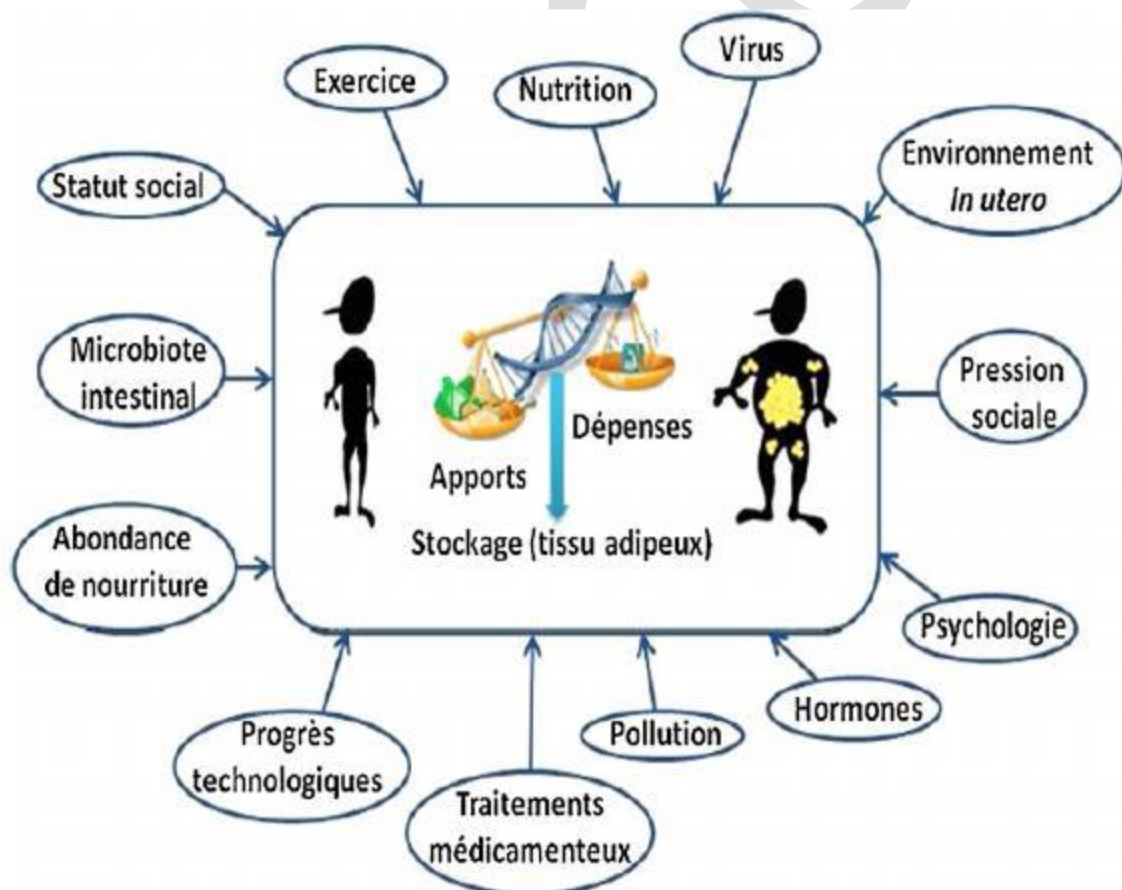


Figure 22:Facteurs impliqués dans le développement de l'obésité (69)

L'obésité est une maladie chronique qui évolue en plusieurs phases : la phase de constitution avec la prise de poids, la phase de stabilisation puis la phase de perte de poids,

qui se solde le plus souvent par un échec, aboutissant à une phase de rechute avec résistance au traitement (69).

On peut noter une phase préclinique, durant laquelle interviennent les mécanismes de prédisposition innés et acquis, comme la période intra-utérine avec l'alimentation de la mère, le diabète gestationnel, l'alimentation du nouveau-né et la précocité du rebond d'adiposité (70).

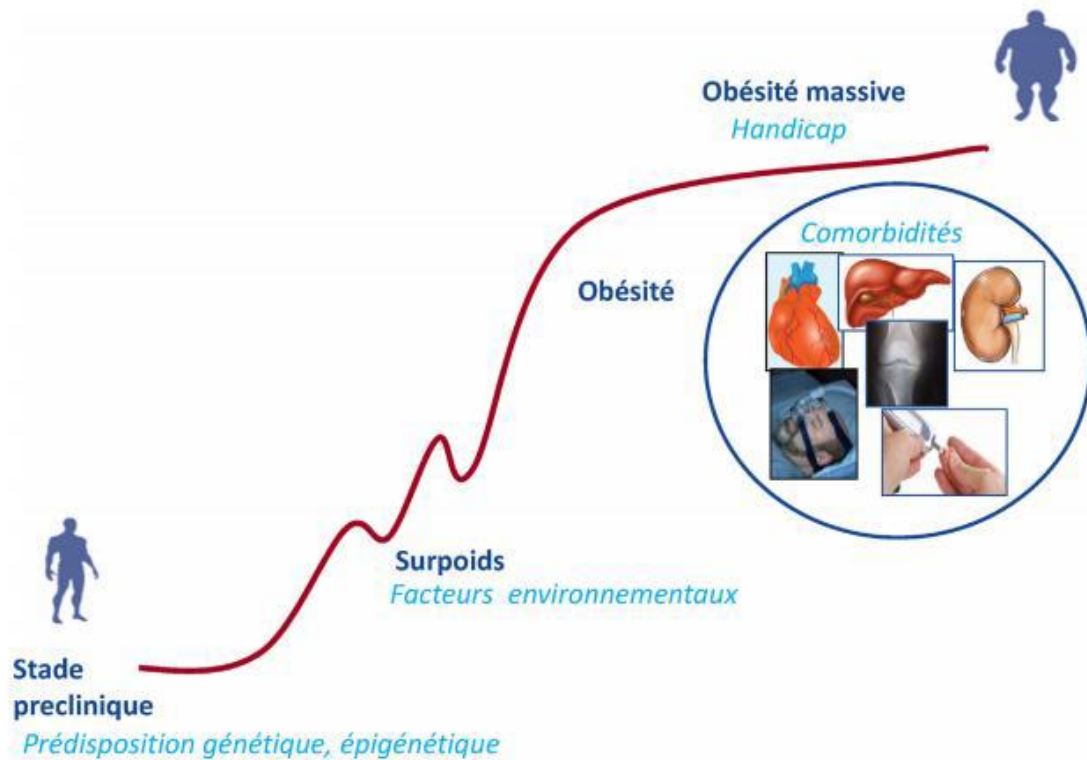


Figure 23: Histoire naturelle de l'obésité (71)

### **3-1-Mécanismes:**

#### **3-1-1-Mécanismes métaboliques :**

Nous avons précédemment vu que le microbiote est capable d'extraire de l'énergie des aliments non digestibles par l'hôte, conduisant en la production d'acides gras à courtes chaînes (**AGCC**).

**Turnbaugh et al** (72) ont montré lors d'une étude que la colonisation de l'intestin de souris **axénique** par un microbiote obèse conduisait à une augmentation des métabolites issus de la fermentation microbienne, comme l'acétate, à une augmentation de la suppression du **FAF** et une augmentation de l'activité de la **LPL** ce qui entraînait une augmentation du stockage des acides gras dans le tissu adipeux.

L'abondance des **AGCC** et leur concentration dans le côlon est corrélée à l'obésité chez les humains (73). **Schwartz et al** (74) ont montré que les selles de patient adultes obèses

présentaient une augmentation de la concentration totale d'**AGCC**, en particulier de propionate, comparé aux selles de patients minces. Cette étude a été confortée par une autre réalisée sur un groupe d'enfants obèses qui ont été comparés à des enfants dont le poids est normal : les concentrations fécales de butyrate et de propionate étaient retrouvées significativement plus hautes chez les enfants obèses (75).

Comme expliqué précédemment, ces AGCC sont ensuite impliqués dans des mécanismes de régulation énergétique tels que dans le tissu adipeux. De plus, une abondance des AGCC dans l'intestin favoriserait la **lipogenèse hépatique**.

### *3-1-2-Inflammation de bas grade :*

Il a été établi que l'obésité est liée à un état **inflammatoire de bas grade**, cet état pourrait être corrélé au niveau de **Lipopolysaccharide (LPS)** plasmatique (ou circulant). Le LPS est un composant de la paroi des bactéries à Gram négatif et circule à un faible niveau de concentration dans le plasma des sujets en bonne santé. Le LPS est capable de déclencher un processus inflammatoire (en stimulant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires) en se liant aux **CD14** des récepteurs **Toll-like** de type **4** (complexe **CD14/TLR4**) présents à la surface des cellules immunitaires **innées** (dont les macrophages) (76).

Il a été montré sur des souris qu'après 4 semaines de régime riche en graisses, le niveau de **LPS** circulant dans le sang augmentait d'un facteur 2 à 3. Cet état était appelé «**endotoxémie métabolique** ». Ces souris avaient une inflammation du tissu adipeux visible par une augmentation de la taille des dépôts adipeux. Des injections sous-cutanées de LPS conduisaient aux mêmes troubles métaboliques que ceux induits par un régime hyper lipidique : prise de poids, diminution de la tolérance au glucose, augmentation du degré de stéatose dans le foie, augmentation de cytokines pro inflammatoires dans le foie, les muscles et le tissu sous cutané et viscéral. Par contre, les souris dont le récepteur au LPS était inactivé (souris déficientes en CD14 ou **CD14-/-**) étaient résistantes à la fois aux effets du régime hyperlipidique et à l'injection en sous cutané de **LPS**. De plus, ces souris **CD14-/-** se sont révélées hyper sensibles à l'insuline quel que soit le régime : le récepteur **CD14** pourrait moduler la sensibilité des tissus à l'insuline même en condition physiologique. L'ensemble de ces observations suggèrent un rôle du **LPS**, un extrait bactérien, comme facteur déclenchant des désordres métaboliques (76).

Chez l'humain, le rôle du LPS dans l'inflammation de bas grade a été évalué. Une faible dose de LPS provoque une augmentation du niveau d'insulinorésistance et de la concentration en **TNF-a** dans le tissu adipeux (77). Il a également été observé qu'un repas riche en lipides et glucides entraîne une augmentation significative de LPS. Il est important de noter que ces augmentations n'ont pas été observées après un repas riche en fibres et en fruits (38). Ces observations ont été confirmées par d'autres études qui montraient également qu'un repas riche en lipides était bien corrélé à l'augmentation des niveaux de LPS et une signalisation pro-inflammatoire; Il semble donc évident que l'endotoxémie est impliquée dans le développement de l'inflammation de bas grade présente dans l'obésité et qu'elle est causée, du moins en parti, par l'alimentation. Parallèlement, l'augmentation de LPS plasmatique était couplée à une diminution drastique des **Bifidobactéries** dans

l'intestin; Ces bactéries sont normalement impliquées dans le renforcement de la barrière intestinale.

La diminution de ces bactéries entraînerait une perméabilité accrue de la barrière intestinale ce qui permettrait le passage du LPS dans le sang. Nous retrouvons donc dans l'obésité une modification de la composition du microbiote intestinal ainsi qu'une altération des fonctions protectrice et métabolique décrites plus haut : d'un point de vu métabolique, on trouve une augmentation de l'abondance d'AGCC indiquant une forte extraction d'énergie et une augmentation de l'activité de la LPL conduisant à un stockage adipeux ; d'un point de vu barrière intestinale, son altération causée par la diminution des *Bifidobactéries* entraîne via le passage du LPS l'état inflammatoire caractéristique de l'obésité (77).

#### **4- LE MICROBIOTE INTESTINAL DANS L'OBESITE :**

Une des premières découvertes a été de mettre en évidence des modifications **qualitatives** du microbiote intestinal chez la souris obèse. Les souris présentant une obésité d'origine génétique (Ob/Ob) possédaient deux fois moins de Bacteroidetes et une augmentation proportionnelle de Firmicutes par rapport à leurs congénères sauvages (78). Ces mêmes auteurs ont réalisé une étude sur 12 sujets humains obèses. Premièrement, à l'instar des observations réalisées chez l'animal, les sujets obèses présentaient une augmentation du **ratio Firmicutes/ Bacteroidetes**. Deuxièmement, après 52 semaines de régime faible en calorie ce ratio diminue pour s'approcher de celui des individus minces, comme présenté sur la figure ci-dessous :

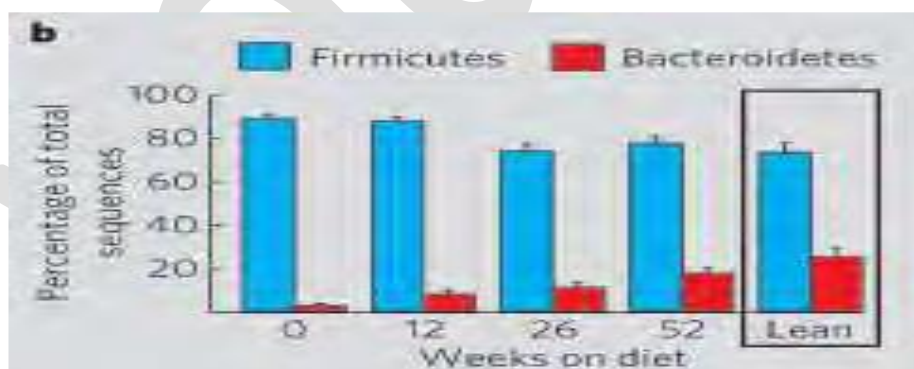


Figure 24:Ratio Firmicutes/Bacteroidetes (78)

Ces résultats obtenus à la fois chez l'animal et chez l'homme, suggèrent que la composition de la flore intestinale est altérée dans l'obésité. Cependant, plusieurs études n'ont pas confirmé ce résultat, ces discordances proviendraient des différentes méthodes d'analyses employées pour analyser le microbiote.



Toutefois, ces modifications observées ne sont probablement pas une simple conséquence de l'obésité. En effet, dans une autre étude (72) les chercheurs ont montré que la flore elle-même participerait à un changement de comportement alimentaire et métabolique. La colonisation de souris **axéniques** par un microbiote intestinal provenant de souris conventionnelles aboutit à la normalisation de leur poids et une augmentation de la masse grasse malgré une réduction de la prise alimentaire de 30% ; la colonisation par une flore provenant de souris obèses (Ob/Ob) a mené à une prise de poids pathologique et ces souris axéniques sont devenues obèses. La colonisation par un microbiote de type « obèse » a donc transmis le phénotype obèse, cela indique donc que la population microbienne joue un rôle dans les mécanismes de l'obésité. **A l'instar de la poule et l'œuf**, les études ne permettent pas d'affirmer à ce jour si c'est la modification de la flore intestinale qui déclenche l'obésité ou si c'est l'obésité qui provoque les altérations de la flore.

Le consortium international **MetaHit** (79) a analysé le génome bactérien intestinal de 292 adultes danois comprenant 123 personnes non-obèses et 169 obèses. Les résultats distinguent deux groupes d'individus selon la diversité de leur **microbiome**. Un quart des individus de la cohorte sont « pauvres » en espèces bactériennes, tandis que les trois-quarts possèdent une flore intestinale « riche » en bactéries (c'est-à-dire plus diversifiée).

Les résultats montrent que les individus avec une flore « **pauvre** » présentent une **adiposité plus importante**, une **résistance à l'insuline**, une **dyslipidémie** ainsi qu'un **phénotype inflammatoire** plus marqué que les individus avec une flore « riche ». 80% des obèses de l'étude étaient dans le groupe avec une flore intestinale « pauvre ».

Les chercheurs ont montré que 46 genres différaient significativement entre les deux groupes : *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Ruminococcus* (*R. torques* and *R. gnavus*), *Campylobacter*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Staphylococcus* et *Anaerostipes* étaient davantage présent chez les « flore pauvre », et *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Butyrivibrio*, *Alistipes*, *Akkermansia*, *Coprococcus* et *Methanobrevibacter*, étaient significativement associés chez les « flore riche » (79).

## ***5- Contrôle nutritionnel de l'obésité par l'intermédiaire du microbiote intestinal :***

Comme nous l'avons vu dans les parties précédentes, le microbiote intestinal est au cœur de nombreuses fonctions essentielles à la bonne marche de l'organisme et son implication a été montré dans diverses pathologies. La modulation du microbiote par différentes approches constitue une piste sérieuse comme thérapie.

### ***5-1- Probiotiques, Prébiotiques et Symbiotiques :***

#### ***5-1-1- Définition :***

### 5-1-1-a- Les probiotiques :

L'Organisation Mondiale de la Santé décrit les probiotiques comme des microorganismes (bactéries ou levures) vivants produisant des **effets bénéfiques** pour la santé de l'hôte lorsqu'ils sont consommés en quantité suffisante (80).

Les probiotiques peuvent se trouver naturellement dans certains aliments tels que les produits laitiers ou être rajoutés (par exemple les préparations destinées à l'alimentation des nourrissons), on les trouve aussi sous forme de comprimés, gélules, ou sachet contenant des bactéries lyophilisées. Les probiotiques les plus connus sont les bactéries lactiques (*Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*) et les *Bifidobactéries*. On trouve également quelques espèces de *Bacillus* et *E. coli* ainsi que la levure *Saccharomyces cerevisiae*. (80)

### 5-1-1-b- Les prébiotiques et symbiotiques :

Les **prébiotiques**, à la différence des probiotiques, ne sont pas des micro-organismes mais des **substances non digérées** par les enzymes humaines. Ce sont généralement des **sucres de petite taille**. Leur fermentation stimule la croissance et l'activité de certaines espèces microbiennes. Les prébiotiques les plus communs sont: l'inuline, les gluco-oligosaccharides (**GOS**), le lactulose, les oligosaccharides (**OS**) du lait maternel. Deux prébiotiques courants sont l'inuline, que l'on trouve dans les racines de chicorée, et les fructo-oligosaccharides (**FOS**), présents entre autres dans l'ail, l'oignon et la banane.(81)

Les **symbiotiques** sont une association de prébiotiques et probiotiques : les prébiotiques accroissent la croissance et l'activité des probiotiques. Ils sont le substrat des probiotiques.

## 5-2- Classifications et propriétés :

La classification des probiotiques repose obligatoirement sur le genre, l'espèce et la souche, par exemple, *Bifidobacterium longum* BB536.

Pour pouvoir exercer son activité bénéfique un probiotique doit d'une part pouvoir atteindre son site d'action vivant et d'autre part être en quantité suffisante.

La résistance du probiotique a son passage dans le tractus digestif va dépendre de la souche mais également de facteurs propres à l'hôte comme l'acidité gastrique et la sécrétion de sels biliaires. La présence de probiotiques viables en quantité requise pour obtenir l'effet escompté doit être garantie dans les produits jusqu'à leur date de péremption.

La majorité des probiotiques se trouve à un dosage de  $10^9$  **UFC/dose**. Toutefois, le dosage efficace va varier selon la souche utilisée et la forme employée. Des concentrations de probiotiques supérieures ou égales à  $10^6$  **UFC/ ml** dans l'intestin grêle et à  $10^8$  **UFC/ ml** dans le côlon sont considérées comme suffisantes pour produire un « effet sur la santé » (81)

### 5-3- Utilisations actuelles des probiotiques :

Ces dernières années, l'engouement des probiotiques en entrainer une multiplication des recherches sur leur efficacité. A ce jour, le marché du probiotique est très développé et couvre une large palette d'indications, de la digestion au système immunitaire en passant par la mémoire. Bien que ces études soient prometteuses sur l'efficacité des probiotique, encore peut ont été réalisées de façon clinique, c'est-à- dire de façon randomisées, en double aveugle contre placebo sur un grand nombre de patient (82).

En France, quelques spécialités de probiotiques ont le statut de médicament et sont indiqués en complément de la réhydratation et/ou des mesures diététiques dans le traitement symptomatique d'appoint de la diarrhée chez l'adulte et l'enfant de plus de six ans :

- **Lactéol**<sup>®</sup> 340 mg : composé de *Lactobacillus acidophilus* 10<sup>10</sup> germes par gélule.
- **Ultra-levure**<sup>®</sup> 50, 100 ou 200mg : Composé de *Saccharomyces boulardii*
- **Bacilor**<sup>®</sup> gélule 250 mg : composé de *Lactobacillus casei* variété *rhamnosus*, culture lyophilisée titrant au minimum 10<sup>8</sup> germes par gramme
- **Lyobifidus** : composé de *Bifidobacterium bifidum*

Toutefois, l'utilisation de ces spécialités n'entre pas en premières lignes de stratégie thérapeutique, leur Service Médical Rendu a même été jugé insuffisant par la commission de la transparence pour l'indication de traitement.

L'intérêt des probiotiques est actuellement étudié dans de nombreuses pathologies : le syndrome de l'intestin irritable, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (**MICI**) telles que la rectocolite hémorragique et la maladie de Crohn, l'entérocolite ulcéro-nécrosante du nourrisson et la diarrhée infectieuse du nourrisson (82, 83).

### 5-4- Mode d'action :

Les probiotiques exercent leurs effets par deux moyens. Le premier est **physique**, c'est-à-dire qu'ils vont coloniser le tractus digestif et entrer en compétition avec les microorganismes résidents. Cela va permettre de recoloniser avec de « bons » microorganismes un microbiote déséquilibré. Par exemple, après un traitement antibiotiques, le microbiote est altéré, cela peut entrainer un développement des pathogènes qui sont normalement « contenus » par les bactéries commensales ; l'ingestion de probiotiques permet dans ce cas d'éviter la propagation des pathogènes et permettre aux bactéries résidentes de se redévelopper petit à petit. Le deuxième moyen d'action, moins connu, passe par le **microbiome** des probiotiques. En effet, les microorganismes vont directement exercer leurs effets par l'expression de leurs gènes en interférant sur le métabolisme de l'hôte (83).

#### 5-4-1-Probiotiques et obésité :

Des études menées chez les souris ont montré que l'ingestion de probiotiques avec

des effets anti obésité pourraient aider à la perte de poids : **Kondo .S** s'est intéressé aux effets de *Bifidobacterium breve B3* sur des souris rendues obèses par un régime riche en graisse et **Takemura N** a montré que *Lactobacillus plantarum 14* permettait une diminution de la masse grasseuse chez des souris nourries par un régime gras (84).

Par la suite, des études ont montré que *Lactobacillus rhamnosus PL60* et *Lactobacillus plantarum PL62* diminuaient la masse grasseuse des souris grâce à leur capacité à produire de l'acide linoléique conjugué. La capacité de l'acide linoléique conjugué à réduire la masse grasseuse a également été montrée chez l'humain (85).

L'acide linoléique conjugué (**ALC** ou **CLA** en anglais) est un dérivé de l'acide linoléique, un acide gras essentiel de la famille des oméga-6. On trouve plusieurs isomères qui semblent avoir plus ou moins d'action (86).

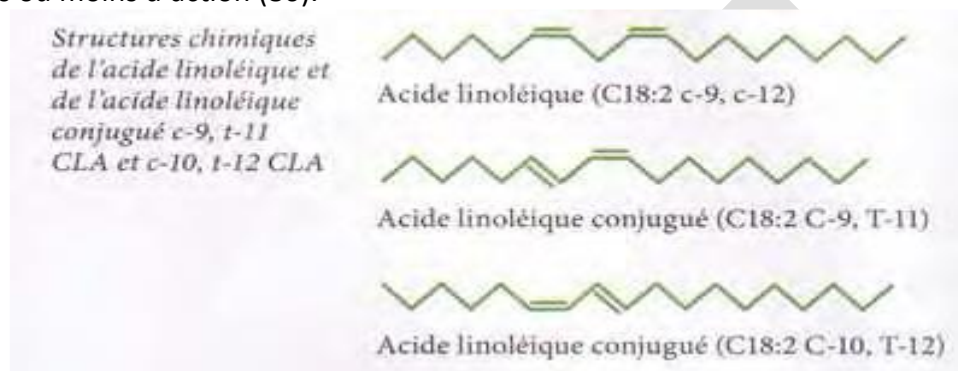


Figure 25: Structure chimique de l'acide linoléique et ALC (86)

[L'acide linoléique conjugué signifie que 2 doubles liaisons sont séparées par une liaison simple, les carbones portant les doubles liaisons sont ici les carbones 9 et 11 sur la 2<sup>ème</sup> représentation et les carbones 10 et 12 sur la troisième. Les symboles C et T signifie « cis » et « trans » cela représente l'isomérisation de la molécule]

Le corps humain n'est pas capable de produire seul une quantité suffisante d'ALC pour obtenir un effet significatif, cette supplémentation doit se faire par l'alimentation (produits laitiers) ou l'ingestion de probiotiques tels que des espèces de *Lactobacillus*, Il a également été rapporté que *Bifidobacterium breve* et *Bifidobacterium dentium* sont capables de produire de l'ALC (86).

La perte de poids et diminution de masse grasseuse induite par une supplémentation en *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* a été constatée dans différentes études sur la souris mais pas encore chez l'humain.

Les mécanismes d'action par lesquels l'ALC conduit à la perte de poids ne sont pas élucidés. L'ALC augmenterait la lipolyse (dégradation des lipides) ainsi que l'oxydation des acides gras au niveau du tissu adipeux et des muscles et favoriserait le métabolisme du glucose (86).

### 5-4-2- Prébiotiques et obésité :

Les effets de l'ingestion de prébiotiques tels que l'**inuline** et l'**oligofructose** ont été étudiés.

Une étude réalisée par **Parnell (87)** s'est intéressée aux effets de l'ingestion d'oligofructose sur le métabolisme de sujets en surpoids et obèses. 48 adultes dont l'IMC était >25 ont été inclus dans l'étude. Après randomisation, une cohorte recevait 21 g d'oligofructose tandis que l'autre recevait un placebo pendant 12 semaines. Les résultats ont montré une perte de poids chez les sujets ayant été supplémentés en oligofructose. Cette perte de poids était corrélée à **une diminution du glucose sanguin** et une **augmentation** de la sécrétion du **peptide YY anorexigène (PYY)** par les cellules intestinales. Ainsi, la supplémentation en oligofructose conduirait à une augmentation du peptide YY avec pour conséquence une diminution de la prise alimentaire entraînant perte de poids et augmentation du métabolisme glucidique chez les personnes en surpoids. Cette étude n'a pas analysé l'évolution de la composition du microbiote intestinal chez les sujets.

Néanmoins, elle s'appuie sur une précédente étude mettant en évidence que l'oligofructose est fermenté par le microbiote intestinal et entraîne une augmentation d'**AGCC**.

Un régime riche en fibre semble être favorable à la stabilité et la diversité du microbiote intestinal. Cela serait également bénéfique sur l'inflammation associée à l'obésité (47). De récentes études réalisées par des chercheurs du **CNRS**, de l'**Inserm** et de l'**Université Claude Bernard Lyon 1** se sont intéressées aux mécanismes par lesquels les fibres alimentaires exerçaient leurs actions bénéfiques pour l'organisme (48). Ils ont mis en évidence que les fibres alimentaires sont fermentées par le microbiote en propionate et butyrate. Or, l'intestin est capable d'utiliser le propionate pour produire du glucose entre les repas. Ce glucose est détecté par le système nerveux présent dans les parois de la veine porte et envoie un signal nerveux au cerveau qui déclenche en retour une signalisation protectrice contre le diabète et l'obésité: la sensation de faim diminue, la dépense énergétique de repos augmente, et enfin, le foie produit moins de glucose. Nous avons vu précédemment qu'un régime hyper lipidique conduit à une augmentation du LPS circulant couplé à une forte diminution des *Bifidobactéries* (87).

Une étude réalisée par **Cani et al (88)** a mis en évidence que l'utilisation de prébiotiques (fructo-oligosaccharides) permettait de restaurer le nombre de *Bifidobactéries* de souris nourries par un régime hyper lipidique. Ceci était corrélé à une baisse des taux plasmatiques de LPS et une diminution de l'inflammation. On retrouvait également une augmentation du nombre de cellules L intestinales et de leurs produits de sécrétion, le **peptide YY** et le Glucagon-like peptide 1, tous deux participant au maintien de la glycémie et au sentiment de satiété. Une autre étude a également montré que l'ingestion d'inuline entraînait une modification favorable du microbiote avec un enrichissement en *Bifidobacterium* chez l'enfant et l'adulte (89).

La figure ci-dessous représente ces mécanismes : on peut voir que la supplémentation en prébiotiques enrichi le microbiote intestinal en *Bifidobactéries* ce qui a pour effet de

diminuer l'inflammation dans le foie, dans le tissu adipeux et dans les muscles ; on observe également l'action sur le métabolisme avec une baisse de la lipogenèse, et une augmentation de la sensibilité des tissus à l'insuline (89).

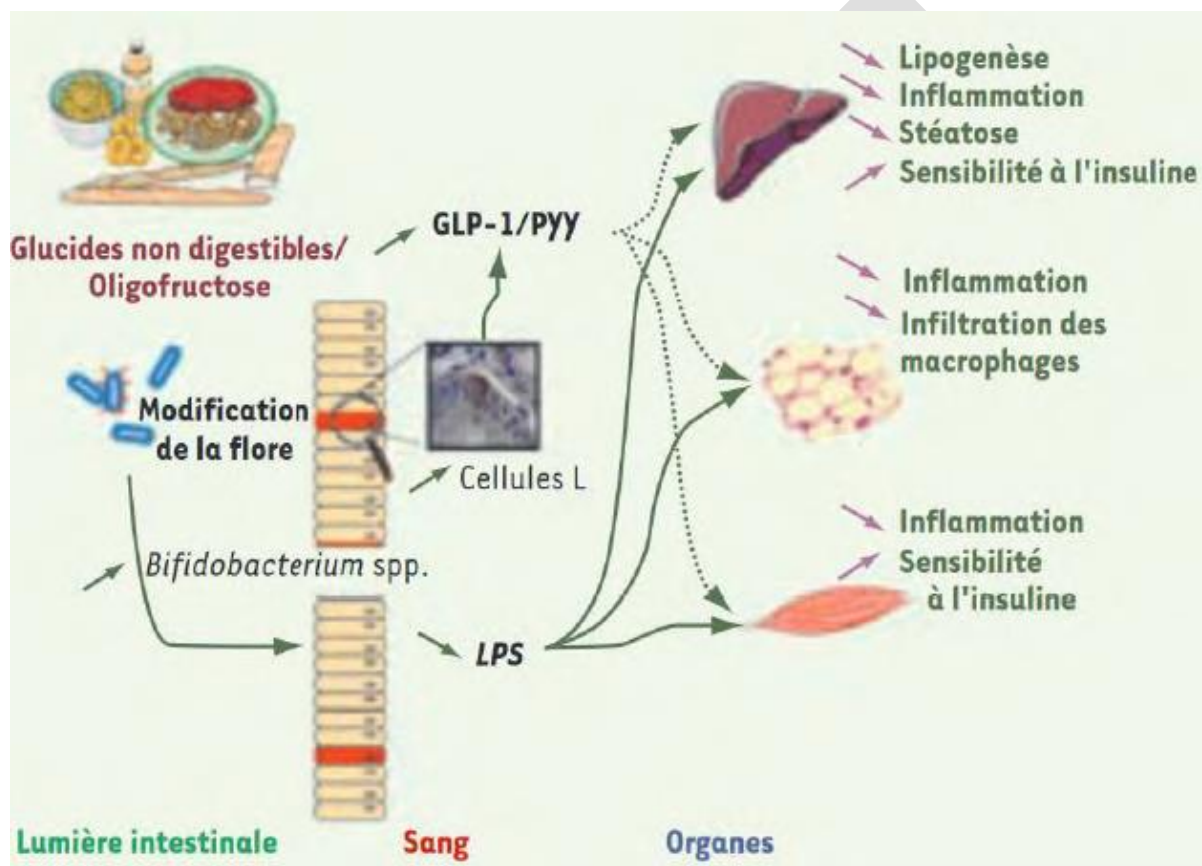


Figure 26: action du prébiotique sur l'inflammation (89)

### Comment réduire la charge du surpoids et de l'obésité?

Le surpoids et l'obésité, ainsi que les maladies non transmissibles qui y sont associées, peuvent être en grande partie évités. Des environnements et des communautés propices sont cruciaux pour induire les choix des populations, en facilitant celui d'aliments plus sains et d'une activité physique régulière en termes d'accessibilité, de disponibilité et de coût, et ainsi agir en prévention du surpoids et de l'obésité.

Au niveau individuel, on peut:

- limiter l'apport énergétique provenant de la consommation des lipides totaux et de sucres;
- consommer davantage de fruits et légumes, de légumineuses, de céréales complètes et de noix;
- avoir une activité physique régulière (60 minutes par jour pour un enfant et 150 minutes par semaine pour un adulte).

La responsabilité individuelle ne peut pleinement jouer son rôle que si on a accès à un mode de vie sain. Il est donc important qu'au niveau de la société, l'individu soit aidé à appliquer les recommandations énoncées ci-dessus, par la mise en œuvre durable de politiques reposant sur des bases factuelles à l'échelle des populations qui rendent les choix de l'activité physique régulière et de meilleures habitudes alimentaires disponibles, financièrement avantageux et facilement accessibles pour tout un chacun, y compris les plus pauvres.

Une taxe sur les boissons sucrées est un exemple de ce type de politiques.

L'industrie agro-alimentaire peut jouer un rôle important de promotion des régimes alimentaires sains:

- en réduisant la teneur en graisses, en sucres et en sel des aliments préparés;
- en proposant à tous les consommateurs des produits sains et nutritifs à un prix abordable;
- en limitant la commercialisation d'aliments riches en lipides, en sel et en sucre, notamment ceux qui sont destinés aux enfants et aux adolescents; et
- en veillant à proposer des aliments sains et à favoriser la pratique d'une activité physique sur le lieu de travail.

## II- DIABETE

### 1-Définition :

Le diabète est une pathologie caractérisée par une hyperglycémie chronique, due à un dysfonctionnement du métabolisme des glucides et des lipides. Ceci se traduit par un défaut de sécrétion de l'insuline, une diminution de la sensibilité des cellules cibles (hépatocytes, adipocytes, cellules musculaires striées) à l'insuline, ou les deux (90).

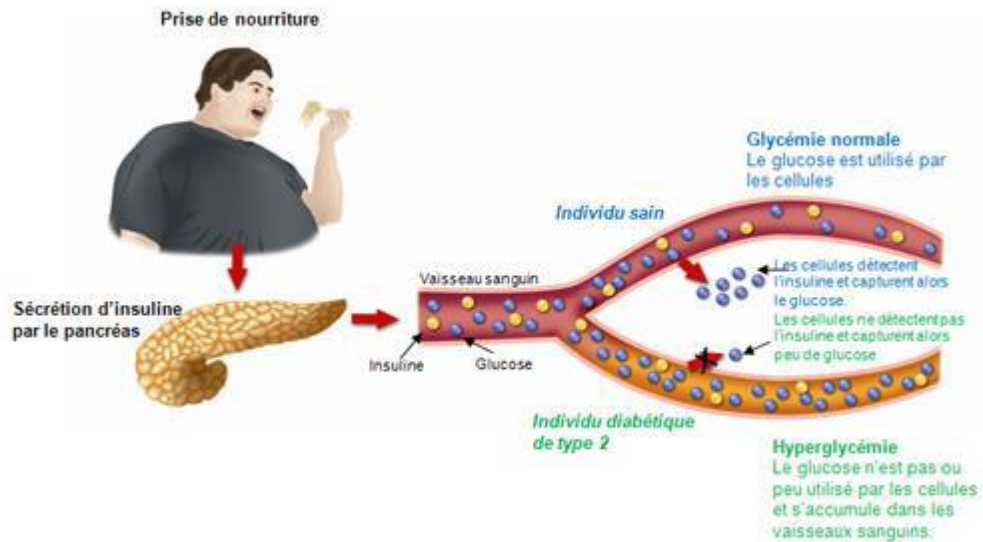


Figure 27: Résistance à l'insuline et hyperglycémie (91)

### 2- Classification:

- **Le diabète insulino-dépendant** ou type **1** appelé diabète **maigre** ou **juvénile** en raison de la destruction des cellules  $\beta$ , entraînant habituellement une carence absolue en insuline. Ce type survient le plus souvent avant l'âge de 20 ans et représente 10 à 15% des diabètes. Il est remarquable par son début brutal : syndrome cardinal et peut être associé à d'autres maladies auto-immunes (maladie de Basedow, thyroïdites, maladie de Biermer).

- **Le diabète non insulino-dépendant** ou type **2** appelé diabète **gras** ou de la **maturité**, en raison d'une anomalie progressive de sécrétion d'insuline à la base de la résistance à l'insuline, il survient le plus souvent après l'âge de 40-50 ans et représente 85 à 90% des diabètes.

- Diabète sucré gestationnel (diabète diagnostiqué pendant la grossesse qui n'est pas manifestement un diabète).

- Diabète induit par anomalies génétiques dans la fonction des cellules  $\beta$  et de l'action de l'insuline.

- Diabète mitochondrial.

- Diabète induit par des médicaments ou des produits chimiques (comme le traitement du **VIH / SIDA** ou après une greffe d'organe)

- Diabète pancréatique (91)



### 3- Physiopathologie du diabète type 2 :

#### 3-1-Rappels anatomiques et histologiques du pancréas :

Le pancréas est une glande mixte qui assure deux fonctions : Une fonction **exocrine** formée de cellules acineuses qui produit le **suc pancréatique** servant à la digestion des aliments ; et une fonction **endocrine** constituée de cellules regroupées dans les îlots de Langerhans . On en compte 1 à 2 millions, ce sont des amas cellulaires de 200 – 300  $\mu$  dotés d'une vascularisation riche et interviennent dans l'innervation sympathique et parasymphatique (92).

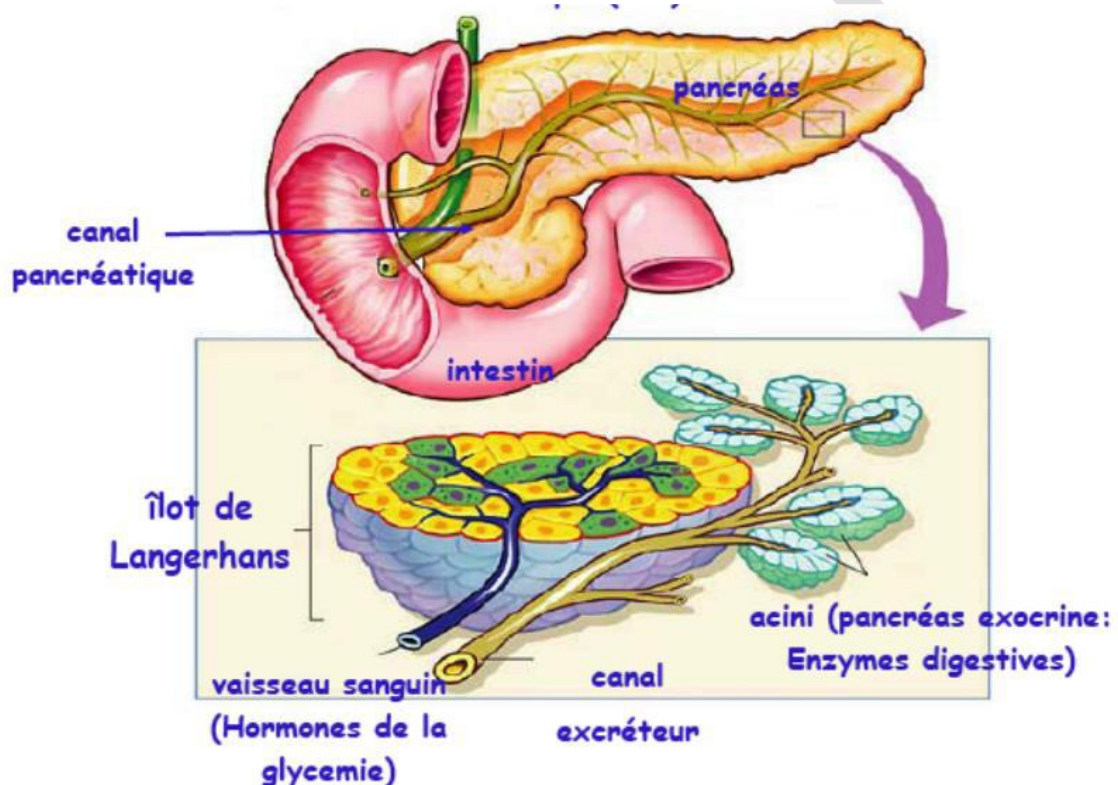


Figure 28: Anatomie du pancréas (93)

La fonction essentielle du pancréas endocrine est donc la production de l'insuline et du glucagon pour assurer l'**homéostasie** du glucose et en particulier le **contrôle** de la **glycémie**.

#### 3-2- Physiopathologie :

Le diabète de **type 2** (diabète non insulino-dépendant) est 10 fois plus fréquent que le diabète de type 1. Il s'agit d'une pathologie hétérogène, caractérisée par une hyperglycémie chronique due à une insuffisance de la capacité du pancréas endocrine à faire face à un état d'insulinorésistance des tissus périphériques, le plus souvent en rapport avec un surpoids,

l'obésité et un défaut sécrétoire qualitatif et quantitatif de la cellule  $\beta$  des îlots de Langerhans. Le défaut de sécrétion d'insuline est **prédominant** dans l'apparition du diabète et dans son aggravation progressive avec le temps (94).

Il y a également un puissant facteur **génétique** dans l'étiologie de cette maladie. Le diabète de type 2 a plus de risque d'apparaître s'il y a un manque d'activité physique (la sédentarité multiplie le risque du diabète par 2) et une alimentation riche (la consommation excessive de graisses saturées et de sucres rapides).

Des facteurs métaboliques peuvent également intervenir à savoir les perturbations de l'**insulinosécrétion** et **insulinorésistance** qui sont associées pour déterminer l'hyperglycémie; le siège de l'anomalie primitive (cellules bêta, muscles striés, foie) demeure toutefois sujet à controverse (94).

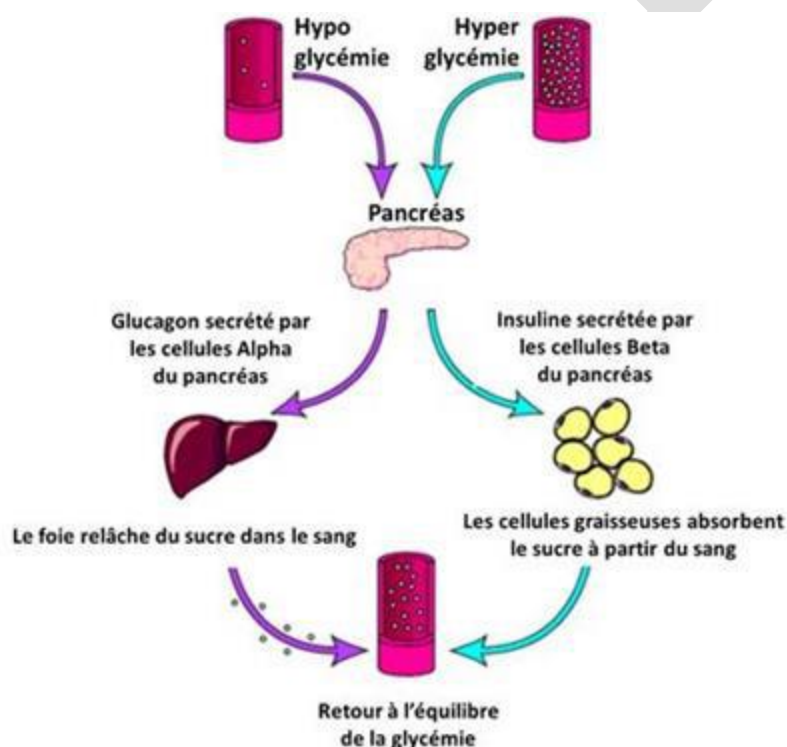


Figure 29:Rôle du pancréas dans le contrôle de la glycémie (95)

### 3-2-1- Insulinorésistance :

L'**insulinorésistance n'explique pas seule la survenue du diabète de type 2**, mais elle caractérise la plupart des diabètes de type 2 avec obésité. L'insulino-résistance est une diminution d'efficacité de l'insuline comme facteur d'utilisation du glucose, elle s'accompagne d'un hyperinsulinisme qui induit une diminution du nombre de récepteurs à l'insuline ou de l'affinité insuline-récepteur avec réponse biologique maximale conservée au prix d'une insulinosécrétion compensatrice (96).

La progression de diabète de type 2 peut se décomposer en 3 phases. Dans le premier stade de la maladie (Stade 1) le patient est hyper-insulinique et normo-glycémique. Par la suite, l'augmentation de la production d'insuline par le pancréas ne suffit plus à maintenir la

glycémie, le patient est alors hyper-insulinique et hyper glycémique (Stade 2). Enfin, le dernier stade (Stade 3) se caractérise par un effondrement de la production d'insuline par le pancréas, le patient est alors hypo-insulinique et hyper glycémique. La succession chronologique de ces événements n'est pas retrouvée chez tous les patients. Bien souvent, l'insulinopénie et l'insulinorésistance participent simultanément et à des degrés variables à l'établissement de l'hyperglycémie chronique (96).

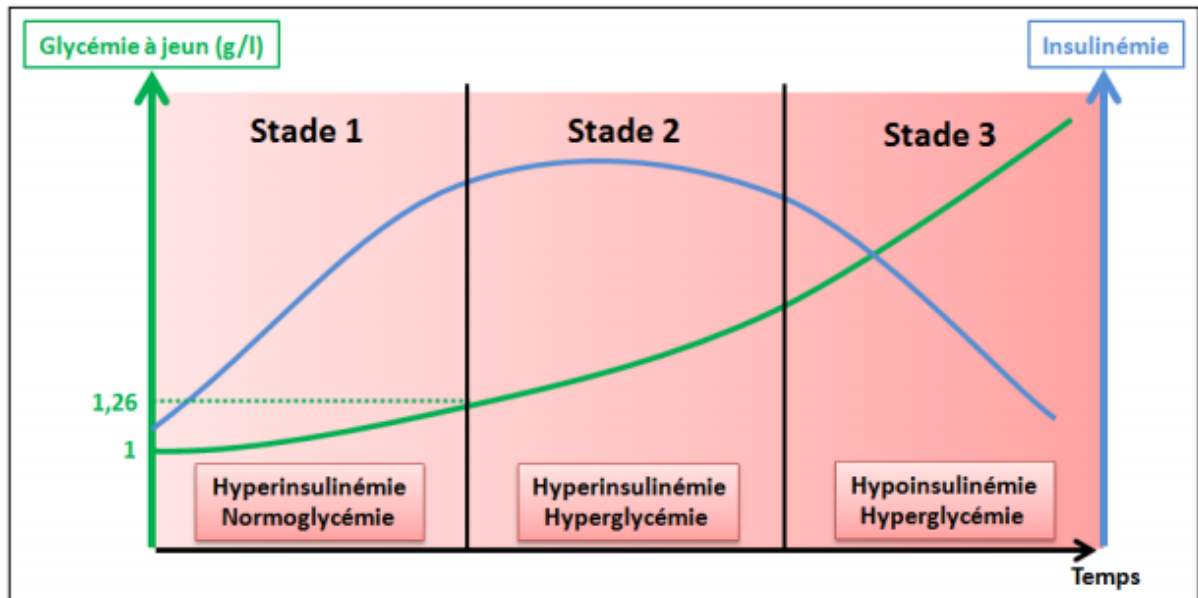


Figure 30: Représentation simplifiée de la progression de l'insulinorésistance lors du développement du diabète de type 2 (96)

Au cours du diabète de type 2, les anomalies du nombre de récepteurs à l'insuline coexistent mais les anomalies post récepteur prédominent. Elles sont associées à l'altération de la réponse biologique maximale et sont d'autant plus marquées que l'équilibre métabolique est mauvais (96).

L'insulinorésistance aggrave les troubles de l'insulinosécrétion entraînant un épuisement pancréatique. On peut trouver un certain degré d'insulinorésistance dans de nombreuses situations cliniques en dehors du diabète telles que l'obésité, l'hypertension artérielle essentielle, grossesse...).

En période postprandiale, le muscle squelettique est le principal organe cible de l'absorption du glucose dans le corps. Une résistance à l'insuline a été observée chez des rats après 10 semaines de consommation d'un régime hyper lipidique (97). L'insulinorésistance est caractérisée par la perte de la capacité cellulaire à répondre à l'insuline, qui se traduit par une diminution de la pénétration cellulaire et de l'oxydation du glucose ainsi que de la synthèse de glycogène.

Les **adipocytes** présentent une fonction **endocrine** (libération de leptine, résistine, adiponectine) qui joue un rôle important dans l'insulinorésistance et l'excès pondéral. Ce qui

provoque une augmentation de la lipolyse et une production accrue d'acides gras libres qui entrent en compétition avec le glucose au niveau des cellules musculaires et entraînent une diminution de la pénétration musculaire du glucose au profit des acides gras (98).

Ceux-ci peuvent **activer les voies de signalisation pro-inflammatoires**, ce qui empêche le bon fonctionnement de la signalisation insulinémique du tissu adipeux ; Le facteur de nécrose tumorale ou Tumor Necrosis Factor alpha (**TNF- $\alpha$** ) a été la première cytokine identifiée au niveau du tissu adipeux de souris obèses. L'influence du TNF- $\alpha$  sur l'insulinorésistance a été rapportée sur des souris dont la synthèse de TNF- $\alpha$  ou de ses récepteurs a été inactivée. Elles présentaient alors une amélioration de la sensibilité à l'insuline dans des modèles d'obésité génétiques ou nutritionnels (99). Des observations concordantes ont été faites chez l'homme : il a été constaté que les obèses présentaient une expression de TNF $\alpha$  élevée dans le tissu adipeux et que la perte de poids était associée à une diminution de cette expression (100). Bien qu'initialement on pensait que le TNF- $\alpha$  soit principalement produit par les adipocytes, l'évolution parallèle de l'infiltration macrophagique et l'augmentation de l'expression de TNF- $\alpha$  chez les sujets obèses suggèrent qu'une fraction importante du taux de TNF- $\alpha$  du tissu adipeux pourrait dériver des macrophages et d'autres cellules du système immunitaire.

**TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$**  et les acides gras libres induisent la phosphorylation de l'insulin receptor substrat-1 (**IRS1**) et de l'insulin receptor substrat-2 (**IRS2**) qui diminue la capacité de ces protéines d'être phosphorylées par le récepteur à l'insuline (in vitro) et peuvent aussi inhiber l'activité d'autophosphorylation du récepteur à l'insuline (activité tyrosine-kinase), perturbant alors la cascade de signalisation qui en découle. On suppose que les acides gras libres agissent via l'activation d'isoformes de la protéine kinase-c (**PKC**) après formation de diacylglycérol. Le TNF- $\alpha$  agit via l'activation de la c-jun N-terminal kinase 1 (**JNK**).

Au niveau du foie, la captation du glucose diminue alors que la production hépatique de glucose augmente (101).

Les mécanismes responsables de l'**insulinorésistance** dans le foie sont controversés et les liens de causalités ne sont pas encore clairement établis. L'augmentation d'acides gras libres dans le foie pourrait induire une insulinorésistance hépatique en favorisant la translocation de la **PKC** du cytosol vers la membrane empêchant la transduction du signal de l'insuline par le biais du complexe membranaire **IRS-PI3K** (102).

### ***3-2-2- Altération de l'insulinosécrétion :***

Les patients souffrant de diabète au tout début de la maladie, présentent un trouble isolé de la première phase de sécrétion d'insuline au cours de l'hyperglycémie provoquée par voie veineuse. La deuxième phase sécrétoire, retardée et plus étalée dans le temps, est longtemps conservée.

Cette incapacité à reconnaître le signal glucose est spécifique de ce substrat puisque la réponse à d'autres stimuli comme certains acides aminés, le GLP-1 ou le glucagon, est conservée au moins initialement. Avec le temps, la baisse de sécrétion s'aggrave, elle va concerner les deux phases de l'insulinosécrétion et s'étendre aussi aux autres insulino-

sécrétagogues. Cette aggravation est associée à une perte de la masse de cellules productrices d'insuline de -40 à -61 % et un renforcement des phénomènes d'apoptose sans compensation accrue de la néoformation de cellules  $\beta$ . Les mécanismes impliqués dans cette altération progressive de la masse et de la fonction cellulaire  $\beta$  font intervenir des facteurs génétiques et le surcroît de demande fonctionnelle lors des états d'hyperglycémie et/ou d'excès d'acides gras libres. Il s'agit en particulier des phénomènes de gluco- et de lipotoxicité. Les états inflammatoires pourraient également participer à ces phénomènes. De plus, la réaction au stress du réticulum endoplasmique, l'unfolded protein response (l'**UPR**), est probablement le dénominateur commun de ces toxicités. Ce qui explique aussi l'aggravation spontanée du diabète de type 2 qui fait que les monothérapies orales voient inéluctablement leurs effets s'estomper, conduisant avec le temps à une inflation thérapeutique : augmentation des posologies, associations d'hypoglycémiants et recours fréquent à l'insulinothérapie. (103)

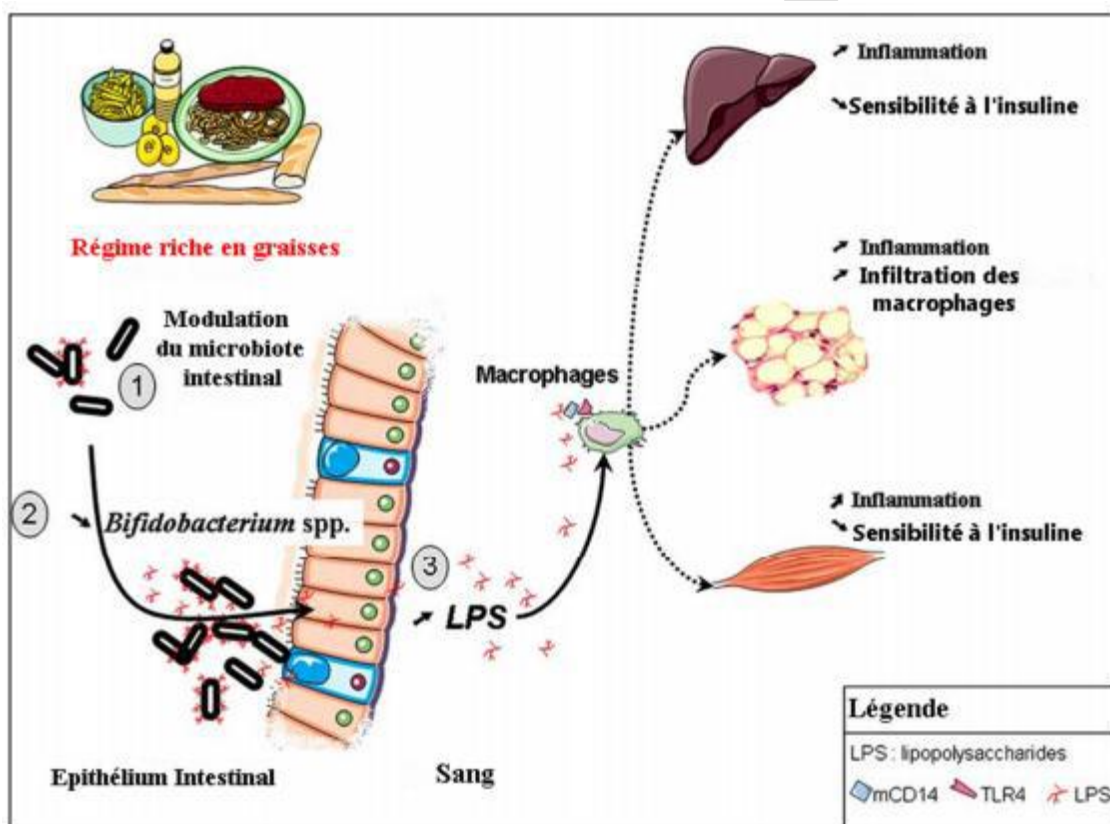


Figure 31: Dysbiose et insulino-résistance (103)

**Cani** et son équipe ont identifié le Lipopolysaccharide bactérien (**LPS**) comme facteur inflammatoire déclenchant la résistance à l'insuline et l'ont défini comme une **endotoxémie métabolique**. (104)

Le changement de la composition du microbiote intestinal (**dysbiose**) suite à un régime gras peut entraîner une hyperperméabilité intestinale et être ainsi à l'origine de cette endotoxémie métabolique et donc à la survenue du diabète de type 2 ; les diabétiques présentent des taux circulants de LPS plus élevés que les sujets sains (105,106)

Plusieurs études ont montré que le régime est capable de moduler le microbiote intestinal et d'augmenter les taux sériques de LPS (107, 108).

En effet, une consommation excessive de graisses favorise une augmentation du LPS circulatoire conduisant à une endotoxémie métabolique par le biais de l'augmentation de la perméabilité intestinale (109, 110).

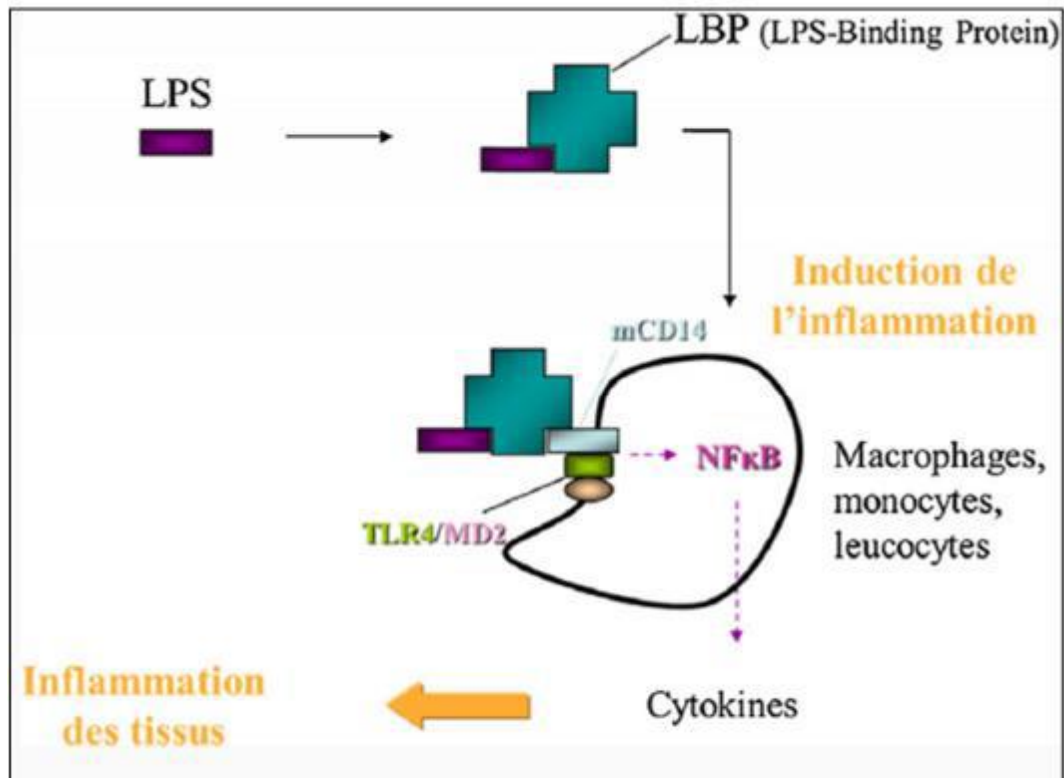


Figure 32: Réaction inflammatoire induite par les LPS (111)

Par ailleurs, une corrélation négative entre la réduction de *Bifidobacterium spp.* et des concentrations plasmatiques de LPS a été observée, l'apport prébiotiques induit l'augmentation des Bifidobactéries ainsi une réduction de l'endotoxémie (111).

Ces bactéries contribuent au renforcement de la barrière intestinale. Leur diminution entrainerait donc une perméabilité accrue de cette barrière ce qui permettrait le passage du LPS dans la circulation (112).

En plus, une étude menée sur la flore fécale des patients atteints de diabète de type 2 a montré une diminution de la proportion de bactéries productrices de butyrate. (*Roseburia inulinivorans*, *Clostridiales*, *Roseburia intestinalis*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium praunitzii*) et une augmentation de pathogènes opportunistes (113) Le butyrate étant un (AGCC) participe au renforcement de la barrière mucoale (114). Notamment en augmentant l'expression des mucines (115, 116) et en stimulant la migration des cellules épithéliales (117).

La Lipopolysaccharide-binding protein (LBP) est une glycoprotéine soluble et spécifique qui se lie au lipopolysaccharide (LPS) et le transporte jusqu'aux macrophages pour induire

une inflammation (Activation du nuclear factor-kappa B (**NF-kB**) et synthèse de cytokines). (117, 118)

Cette réaction inflammatoire va induire en dernier lieu une insulino-résistance en inhibant la voie de signalisation de l'insuline. Le microbiote intestinal constitue ainsi une cible thérapeutique potentielle pour rétablir une homéostasie intestinale limitant la translocation de LPS vers le sang.

## ***5- Implication du microbiote intestinal dans le développement du diabète :***

### ***5-1- Composition du microbiote intestinal dans le diabète de type 2:***

Les patients présentant un diabète de type 2 ont dans leur microbiote une augmentation de certains germes opportunistes tels que *Clostridium spp.* mais aussi de bactéries naturellement présentes comme *Akkermansia muciniphilia*, *Bacteroides spp.* et *Desulfovibrio spp.* (119).

Même chez les enfants, on observe des différences entre ceux touchés par le diabète et ceux qui ne le sont pas. En effet, les enfants diabétiques montrent une augmentation des Firmicutes et une diminution des Bacteroidetes par rapport à leurs homologues sains. En y regardant de plus près, plus de 20% de la différence chez les Bacteroidetes provient de *Bacteroides ovatus* alors que chez les Firmicutes, la variation vient principalement de l'ordre des Clostridiales notamment la souche bactérienne **C019** (120). Dans certaines expériences menées chez le rat, on observait également une diminution des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Une autre variation observée est l'augmentation des Actinobactéries (121). De plus, un traitement antibiotique chez des patients diabétiques entraîne des changements dans la composition du microbiote intestinal et améliore la pathologie.

En plus de ces variations dans les proportions des différents phylas, les personnes diabétiques ont une plus faible diversité bactérienne que les personnes saines. Cette diminution du nombre d'espèces bactériennes expliquerait également l'augmentation de la perméabilité de la muqueuse intestinale et l'altération de la réponse immunitaire intestinale propices au développement du diabète. On observe également chez ces patients d'avantage de bactéries opportunistes (122).

Une autre bactérie, *Akkermansia muciniphilia*, a été associée à plusieurs reprises au métabolisme énergétique et glucidique au cours de ces dernières années(122). Chez l'homme, différents travaux ont corrélié la présence de cette bactérie avec le poids corporel ou encore la glycémie. Notons qu'une diminution de l'abondance de cette bactérie dans l'intestin de patients diabétiques de type 2 n'a pu être rapportée dans toutes les études publiées à ce jour. Récemment, on a mis en évidence qu'*A. muciniphilia* était inversement corrélée à la glycémie à jeun mais également à d'autres paramètres du syndrome

métabolique tels que le rapport l'abondance d'A. Muciniphilia permettrait en outre de prédire la réponse et les améliorations hanche/taille et la taille des adipocytes dans le tissu adipeux sous-cutané chez des patients en surpoids ou obèses. Par ailleurs, la composition du microbiote intestinal et, en particulier, métaboliques d'un patient suite à un régime hypocalorique. En effet, les patients qui possèdent plus d'A. muciniphilia au départ sont les patients qui présentent la meilleure amélioration de la sensibilité à l'insuline, une plus forte diminution du cholestérol total, des **LDL** et du tour de taille suite à un régime hypocalorique. Cependant, à ce jour, aucune étude menée n'a pu démontrer de lien causal entre l'enrichissement ou l'appauvrissement en ces différentes bactéries et le déclenchement ou la protection face au surpoids et au diabète de type 2 (122).

### *5-2- Les particularités du microbiote intestinal dans le diabète de type 2:*

La diversité du microbiote intestinal est primordiale pour maintenir un statut métabolique sain. Les désordres métaboliques sont corrélés à une diminution de la diversité du microbiote intestinal les individus qui possèdent une plus faible richesse bactérienne présentent plus de désordres métaboliques et sont ainsi plus à risque de développer un pré diabète, un diabète ou autres maladies cardiovasculaires. Il faut savoir que cette association est indépendante du poids ou de l'indice de masse corporelle. Les individus qui possèdent à la fois une richesse bactérienne importante et beaucoup d'A. muciniphilia qui ont le meilleur statut métabolique sur la glycémie et les taux des triglycérides sanguins.

Outre les modifications de la composition du microbiote intestinal, des changements des fonctions métaboliques du microbiote intestinal ont également été mis en évidence dans le diabète de type 2. Parmi ceux-ci, on retrouve une augmentation des gènes impliqués dans le transport des acides aminés branchés et des sucres, une augmentation des gènes impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques et des glucides ainsi qu'une augmentation des enzymes réductrices de sulfate. A l'inverse les gènes microbiens impliqués dans la motilité cellulaire, dans la synthèse du butyrate, dans le métabolisme des cofacteurs et vitamines sont diminués chez les patients diabétiques de type 2.

Il faut savoir aussi que le microbiote intestinal interagit constamment avec les voies de signalisation de l'hôte et peut ainsi influencer la balance énergétique de l'hôte et son métabolisme. Plusieurs métabolites microbiens sont capables de moduler les fonctions endocrines de l'intestin et affecter de la sorte le métabolisme du glucose. C'est le cas des acides carboxyliques à chaîne courte.

Les effets des **ACCC** sur la sensibilité à l'insuline et sur l'homéostasie énergétique sont largement reconnus.

Le butyrate et le propionate, sont capables de limiter la prise de poids induite par un régime riche en graisses, et l'acétate est capable de réduire la consommation alimentaire. La liaison des **ACCC** aux **GPR 41** et **43** augmente les taux de **GLP I** et du **PYY**. Le **GLP-I** est un peptide entéro-endocrine produit par les cellules L de l'intestin et impliqué dans le



métabolisme du glucose par son effet incrétine (augmentation de la sécrétion d'insuline) et insulinosensibilisateur (121).

Le **PYY** est un peptide anorexigène également produit par les **cellules L** de l'intestin. Le butyrate et le propionate activent la néoglucogenèse intestinale. Le butyrate exerce cet effet sur la néoglucogenèse intestinale par un mécanisme dépendant de l'**AMPC**, alors que le propionate stimule l'expression de gènes impliqués dans la néoglucogenèse intestinale via l'axe intestin -cerveau impliquant le **GPR41**. La néoglucogenèse intestinale induit la libération de glucose dans la veine porte qui va initier un relais entre l'intestin et le cerveau et ainsi jouer un rôle bénéfique sur l'homéostasie glucidique en régulant la glycémie et la sensibilité à l'insuline. D'autres métabolites bactériens semblent aussi impliqués dans la régulation du métabolisme du glucose. La production d'indole par les bactéries intestinales à partir de tryptophane contribue également à la sécrétion de **GLP-1** par les cellules entéro-endocrines. Les indoles semblent inhiber les canaux de potassium voltage-dépendants provoquant une entrée de calcium dans la cellule L et la libération du **GLP-1**. à l'opposé, à plus long terme, les indoles inhibent le métabolisme des mitochondries induisant ainsi une diminution de la concentration d'**ATP** intracellulaire et l'ouverture de canaux potassiques **ATP** dépendants. Cette hyperpolarisation de la membrane cellulaire ralentit alors la libération de **GLP-1** (122).

### III- LE MICROBIOTE INTESTINAL ET LES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES

Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (**MICI**) se caractérisent par une inflammation de la paroi d'une partie du tube digestif, liée à une hyperactivité du système immunitaire digestif. Dans la maladie de Crohn, l'inflammation peut toucher tous les niveaux du tube digestif de la bouche à l'anus, mais est principalement retrouvée au niveau de l'intestin. Dans la rectocolite hémorragique, l'inflammation est localisée au niveau du côlon et du rectum (123).

Ce sont des maladies chroniques qui évoluent par une alternance de phases de poussées et de phases de rémissions plus ou moins complètes. Lors des poussées inflammatoires, les symptômes vont se présenter sous la forme de douleurs abdominales avec des diarrhées fréquentes, parfois sanglantes.

La prévalence des **MICI** est en constante augmentation ces dernières années. Les **MICI** sont des maladies d'origine **inconnue** mais qui semblent multifactorielles. Une composante génétique a été établie, dans un premier temps par l'observation de formes familiales, puis par la découverte d'un gène de susceptibilité à la maladie de Crohn : **NOD2** et d'un gène protecteur : **IL-23R** (123).

Mais cette prédisposition génétique ne permet pas à elle seule d'expliquer l'apparition de la maladie. D'autres facteurs semblent également impliqués comme des facteurs immunologiques, des facteurs environnementaux tels que le tabac ou l'appendicectomie et des facteurs liés à la composition du microbiote.

**\*\*L'hypothèse actuelle serait que les **MICI** résulteraient d'une réponse immunitaire inadaptée vis-à-vis d'une modification du microbiote intestinal chez des patients génétiquement prédisposés (123).**

#### ***1- La maladie de Crohn :***

##### ***1-1-Définition :***

La maladie de Crohn (**MC**) peut se localiser tout au long du tube digestif mais les atteintes **iléo-coliques** de la maladie sont les plus fréquentes (50 % des cas). L'iléon est atteint isolément dans 30 % des cas et le côlon seul dans 20 %. Par ailleurs, 10 % des patients ont une localisation ano-périnéale spécifique associée.

##### ***1-2- Symptômes :***

La MC évolue sous forme de poussées symptomatiques, entrecoupées d'intervalles asymptomatiques, les deux étant de durées variables. Le diagnostic de la maladie de Crohn en poussée doit être évoqué devant des symptômes digestifs : douleurs abdominales, diarrhée, syndrome dysentérique, syndrome abdominal aigu pouvant simuler une appendicite aiguë (124).

Ces symptômes peuvent être accompagnés de signes généraux comme la fièvre, la fatigue, un amaigrissement, un retard de croissance ou retard pubertaire chez les enfants et les adolescents.

Dans environ 20 % des cas, des manifestations systémiques sont associées aux manifestations digestives. Elles touchent différents organes : la peau, les articulations, les os, les vaisseaux, le foie. Certaines d'entre elles coïncident avec les poussées évolutives de la maladie intestinale.

#### Endoscopie (iléon)

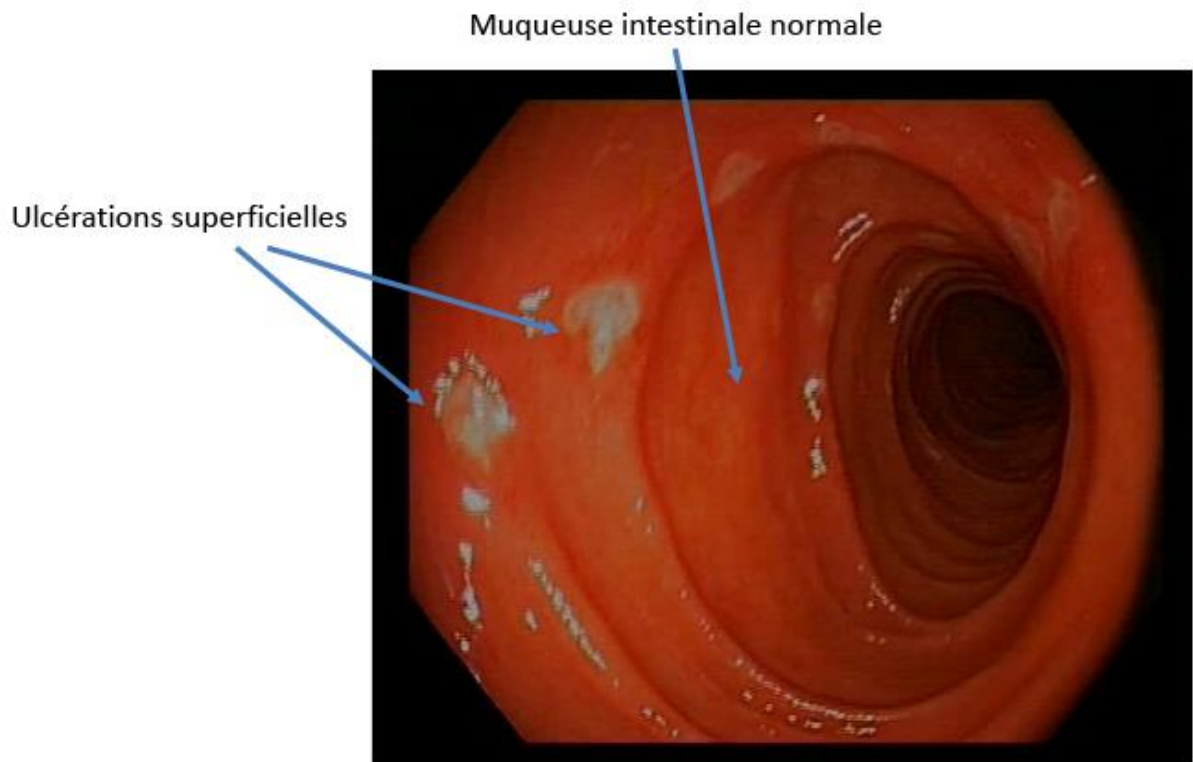


Figure 33:Endoscopie d'iléon touche de maladie de Crohn (124)

#### ***1-3-Complications :***

Les complications peuvent se présenter sous différentes formes telles que :  
des sténoses : ce sont des rétrécissements d'une partie du tube digestif, elles sont fréquentes et peuvent entraîner une occlusion intestinale.

Des fistules : ce sont des communications anormales entre diverses cavités de l'organisme à travers les muqueuses, elles peuvent être entérovésicales, entéroentériques, entéromésentériques, entérocutanées, rectovaginales et péri-anales.

Le risque d'adénocarcinome de l'intestin grêle est considéré comme plus élevé chez les patients atteints de **MC** par rapport à la population générale mais reste faible.

### ***1-4-Etiologies :***

L'étiologie de la maladie de Crohn n'est pas clairement établie mais il est généralement admis qu'il s'agit d'une réponse immunitaire inadaptée à la flore commensale chez un individu génétiquement susceptible.

La mutation du gène **NOD2** est retrouvée dans des populations souffrant de la maladie de Crohn. Cette mutation altère une partie de la protéine codée par ce gène permettant la reconnaissance des éléments bactériens. La protéine **NOD2** est un récepteur intracellulaire qui reconnaît la partie élémentaire de toute paroi bactérienne : le muramyl-dipeptide (**MDP**) après invasion de la bactérie dans la cellule. Elle joue donc un rôle fondamental dans la reconnaissance bactérienne et la défense innée (125).

La protéine **NOD2** est exprimée de manière constitutive dans différents types de cellules telles que les macrophages, les neutrophiles et les cellules dendritiques, mais aussi par les cellules de Paneth. L'activation de la protéine **NOD2** aboutit à l'activation du facteur NF- $\kappa$ B qui est un facteur majeur de transcription nucléaire à l'origine de la réponse inflammatoire.

Les cellules de **Paneth** présentes dans les cryptes intestinales produisent des peptides antimicrobiens appelés défensines ayant un rôle majeur dans l'immunité innée de l'intestin grêle. Il a été montré que la production des défensines **HD-5** et **HD-6** est diminuée chez les patients atteints de **MC** iléale, et ce d'autant plus que les patients sont porteurs d'une mutation de **NOD2** (125).

Ces éléments suggèrent qu'une réponse inflammatoire déficiente pourrait être à l'origine de la maladie de Crohn. La découverte des mutations du gène **NOD2** dans la maladie de Crohn a permis de mieux comprendre le rôle de la défense innée dans la pathogenèse de cette maladie.

### ***1-5-Les traitements :***

La **MC** n'a pour le moment pas de traitement spécifique. Les traitements vont avoir comme objectifs de traiter les crises pour induire une rémission ou de maintenir cet état de rémission pour éviter la survenue d'une nouvelle crise (126).

Traitement des crises : la stratégie dépendra de la localisation des lésions et de la sévérité des atteintes :

- dans les formes légères à modérées qui touchent l'iléon ou le côlon ascendant, des corticoïdes à action locale sont utilisés, tel que le budésone. En cas d'échec, une corticothérapie systémique (prednisone ou prednisolone) sera indiquée.

Dans les formes coliques étendues, un traitement par corticothérapie systémique est indiqué d'emblée.

- dans les formes d'activité sévère : une corticothérapie systémique est indiquée en association éventuellement avec un immunosuppresseur tel que l'azathioprine. En cas d'intolérance ou d'échec de la corticothérapie, un traitement **anti-TNF** (Infliximab,

Adalimumab) est indiqué, il s'agit d'anticorps monoclonaux **anti TNF $\alpha$**  (tumor necrosis factor alpha), qui se lie à cette cytokine pro-inflammatoire pour en limiter l'action.  
Traitement pour le maintien de la rémission :

Les immunosuppresseurs sont indiqués en cas de rechute précoce (moins de 3 mois après la fin de la poussée), afin de réduire l'exposition aux corticoïdes et le risque de rechutes ultérieures. L'azathioprine est le plus utilisé, les anti-TNF sont indiqués en cas de résultat insuffisant (corticorésistance) et de corticodépendance non contrôlée par l'azathioprine.

Une chirurgie pourra être réalisée dans les formes sévères où il est nécessaire de mettre au repos une partie du tube digestif, avec résection d'une partie de l'intestin ou lors de complications nécessitant un geste opératoire (126).

### ***1-6- La flore intestinale dans la MC :***

Le premier élément marquant qui suggère l'implication du microbiote dans la pathogénie des MICI est la localisation des lésions au niveau de l'iléon et du côlon, ce qui représente les segments ayant les concentrations en bactéries les plus élevées du tube digestif.

Chez les patients atteints de MICI, il a été mis en évidence la présence d'un déséquilibre dans la composition du microbiote intestinal.

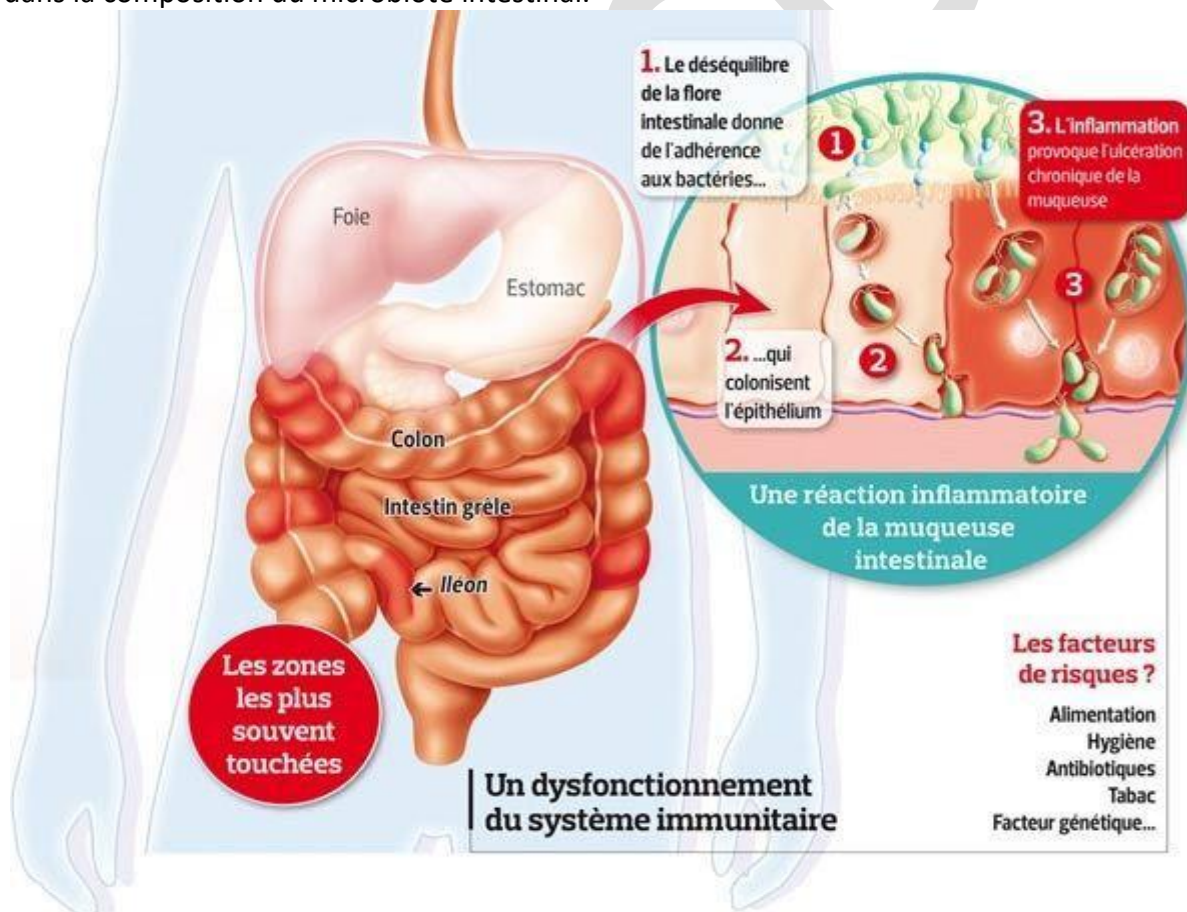


Figure 34:Le microbiote dans la maladie de Crohn (127)

Il a été observé chez les patients atteints de MICI et de manière encore plus marquée chez les patients souffrant de MC, que la concentration en bactéries du microbiote est significativement plus élevée par rapport à des sujets témoins. Une instabilité du microbiote

au cours du temps, une restriction de la biodiversité et la présence de bactéries inhabituelles sont également notées. De plus, la concentration en bactéries augmente avec la sévérité de la maladie (128).

L'étude de la flore des patients atteints de MC a montré une réduction quantitative et qualitative du phylum Firmicutes, et particulièrement du groupe Clostridium leptum. Ce groupe comporte notamment la souche Faecalibacterium prausnitzii dont la concentration est fortement diminuée. La diminution de cette bactérie associée au développement de la MC suggère son rôle anti-inflammatoire (129).

Il a été montré que d'autres bactéries considérées comme bénéfiques pour l'hôte étaient quantitativement diminuées dans le microbiote fécal des patients atteints de MC dont des Lactobacilles et des Bifidobacteria, alors qu'on observe une augmentation des Enterobactéries et de certains pathogènes tels qu'E. coli AIEC ou Mycobacterium avium paratuberculosis.

De plus cette dysbiose, et notamment le déficit en F. prausnitzii, semble plus marquée chez les sujets en poussée de **MICI** que chez les sujets en rémission.

Découvertes récentes dans la maladie de Crohn :

La bactérie F.prausnitzii est une bactérie anaérobie stricte appartenant au phylum des Firmicutes. Elle participe au processus de fermentation et produit des **AGCC**. En effet, elle est l'une des productrices principales de butyrate qui est l'un des principaux nutriments de la muqueuse intestinale et qui est doué de propriétés anti-inflammatoires.

C'est la bactérie la plus abondante du microbiote intestinal (+ de 5%) mais sa concentration varie le long du tube digestif. Les concentrations les plus élevées se retrouvent au niveau de l'iléon terminal, du côlon ascendant et du côlon transverse.

Sa présence est détectée chez les nourrissons à partir de 6 mois et sa concentration augmente jusqu'à l'âge de 2 ans, elle est dominante à partir de 3 ans chez la majorité des enfants (129).

Plusieurs études ont montré que la concentration de la bactérie F.prausnitzii est diminuée dans les fèces et le mucus intestinal des patients atteints de **MICI** en comparaison aux sujets sains. Ce déséquilibre est aussi marqué par une inflammation locale et une diversité globale diminuée dans la composition du microbiote (130).

Les bactéries telles que F. prausnitzii semblent avoir un effet anti-inflammatoire à la fois par la production d'AGCC mais aussi direct par la production de métabolites qui inhibent la production d'**IL-8**.

Propriétés immuno-modulatrices de F prausnitzii :

L'activité anti-inflammatoire de F. prausnitzii a été évaluée in vitro et in vivo chez des souris souffrant de colites induites par l'acide 2, 4, 6-trinitrobenzènesulfonique (**TNBS**) (65).

In vitro, la bactérie seule n'a pas d'effet sur l'activité **NF-KB** alors que le surnageant de culture abolit l'activité **NF-KB**.

**In vitro**, *F. prausnitzii* induit une faible production de molécules pro-inflammatoire par les lymphocytes et les monocytes et une augmentation des molécules anti-inflammatoire. Au niveau des cellules épithéliales intestinales, on observe une diminution de l'**IL-12** et de l'**INF- $\gamma$** , et une augmentation des sécrétions d'**IL-10**.

L'administration orale de la bactérie vivante ou de son surnageant chez la souris réduit la sévérité de la colite induite et semble corriger la dysbiose. *F. prausnitzii* présente des effets anti-inflammatoires en partie à cause des métabolites sécrétés capables de bloquer l'activation de **NF-KB** et la production d'**IL-8**.

Une molécule sécrétée par la bactérie *F. prausnitzii* a été identifiée en culture, elle a été baptisée **MAM** pour Microbial Anti inflammatory Molecule.

Le transfert de l'**ADN** de **MAM** dans des cellules épithéliales a conduit à une diminution significative de l'activation de la voie du facteur nucléaire **NF-KB** avec un effet dose-dépendant.

Un plasmide codant la protéine **MAM** a été introduit à des bactéries *L. lactis*. Ces bactéries ont été ingérées par des souris souffrant de colites induites par le **DNBS**. Ce traitement probiotique a protégé les souris de l'inflammation.

Cela a permis de comprendre que **MAM** est une protéine capable d'inhiber la voie **NF-KB** in vitro et de prévenir les inflammations intestinales in vivo. Cette molécule diminue l'activation d'un acteur moléculaire important : **NF-KB** impliqué dans la production de cytokines pro-inflammatoires.

Ces découvertes permettent de penser à de nouvelles approches préventives et thérapeutiques dans la maladie de Crohn. Il pourrait s'agir de l'administration directe de probiotiques de la souche *F. prausnitzii* pour rétablir le niveau de la bactérie dans le tube digestif, ou bien l'utilisation de la protéine **MAM** qui pourrait être développée sous forme d'un médicament spécifique à la maladie de Crohn. Des essais cliniques sont maintenant nécessaires pour évaluer l'action de la bactérie chez l'homme (130).

## CONCLUSION:

Le microbiote intestinal, jusqu'alors peu connu, constitue un élément incontournable de notre organisme. La communauté scientifique le considère même comme un organe à part entière. Il est alors primordial d'identifier cet organe du point de vue de sa composition et de son activité métabolique.

Le microbiote est une communauté complexe de microorganismes, propre à chaque individu. Le progrès des techniques moléculaires combiné au lancement de projets de grande ampleur tel MetaHit en Europe nous a permis de comprendre sa composition, et aussi son rôle. Les données montrent que le microbiote d'un individu peut être classé dans un des trois entérotypes identifiés, dont la composition dépend en partie du régime alimentaire. Cependant d'autres facteurs contribuent à la composition d'un microbiote définitif et stable : le patrimoine génétique ainsi que l'environnement dans lequel nous vivons au quotidien.

Le microbiote intestinal agit sur notre santé en exerçant des fonctions bénéfiques. Cependant, si un microbiote intestinal équilibré est un signe de bonne santé, les travaux chez l'animal et l'homme font état d'un lien entre une modification de la flore intestinale et la survenue de pathologies. Ainsi, le microbiote intestinal est une des étiologies de l'obésité et des manifestations allergiques.

Devant ces constatations, de nombreuses études se sont intéressées à la modulation du microbiote intestinal comme **approches thérapeutiques**. Nous avons présenté deux approches : la supplémentation avec des **prébiotiques** ou **probiotiques**, ainsi que le **transfert de flore fécale**.

Les probiotiques et prébiotiques sont actuellement confrontés à un paradoxe : le marché est en pleine expansion avec une gamme très large et un marketing important tandis que les études scientifiques, très prometteuses, ne sont néanmoins pas encore suffisamment significatives pour donner aux pré- et probiotiques leur place dans les stratégies thérapeutiques. Devant ce constat, **le pharmacien a un rôle clé**, il doit guider et conseiller le patient sur le choix de la souche et son indication.

On voit actuellement dans les officines des patients souhaitant prendre des probiotiques « parce que c'est bon pour la santé », le pharmacien doit pouvoir expliquer ce qu'est un probiotique ou prébiotique, pour quelle indication le prendre et comment le prendre. Les études s'avèrent toutefois prometteuses et leur utilisation pourrait devenir une réelle approche thérapeutique. Il est donc absolument nécessaire d'avoir une bonne connaissance pour les utiliser au meilleur de leur potentiel.

**Le transfert de flore fécale**, employée uniquement à ce jour pour des infections à *Clostridium difficile* réfractaires, est une technique très prometteuse pour les autres pathologies pour lesquelles le microbiote intestinal est impliqué.



Ces dernières années, le bond dans les connaissances sur le microbiote intestinal et le succès spectaculaire de la TMF dans la première étude sur le traitement de l'infection récidivante à *C. difficile* en 2013 ont suscité beaucoup d'intérêt pour cette approche thérapeutique. La TMF a révolutionné la prise en charge des infections récidivantes à *C. difficile* avec des taux d'efficacité de l'ordre de 90 %. Bien que des essais contrôlés soient encore nécessaires, cette approche semble également efficace pour le traitement des formes réfractaires ou compliquées en alternative à la chirurgie. Les résultats dans la RCH sont encourageants mais la place et les modalités précises de la TMF restent à déterminer et les résultats dans la maladie de Crohn restent très limités. Pour toutes les autres indications potentielles, les premières données commencent seulement à être publiées. En dehors des infections à *C. difficile* récidivantes, la TMF ne doit pas être pratiquée hors protocole de recherche.

La réalisation d'une TMF est d'une grande complexité sur le plan logistique et, à la grande variabilité inter- et intra-individuelle du microbiote, s'ajoute la méconnaissance de la composition précise des selles. Des alternatives sont déjà à l'étude et la recherche est très active pour développer des microbiotes « artificiels » composés de bactéries cultivées en laboratoire et choisies pour leurs effets dans une pathologie donnée. L'efficacité de ce type d'approche devra être testée mais ses avantages théoriques sont ceux d'un produit contrôlé, stable et d'approvisionnement régulier.

**Malgré l'avancée des recherches, le microbiote intestinal reste un écosystème sur lequel il y a encore beaucoup à découvrir.**

## **RÉSUMÉ:**

*Le microbiote intestinal humain représente un écosystème complexe composé d'un grand nombre de micro-organismes vivant en totale symbiose avec leur hôte. Afin d'identifier les espèces constituant la flore digestive, anciennement on a opté pour les techniques reposant sur la culture permettant de cultiver à peine 10% des espèces du microbiote intestinal, mais l'avènement des techniques moléculaires indépendantes de la culture qu'a connu le monde dernièrement, a permis une meilleure identification de la composition, la structure et la diversité de ce microbiote, ainsi que la détermination de certains facteurs qui influencent la modulation de sa constitution qui peuvent entraîner une dysbiose intestinale avec l'âge (alimentation, prise médicamenteuse...). Il existe au cours de ces dernières années, un véritable engouement de la recherche qui porte sur les relations hôte-microbiote et leurs conséquences en matière de santé. Il a été révélé que le microbiote est impliqué dans la protection de la physiologie intestinale et joue un rôle important dans la maturation du système immunitaire et dans de nombreuses fonctions métaboliques fondamentales comme la fermentation des sucres et des protéines ainsi que le métabolisme des xénobiotiques et des acides biliaires. De nombreuses études ont été réalisées pour but de montrer la relation du désordre du microbiote intestinal avec les maladies métaboliques tel que l'obésité, le diabète, les maladies cardiovasculaires, les hépato-pathologies... plusieurs groupes de bactéries sont incriminés et de nombreuses hypothèses ont été proposées. Toutefois, le mécanisme exact impliqué dans le développement de ces pathologies reste en grande partie non élucidé. Ces résultats ont mis le jour sur de nouvelles orientations d'études ciblant à restaurer l'équilibre du microbiote intestinal, c'est l'exemple des probiotiques et de la transplantation du microbiote fécal. Enfin, le pharmacien par son intervention de première ligne, est tenu d'informer ses patients des règles de bonnes pratiques d'utilisation des antibiotiques et d'éviter l'automédication vue l'impact qu'elle a sur la modulation et la fragilisation du microbiote pouvant ainsi aboutir à des résistances et des pathologies sévères.*

## **ABSTRACT:**

*Human gastrointestinal microbiota represents a complex ecosystem consists of a large number of microorganisms living in total symbiosis with their host. In order to identify the species constituting the digestive flora, formerly, crop-based techniques were used to cultivate barely 10% of these species. But with the advent of culture-independent molecular techniques, that the world has known recently, we can do now a better identification of the composition, the structure, and the diversity of this microbiota, as well as the determination of some factors that impact the modification of its constitution, that may cause dysbiosis with age (diet, drug intake,...). Recently, there has been a surge in research on host-microbiota relationships and their health consequences. It has been revealed that the microbiota is involved in the protection of intestinal physiology, and has an important role in the maturation of immune system and in many fundamental metabolic functions such as proteins and sugars fermentation, as well as the metabolism of xenobiotics and bile acids. Many studies have been conducted to elucidate the relationship of gastrointestinal microbiota disorder and metabolic diseases such as obesity, diabetes, cardiovascular diseases, hepatopathies... several groups of bacteria are incriminated, and many hypotheses have been proposed. However, the mechanism involved in the development of these pathologies remains largely unclear. These results have let to orientations of studies aiming to restore the balance of the gastrointestinal microbiota, such as probiotics and fecal microbiota transplantation. Finally, the pharmacist by his frontline intervention, is called to sensitize his patients about the proper use of antibiotics, and the consequences of self-medication that may badly harm the microbiota and causes its fragility which can lead to resistance and severe pathologies.*

## BIBLIOGRAPHIE :

- 1-Philippe Marteau, Joël Doré. *Le microbiote intestinal, un organe à part entière*. John Libbey Eurotext. 2017. 338 p.
- 2- Microbiote intestinal et santé [Internet]. [cité 30 oct 2017]. Disponible sur : <https://www.inserm.fr/thematiques/physiopathologie-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/microbiote-intestinal-et-sante>
- 3- *Burcelin, R., L. Zitvogel, G. Fond et H. Sokol. 2016. « Microbiote intestinal (flore intestinale) » Disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>*
- 4-<https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/microbiotes-moins-connu-microbiote-mycobiote-intestinal-86267/>
- 5- *Muniz, Luciana R., Camille Knosp, et Garabet Yeretssian. 2012. « Intestinal Antimicrobial Peptides during Homeostasis, Infection, and Disease ». *Frontiers in Immunology* 3: 310 .*
- 6-Abreu, Maria T. « Toll-like Receptor Signalling in the Intestinal Epithelium : How Bacterial Recognition Shapes Intestinal Function ». *Nature Reviews Immunology*. 2010. 10 (2) : 131-44.
- 7- *CDU-HGE « Microbiote et immunité intestinale ». Editions Elsevier-Masson - Octobre 2014. Disponible sur : [https://www.snfge.org/sites/default/files/SNFGE/Formation/chap-13\\_fondamentaux-pathologie-digestive\\_octobre-2014.pdf](https://www.snfge.org/sites/default/files/SNFGE/Formation/chap-13_fondamentaux-pathologie-digestive_octobre-2014.pdf)*
- 8-*Barbut, Frédéric, et Francisca Joly. 2010. « Le microbiote intestinal : équilibre et dysbiose ». *Hépatogastro & Oncologie Digestive* 17 (6): 511-20. [https://www.cnp-hge.fr/dt\\_logos/cdu-hge](https://www.cnp-hge.fr/dt_logos/cdu-hge)*
- 9-Les microbiotes humains : des alliés pour notre santé [Internet]. Encyclopédie de l'environnement. 2017 [cité 30 oct 2017]. Disponible sur : <http://www.encyclopedie-environnement.org/sante/les-microbiotes-humains-desallies-pour-notre-sante/>
- 10- *Marteau P, Doré J. *Le microbiote intestinal, un organe à part entière*. John Libbey Eurotext. 2017. 338 p.*
- 11- <https://www.livrescolaire.fr/page/6095142>
- 12- Abreu, Maria T. « Toll-like Receptor Signalling in the Intestinal Epithelium : How Bacterial Recognition Shapes Intestinal Function ». *Nature Reviews Immunology*. 2010. 10 (2) : 131-44.
- 13- Peris-Bondia, F. et al., The active human gut microbiota differs from the total microbiota. *PLoS one*, 2011. 6(7), p.e22448.

- 14- Jeffery, I.B. et al., Categorization of the gut microbiota: entérotypes or gradients? *Nature Reviews Microbiology*, 2012. 10(9), pp.591–592.
- 15- Peterson, D. a et al., Metagenomic approaches for defining the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Cell host & microbe*, 2008. 3(6), pp.417–27.
- 16- Rigottier-Gois, L. et al., Fluorescent hybridisation combined with flow cytometry and hybridisation of total RNA to analyse the composition of microbial communities in human faeces using 16S rRNA probes. *FEMS microbiology ecology*, 2003. 43(2), pp.237–45.
- 17- Ben-Amor, K. et al., Genetic Diversity of Viable, Injured, and Dead Fecal Bacteria Assessed by Fluorescence-Activated Cell Sorting and 16S rRNA Gene Analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005. 71(8), pp.4679–4689.
- 18- Zoetendal, E.G., Akkermans, a D. & De Vos, W.M., Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 1998. 64(10), pp.3854–9.
- 19- Noor, S.O. et al., Ulcerative colitis and irritable bowel patients exhibit distinct abnormalities of the gut microbiota. *BMC gastroenterology*, 2010. 10(1), p.134.
- 20- Palmer, C. et al., Rapid quantitative profiling of complex microbial populations. *Nucleic Acids Research*, 2006. 34(1), pp. e5–e5.
- 21- Everard, A. et al., Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. *Diabetes*, 2011. 60(11), pp.2775–86.
- 22- Geurts, L. et al., Altered gut microbiota and endocannabinoid system tone in obese and diabetic leptin-resistant mice: impact on apelin regulation in adipose tissue. *Frontiers in microbiology*, 2011. 13(2) pp. 149-166.
- 23- Sokol, H. et al., Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflammatory bowel diseases*, 2009. 15(8), pp.1183–1189.
- 24- Grall N, A.A., Ruppé E, *Microbiote intestinale EMC - Biologie médicale*. 2017. 12 : p. 1-9.
- 25- Mahowald, M.A. et al., Characterizing a model human gut microbiota composed of members of its two dominant bacterial phyla. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009. 106(14), pp.5859–5864.
- 26- Klaassens, E.S. et al., Mixed-species genomic microarray analysis of fecal samples reveals differential transcriptional responses of bifidobacteria in breast- and formula-fed infants. *Applied and environmental microbiology*, 2009. 75(9), pp.2668–2676.

27- Gosalbes, M.J. et al., Metatranscriptomic approach to analyze the functional human gut microbiota. PLoS ONE, 2011. 6(3), pp.1–9.

28- Stewart, F.J., Ottesen, E.A. & DeLong, E.F., Development and quantitative analyses of a universal rRNA-subtraction protocol for microbial metatranscriptomics. The ISME journal, 2010. 4(7), pp.896–907.

29- Van Vliet, A.H.M., Next generation sequencing of microbial transcriptomes: challenges and opportunities. FEMS microbiology letters, 2010. 302(1), pp.1–7.

30- Klaassens, E.S., De Vos, W.M. & Vaughan, E.E., Metaproteomics approach to study the functionality of the microbiota in the human infant gastrointestinal tract. Applied and environmental microbiology, 2007. 73(4), pp.1388–1392.

31- Sekirov, I. et al., Gut Microbiota in Health and Disease. Physiological Reviews, 2010. 90(3) pp.859–904.

32- Benndorf, D. et al., Functional metaproteome analysis of protein extracts from contaminated soil and groundwater. The ISME Journal, 2007. 1(3), pp.224–234.

33- Coudeyras S, Forestier C. *Microbiota and probiotics: effects on human health. Can J Microbiol.* 2010 Aug; 56(8):611-50. doi: 10.1139/w10-052.

34- Penders J., THUIS C. et al. *Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. Maastricht: American Academy of Pediatrics, 2006.*

35- Biasucci G1, Rubini M, Riboni S, Morelli L, Bessi E, Retetangos C. *Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. Early Hum Dev.* 2010 Jul;86 Suppl 1:13-5. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2010.01.004. Epub 2010 Feb 4.

36- <https://www.sosds.org/a-propos/cours-archives/13-le-microbiote-et-la-sante-focus-sur-le-microbiote-bucco-dentaire/file.html>

37- R. Cibik, F. Marcille, G. Corthier, and J. Dore, “Bacterial intestinal flora: development, characteristics and influence of the type of feeding” *Arch Pédiatrie*, vol. 11, no. 6, pp. 573–575, Jun. 2004

38- Agence Science Presse [internet] *A la découverte des cellules du lait maternel.* Disponible sur <http://www.sciencepresse.qc.ca/>

39- Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Annual Meeting 3 Feb, 2016 *Maternal Diet Alters the Breast Milk Microbiome and Microbial Gene Content*

40- Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen ML, Bolte E. *Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. Clin Infect Dis.* 2002;

41-Yatsunenkeno et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. Nature 486, 222–227(14 June 2012 ) doi: 10.1038/nature11053

42-<http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/immunité-et-vaccination/thematiques/virus-et-immunité/le-microbiote-dans-le-cadre-du-nouveau-programme-de-seconde-rentree-2019/les-variations-de-la-composition-du-microbiote-demarche-simplifiee-avec-netbiodyn>

43-Lawrence A. David, Corinne F. Maurice, Rachel N. Carmody, David B. Gootenberg, Julie E. Button. « Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome ». Nature 505, 559–563 (23 January 2014) doi: 10.1038/nature12820

44-Campeotto, F., A. J. Waligora-Dupriet, F. Doucet-Populaire, N. Kalach, C. Dupont & M. J. Butel (2007) "Establishment of the intestinal microflora in neonates". Gastroenterol Clin Biol, 31, 533-42

45-Grall N, Andremont A, Ruppé E. Microbiote intestinal. [Httpwwwem- Premiumcomdoc-Distantuniv-Lille2/fr/datas/traitements/bioemb-75692](http://www.em-premium.com/doc-distant-univ-lille2/fr/datas/traitements/bioemb-75692) [Internet]. 13 janv 2017 [cité 30 sept 2017]; Disponible sur: [http://www.em-premium.com.doc-distant.univ-lille2.fr/article/1101744/resultatrecherche/1](http://www.em-premium.com/doc-distant.univ-lille2.fr/article/1101744/resultatrecherche/1)

46- Nicolas S. Modulation de l'homéostasie glucidique par transfert de microbiote intestinal chez la souris conventionnelle. Université Toulouse 3 Paul Sabatier 2016.

47- Hooper LV, Gordon GI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. Science. 2001;(292).

48-O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep. 2006;(7).

49-Strober W, Ehrhardt RO. Chronic intestinal inflammation : an unexpected outcome in cytokin or T cell receptor mutant mice. Cell. 1993.

50- <https://www.lamedecinedusport.com/nutrition/sports-immunité-interets-des-probiotiques/>. (visité le 20 Décembre 2019)

51- Bernalier-Donadille A. Fermentative metabolism by the human gut microbiota. Gastroenterol Clin Biol. 2010;(34).

52- Macfarlane GT, Gibson GR. Metabolic activities of the normal colonic flora. Hum Health. 1994;

53-Fernando Azpiroz et al., Schéma global de la chaîne trophique de dégradation et de fermentation des glucides par la microflore colique Flore microbienne intestinale :

Physiologie et pathologie digestives. France : Jean-Claude Rambaud *et al.* : Éditions John Libbey Eurotext, 2004, p.63.

54-Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol Res.* 2013;(9).

55- Gérard P, Lepercq P, Leclerc M, Gavini F, Raibaud P, Juste C. Bacteroides sp. strain D8, the first cholesterol-reducing bacterium isolated from human feces. *Applied and environmental microbiology.* 2007 ; 73(18) : 5742-9.

56-Ridlon, J.M., Kang, D.-J. & Hylemon, P.B., Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *Journal of lipid research*, 47(2), 2006. pp.241–259.

57-Christl SU, Murgatroyd PR, Gibson GR, et al. Production, metabolism and excretion of H<sub>2</sub> in the large intestine. *Gastroenterology* 1992 ; 102 :1269-77.

58-Philippe Marteau, Joël Doré. Le microbiote intestinal, un organe à part entière. John Libbey Eurotext. 2017. 338 p.

59- Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M. The short chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun.* (5).

60- Wong JMW, de Souza R, Kendall CWC. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *Gastroenterol Clin Biol.* 2006;(40).

61- <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>

62- Penders J., THUIS C. et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. Maastricht : American Academy of Pediatrics, 2006

63-<https://www.schoolmouv.fr/cours/microbiote-intestinal-et-sante/fiche-de-cours>

64- Serino, M., Nicolas, S., Trabelsi, M.S., Burcelin, R. & Blasco-Baque, V. Young microbes for adult obesity. *Pediatric obesity.* 2016.

65- Ng, M. et al., Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980 – 2013 : a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. 2014. 384.

66-Alliance Apnées du sommeil « Apnée du sommeil et surpoids : quels liens ? ». Disponible sur : <https://www.allianceapnees.org/apnee-du-sommeil-et-surpoids-quelsliens/>

67- Vatiez C, Poitou C, Clément K. Evaluation of visceral fat in massive obesity. In : Watson RR, editor. *Nutrition in the prevention and treatment of abdominal obesity.* Elsevier ; 2014. p. 68–73.



68- <https://sante.lefigaro.fr/sante/maladie/obésité/quelles-causes>

69- Faucher P, Poitou C. Physiopathologie de l'obésité. Revue du rhumatisme monographies. 2015, <http://dx.doi.org/10.1016/j.monrhu.2015.08.002>.

70- Basdevant A., Clément K. Histoire naturelle et origine des obésités. Traité Médecine et Chirurgie de l'obésité. Médecine Sciences Publications. Lavoisier ; 2011. p. 10-9.

71- Basdevant A. Histoire naturelle et origines des obésités. In : Traité médecine et chirurgie de l'obésité. Paris : Lavoisier ; 2011. p. 10–6.

72- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, et al. "An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest." *Nature* 2006 ; 444 : 1027-31.

73- Arora T, Sharma R. Fermentation potential of the gut microbiome: implications for energy homeostasis and weight management. *Nutr Rev.* 2011; 69(2):99–106. [PubMed: 21294743]

74- Schwartz, Andreas, David Taras, Klaus Schäfer, Silvia Beijer, Nicolaas A Bos, Christiane Donus, et Philip D Hardt. « Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects ». *Obesity (Silver Spring, Md.)* 18, no. 1 (janvier 2010): 190-195.

75- Payne AN, Chassard C, Zimmermann M, Muller P, Stinca S, Lacroix C. The metabolic activity of gut microbiota in obese children is increased compared with normal-weight children and exhibits more exhaustive substrate utilization. *Nutr Diabetes.* 2011; 1:e12. [PubMed: 23154580]

76- P.D. Cani, J. Amar, M.A. Iglesias, M. Poggi, C. Knauf, D. Bastelica, A.M. Neyrinck, F. Fava, K.M. Tuohy, C. Chabo : « Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance" *Diabetes*, 56 (2007), pp. 1761–1772

77- Anderson PD et al. Innate Immunity modulates adipokines in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007. 92(6), pp.2272-2279.

78- Ley, Ruth E, Peter J Turnbaugh, Samuel Klein, et Jeffrey I Gordon. « Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity ». *Nature* 444, no. 7122 (décembre 21, 2006): 1022-1023.

79- MetaHIT consortium. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.* 2010 Mar 4;464(7285):59-65. doi: 10.1038/nature08821.

80- <https://www.nicolas-aubineau.com/probiotiques-naturels/>

81 <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-prebiotique-13305/>

82- <https://www.revmed.ch/RMS/2007/RMS-129/32635#:~:text=Les%20probiotiques%20sont%20indiqués%20dans,infections%20invasives%20ont%20été%20rapportés.>

83- <https://fr.scienceforhealth.be/mecanismes-daction/#:~:text=Les%20mécanismes%20d%27action%20des,du%20système%20immunitaire%20%5B1%5D.>

84-Takemura N, Okubo T, Sonoyama K. Lactobacillus plantarum strain No. 14 reduces adipocyte size in mice fed high-fat diet. *Exp Biol Med.* 2010; 235(7):849–856.

85-Lee HY, Park JH, Seok SH, et al. “Human originated bacteria, Lactobacillus rhamnosus PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice.” *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2006; 1761(7):736–744.

86-Lee K, Paek K, Lee HY, Park JH, Lee Y. “Antiobesity effect of trans-10,cis-12-conjugated linoleic acid-producing Lactobacillus plantarum PL62 on diet-induced obese mice.” *J Appl Microbiol.* 2007; 103(4):1140–1146. [PubMed: 17897219]

87-Lee K, Paek K, Lee HY, Park JH, Lee Y. “Antiobesity effect of trans-10,cis-12-conjugated linoleic acid-producing Lactobacillus plantarum PL62 on diet-induced obese mice.” *J Appl Microbiol.* 2007; 103(4):1140–1146. [PubMed: 17897219]

88-Al-Lahham S, Roelofsen H, Rezaee F, et al. Propionic acid affects immune status and metabolism in adipose tissue from overweight subjects. *Eur J Clin Invest.* 2011 Aug 23.

89-Filipe De Vadder, Petia Kovatcheva-Datchary, Daisy Goncalves, Jennifer Vinera, Carine Zitoun, Adeline Duchampt, Fredrik Bäckhed, Gilles Mithieux. “Microbiotagenerated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits”. *Cell* 9 janvier 2014

90- <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/diabete-type-1>

91- <https://thisiswhatyoumustbefeeling.wordpress.com/2010/11/>

92-<http://chirurgie-digestive-sat.aphp.fr/chirurgie/pancreatectomies/fonction-du-pancreas/>

93-<https://fr.dreamstime.com/approvisionnement-en-sang-l-illustration-m%C3%A9dicale-du-pancr%C3%A9as-d-fond-blanc-env-image142195301>

- 94- Wémeau JL, Schlienger JL, Vialettes B. Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition pour le praticien : Elsevier Health Sciences France ; 2014.
- 95- <http://tpe-lediabete.e-monsite.com/pages/le-diabete/page.html>
- 96- Nicolas S. Modulation de l'homéostasie glucidique par transfert de microbiote intestinal chez la souris conventionnelle. Université Toulouse 3 Paul Sabatier 2016.
- 97- Tardif, N. et al., Muscle ectopic fat deposition contributes to anabolic resistance in obese sarcopenic old rats through eIF2 $\alpha$  activation. *Aging cell*, 2014. 13(6), pp.1001–1011.
- 98- Moro, C., Modulations physiologiques et physiopathologiques de la lipolyse chez l'homme. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 47(5), 2012. pp.227–233.
- 99- Uysal, K.T. et al., Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- $\alpha$  function. *Nature*, 389 (6651), 1997. pp. 610–614.
- 100- Fernández-Veledo S. et al., Molecular mechanisms involved in obesity-associated insulin resistance: therapeutical approach. *Archives of physiology and biochemistry*, 115(4), 2009. pp. 227–239.
- 101- Brown M.S. & Goldstein, J.L., Selective versus Total Insulin Resistance: A Pathogenic Paradox. *Cell Metabolism*, 7(2), 2008. pp.95–96.
- 102- Wémeau JL, Schlienger JL, Vialettes B. Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition pour le praticien : Elsevier Health Sciences France ; 2014.
- 103- Yang, T., et al., Gut dysbiosis is linked to hypertension. *Hypertension*, 65(6) : 2015. p. 1331- 40.
- 104- Dali-Youcef N. Inflammation métabolique et insulino-résistance : Les connaissances actuelles. *Médecine des Maladies Métaboliques*. 2015 ; 9(3) : 279-91.
- 105- Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 2008 ; 57(6) : 1470-81.
- 106- Pussinen PJ, Havulinna AS, Lehto M, Sundvall J, Salomaa V. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes. *Diabetes care*. 2011 ; 34(2) : 392- 7.
- 107- Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, Fisher FM, Da Silva N, Khanolkar M, et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *American Journal of Physiology Endocrinology And Metabolism*. 2007 ; 292(3) : E740-E7.
- 108 -De Bandt J-P, Waligora-Dupriet A-J, Butel M-J. Intestinal microbiota in inflammation and insulin resistance: relevance to humans. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2011; 14(4) : 334-40.

109- Laparra JM, Sanz Y. Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. *Pharmacological Research*. 2010 ; 61(3) : 219-25.

110- Cani PD, Neyrinck A, Fava F, Knauf C, Burcelin R, Tuohy K, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabétologies*. 2007 ; 50(11) : 2374-83.

111- Amar J, Burcelin R, Ruidavets JB, Cani PD, Fauvel J, Alessi MC, et al. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *The American journal of clinical nutrition*. 2008 ; 87(5) : 1219-23.

112- Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*. 2009 ; 58(8) : 1091-103.

113- Qin J, Li Y, Cia Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012 ; 490(7418) : 55-60.

114- Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost F, Brummer RJ. The role of butyrate on colonic function. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2008 ; 27(2) : 104-19.

115- Barcelo A, Claustre J, Moro F, Chayvialle J, Cuber J, Plaisancié P. Mucin secretion is modulated by luminal factors in the isolated vascularly perfused rat colon. *Gut*. 2000 ;46(2) : 218-24.

115- Gaudier E, Jarry A, Blottiere H, De Coppet P, Buisine M, Aubert J, et al. Butyrate specifically modulates MUC gene expression in intestinal epithelial goblet cells deprived of glucose. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2004 ; 287(6) : G1168-G74.

116- Vors C, Gayet-Boyer C, Michalski M-C. Produits laitiers et inflammation métabolique : quels liens en phase postprandiale et à long terme ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 2015 ; 50(1) : 25-38.

117- Laugerette F, Vors C, Peretti N, Michalski M-C. Complex links between dietary lipids, endogenous endotoxins and metabolic inflammation. *Biochimie*. 2011 ; 93(1) : 39-45.

118-N. Hara, A. K. Alkanani, D. Ir, C. E. Robertson, B. D. Wagner, D. N. Frank, and D. Zipris, "2-The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes," *Clinical Immunology*, vol. 146, no. 2, pp. 112–119, Feb. 2013.

119- C. M. Guinane and P. D. Cotter, "4-Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ,"

120- Evans J. M, Morris L. S., and Marchesi J , "5-The gut microbiome: The role of a

virtual organ in the endocrinology of the host.," *J Endocrinol*, Jul. 2013.

121- Marteau P. *le microbiote intestinal, un organe à part entière*. John Libbey Eurotext , 2017 : 352.

122- Fumeron F, (2005), *de l'obésité au diabète de type 2: Epidémiologie et physiopathologie*. *Cholé-Doc*; 88: 1- 6.

123- Girard J. (1999). *Fondements physiopathologiques du diabète de type 2*. *Rev Prat* 1999; 49: 22-7.

124-<https://www.snfge.org/content/maladie-de-crohn-0>

125- VIDAL Recos « Crohn (maladie de) - Prise en charge - VIDAL e VIDAL ».

Disponible sur :

[https://www.vidal.fr/recommandations/3751/crohn\\_maladie\\_de/prise\\_en\\_charge/](https://www.vidal.fr/recommandations/3751/crohn_maladie_de/prise_en_charge/).

126- Swidsinski, Alexander, Axel Ladhoff, Annelie Pernthaler, Sonja Swidsinski, Vera Loening-Baucke, Marianne Ortner, Jutta Weber, Uwe Hoffmann, Stefan Schreiber, Manfred Dietel et Herbert Lochs. 2002. « Mucosal Flora in Inflammatory Bowel Disease ». *Gastroenterology* 122 (1): 44-54.

127-<https://sante.lefigaro.fr/actualite/2012/06/04/18307-traiter-maladie-crohn-changeant-nos-bacteries>

128- Sartor, R. Balfour et Sarkis K. Mazmanian. 2012. « Intestinal Microbes in Inflammatory Bowel Diseases ». *The American Journal of Gastroenterology Supplements* 1 (1): 15-21.

129- Martinez-Medina, Margarita, Xavier Aldeguer, Ferran Gonzalez-Huix, Doroteo Acero, et Jésus L. Garcia-Gil. 2006. « Abnormal Microbiota Composition in the Ileocolonic Mucosa of Crohn's Disease Patients as Revealed by Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis ». *Inflammatory Bowel Diseases* 12 (12): 1136-45.

130- Quiévrain, E., M. A. Maubert, C. Michon, F. Chain, R. Marquant, J. Tailhades, S. Miquel et L. Carlier. 2016. « Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease ». *Gut* 65 (3): 415-25.