

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Dr Tahar Moulay
Faculté des Sciences
Département de Biologie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE
En vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie
Spécialité : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

THEME :

**CONTRIBUTION A UNE ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE
DE MICROBIOTE INTESTINALE**

Présentée par :

Dr. Aimer Djamel

Soutenu le : 21 / 09 / 2021

Devant le jury composé de :

Présidente : Dr. CHALANE Fatiha MCA

Rapporteur : Dr. AMMAM Abd el kader MCA

Examineur : Dr. KEFIFA Abdelkarim MCA

Année Universitaire : 2020-2021

Remerciements :

Je tiens à remercier en premier, Mr. Ammam A. mon encadreur, enseignant et chef de département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Moulay Tahar Saida ; qui dès le premier jour m'a accueilli dans ma formation et a su m'orienter judicieusement et n'a cessé de me prodiguer ses précieux conseils jusqu'à l'élaboration de ce modeste travail.

Je remercie également tous mes enseignants pour la qualité de leurs cours, tous les responsables de l'Université qui ont pu concrétiser cette formation : Mr. KHATER M '(vice recteur), Mr. Abbas O. (doyen de la faculté), Mr. KAID M. (vice doyen) ainsi que tous les responsables de la plate forme d'enseignement à distance.

Un grand merci à :Mr.KEFIFA A enseignant à la faculté des sciences et Mr.AIMER H vice doyen de la faculté de Technologie pour leurs sollicitude et motivation.

Et enfin je remercie vivement Mr. Aimer F enseignant à la faculté de Technologie et Mr. Hennoune Z, pour leur assistance logistique à la conception de mon travail.

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail à la mémoire de mon défunt père Hadj Mahmoud Aimer qui a toujours inciter ses enfants a poursuivre le domaine de la formation scientifique, à ma très chère mère, à ma femme et mes enfants ainsi que tous mes frères et sœurs.

Résumé

Le microbiote est l'ensemble des micro-organismes : bactéries, virus, parasites, champignons non pathogènes, dits commensaux, qui vivent dans un environnement spécifique. Dans l'organisme, il existe différents microbiotes, au niveau de la peau, de la bouche, du vagin... Le microbiote intestinal est le plus important d'entre eux, avec 10^{12} à 10^{14} micro-organismes ; Son rôle est de mieux en mieux connu et les chercheurs tentent aujourd'hui de comprendre les liens entre les déséquilibres du microbiote et certaines pathologies, en particulier les maladies auto-immunes et inflammatoires.

Jusqu'à récemment, les moyens techniques permettant d'étudier les détails de cette interaction étaient limités : seule une minorité d'espèces bactériennes du microbiote pouvait être cultivée *in vitro*. La mise au point des techniques de séquençage haut débit du matériel génétique ont donné un nouvel élan à cette recherche et il existe aujourd'hui un réel engouement de la recherche pour décrire la nature des interactions hôte-microbiote, celles des micro-organismes entre eux, et leur incidence en matière de santé.

Mots Clés : Microbiote, Inflammation, Dysbiose (déséquilibre), Génétique, Santé, séquençage.

Abstract

The microbiota is all the microorganisms: bacteria, viruses, and parasites, non-pathogenic fungi, called commensals, which live in a specific environment. In the body, there are different microbiotas, in the skin, mouth, and vagina ... The intestinal microbiota is the most important of them, with 10^{12} to 10^{14} microorganisms; its role is well known and researchers are now trying to understand the links between imbalances in the microbiota and certain pathologies, in particular autoimmune and inflammatory diseases.

Until recently, the technical means to study the details of this interaction were limited: only a minority of bacterial species in the microbiota could be cultured *in vitro*. The development of high throughput sequencing techniques for genetic material have given new impetus to this research and there is today a real enthusiasm for research to describe the nature of host-microbiota interactions, those of microorganisms between them, and their impact on health.

Key words: Microbiota, Inflammation, Dysbiosis (imbalance), Genetics, Health, sequencing.

ملخص

الكائنات الحية الدقيقة المعوية هي كل الكائنات الحية الدقيقة: البكتيريا ، والفيروسات ، والطفيليات ، والفطريات غير المسببة للأمراض ، وتسمى المتعايشة ، والتي تعيش في بيئة معينة. توجد في الجسم أنواع مختلفة من الجراثيم في الجلد والفم والمهبل .. وأهمها الميكروبات المعوية ، حيث تحتوي على 10^{12} إلى 10^{14} من الكائنات الحية الدقيقة. دوره معروف بشكل أفضل ويحاول الباحثون الآن فهم الروابط بين الاختلالات في الكائنات الحية الدقيقة وبعض الأمراض ، ولا سيما أمراض المناعة الذاتية والالتهابات.

حتى وقت قريب، كانت الوسائل التقنية لدراسة تفاصيل هذا التفاعل محدودة: فقط أقلية من الأنواع البكتيرية في الكائنات الحية الدقيقة يمكن استزراعها في المختبر. لقد أعطى تطوير تقنيات التسلسل عالية الإنتاجية للمواد الجينية زخمًا جديدًا لهذا البحث ، وهناك اليوم حماس حقيقي للبحث لوصف طبيعة تفاعلات الكائنات الحية الدقيقة بين المضيفين ، وتفاعلات الكائنات الحية الدقيقة فيما بينها ، وتأثيرها على الصحة.

الكلمات المفتاحية: الجراثيم ، الالتهاب ، دسباقتريوز (عدم التوازن) ، علم الوراثة ، الصحة ، التسلسل.

TABLE DES MATIERES

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des Figures

Liste des Abréviations

Chapitre I/ Introduction	01
Chapitre II/ Rappel anatomophysiologique de l'intestin	03
1/ Définition	03
2/ Rappel Anato-Physiologique de l'Epithélium Intestinal	03
3/ Fonctions du Micro biote Intestinal	07
a- Digestion.	07
b- Fonction immunologique.	10
b-1) Maturation du système immunitaire	10
b-2) Effet de barrière	11
Chapitre III/ Etude analytique quantitative et qualitative de la flore microbienne intestinale.	13
1/ Problématique.	13
2/ MétaHIT : Une flore d'une richesse inédite.	14
3/ Résultats et analyse.	14
Chapitre IV/ Développement du microbiote intestinal depuis la naissance.	17
Chapitre V/ Transplantation fécale (principe, législation et application).	20
1/ Introduction.	20
2/ Définition.	21
3/ Conclusion et perspectives.	22
Chapitre VI/ Microbiote et maladies inflammatoires de l'intestin.	24
1) Introduction.	24

2) Définition.	26
3) Epidémiologie des MICI.	26
4) Physiopathologie des MICI.	27
a) Facteurs génétiques.	28
b) Facteurs environnementaux.	29
5) Conclusion.	34
Chapitre VII/ Microbiote et obésité, diabète et risque cardio-métabolique.	36
1) Introduction.	36
2) Les maladies métaboliques revisitées grâce à la métagénomique.	37
3) Mécanismes d'action.	40
a) Facteur Bactérien.	40
b) Facteur Hôte.	41
4) Alimentation, interventions diététiques et changement du microbiote.	44
5) Conclusion.	45
Chapitre VIII / Microbiote, cancérogenèse digestive et thérapie anticancéreuse.	46
1) Introduction.	46
2) Pathogénie.	47
3) Hypothèse Infectieuse dans la Carcinogenèse.	47
4) Dysbiose, inflammation et cancer.	48
5) Microbiote et Cancérogenèse Digestive.	49
6) Microbiote et Thérapie Anti-Cancéreuse.	52
Chapitre IX/ Pharmacobiotique.	54
1) La pharmacobiotique.	54
2) Les prébiotiques.	54
3) Les probiotiques.	54

4) L'utilisation des antibiotiques.	55
5) Transplantation fécale.	55
6) Les interactions microbiote/xénobiotiques.	56
Références Bibliographiques	58
Annexes	

LISTE DES FIGURES

Figure 01. Composition du microbiote.....	04
Figure 02. Structure de l'épithélium intestinal.....	05
Figure 03. Structure de la muqueuse intestinale.....	06
Figure 04. Fonctions du microbiote.....	07
Figure 05. Perméabilité de la muqueuse intestinale.....	10
Figure 06. Infalammation de la muqueuse intestinale.....	25
Figure 07. Hyperperméabilité intestinale.....	27
Figure 08. Facteurs environnementaux influants sur le microbiote.....	30
Figure 09. Modification du microbiote intestinal.....	35
Figure 10. Mécanisme de la dysbiose intestinale.....	36
Figure 11. Causes de la dysbiose intestinale.....	37
Figure 12. Causes et conséquences de la dysbiose.....	40
Figure 13. Les principaux symptômes de la dysbiose.....	42

LISTE DES ABREVIATIONS

AGCC : acide gras chaînes courtes.

ARN : acide ribo-nucléique

NH₃ : Amoniac

ABS : Acides Biliaires Secondaires

GFTF : Groupe français de transplantation fécale.

TMF : transplantation de microbiote fécal.

MICI : maladies inflammatoires du colon et de l'intestin.

MC : maladie de Crohn

RCH : réctocolite ulcéro-hémorragique.

PBI: polymeres immissibles biodégradables

TLR: toll like receptor

IBD1: infalamatory bowel disease (CROHN Desease)

R NOD2: nucleotide oligomerization domain receptors

NLR: NOD-like receptors

HLA: human leucocyte anticorp.

IMC : indice de masse corporelle

LPS : lipo-poly-sacharides

CD 4 : cluster de différenciation 4

CRP : C- Réactive Proteine

CIRC : centre international de recherche sur le cancer

CCR : cancer coloréctal

AvrA : Avirulence Factor for *Salmonella*

BFT : la toxine de *Bactéroides fragilis*

Treg : Les lymphocytes T régulateurs

FoxP3 : forkhead box P3 (facteur de transcription fox P3)

CHC : carcinome hépato-cellulaire.

ANSM : agence nationale de sécurité du médicament.

INRA : institut national de recherche en agronomie. (France)

Chapitre I/ INTRODUCTION :

L'intestin est le siège d'un grand nombre de fonctions physiologiques nécessaires à la vie. On peut le diviser en trois grandes régions : l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon), le côlon, et le rectum. (J Legendre - 2014)

La paroi intestinale constitue une véritable surface d'échange et va concourir à sa fonction principale qu'est la digestion et l'absorption des nutriments. (J Legendre - 2014)

Elle fait l'interface entre l'hôte et les microorganismes en formant une barrière de défense immunitaire. Constamment exposée aux antigènes de l'alimentation et de la flore intestinale, elle développe des dispositifs de protection non immunologiques (péristaltisme, présence d'une couche de mucus à sa surface, renouvellement constant de l'épithélium intestinal) et immunologiques par la mise en place d'un système immunitaire local spécialisé (plaques de Peyers, follicules lymphoïdes). (J Legendre - 2014)

Aujourd'hui, la fameuse flore intestinale ou flore bactérienne dont on entend souvent parler a été rebaptisée microbiote d'après le nom anglo-saxon microbiome. Ainsi, le microbiote correspond à l'importante population bactérienne qu'abrite notre corps et notamment le tube digestif. Selon les estimations, il y aurait de 10 à 100 bactéries pour une cellule.(J.Cardeas,2018)

En particulier, la majorité des bactéries de notre système digestif se trouve dans le côlon. "Au total, nous avons 1 kg de bactéries dans notre tube digestif ! Souligne Gérard Corthier, directeur de recherche à l'Institut national de la recherche agronomique (Inra). Et c'est le côlon qui concentre le plus de bactéries puisqu'on y trouve 100 milliards de bactéries dans un gramme de selles.(C Humblot - 2015)

Le microbiote n'est pas inné, on ne naît pas avec. C'est au cours de ces premières années de vie qu'un enfant va constituer sa population bactérienne à partir des bactéries de son environnement (par contact avec le microbiote de la peau des adultes, l'alimentation, etc.). A deux ans, chacun de nous a un microbiote "adulte". Par la suite, ce microbiote change tout au long de sa vie, se renouvelle et se fragilise avec l'âge.([J Dore et al ; 2017](#))

Ainsi, chacun d'entre nous a son propre microbiote, sa signature bactérienne en quelque sorte, fruit de son histoire personnelle selon son alimentation, son âge, son sexe, sa corpulence, son mode de vie... Au final, les 2/3 des bactéries intestinales sont propre à chacun de nous et le dernier tiers est commun. ([Rémy Bl ; et al 2017](#))

Chapitre II/ Rappel Anatomophysiologique de l'Intestin :

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 ou végétal ou une matière pouvant être elle-même d'origine animale ou végétale (Burcelin et al. 2016).

Notre organisme est composé de plusieurs microbiotes, notamment au niveau de la peau, de la bouche et du vagin, mais le microbiote intestinal est le plus important d'entre eux. Les principaux micro-organismes qui composent le microbiote intestinal sont des bactéries, mais on y trouve aussi des archées, des virus et des champignons.(E Dolié - 2018)

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 1014 micro-organismes. (E Dolié - 2018)

2/ Rappel Anatomo-Physiologique de l'Epithélium Intestinal :

L'épithélium retrouvé le long de l'intestin grêle et du côlon est un épithélium prismatique simple constitué de plusieurs types cellulaires (Muniz et al. 2012). 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 02)

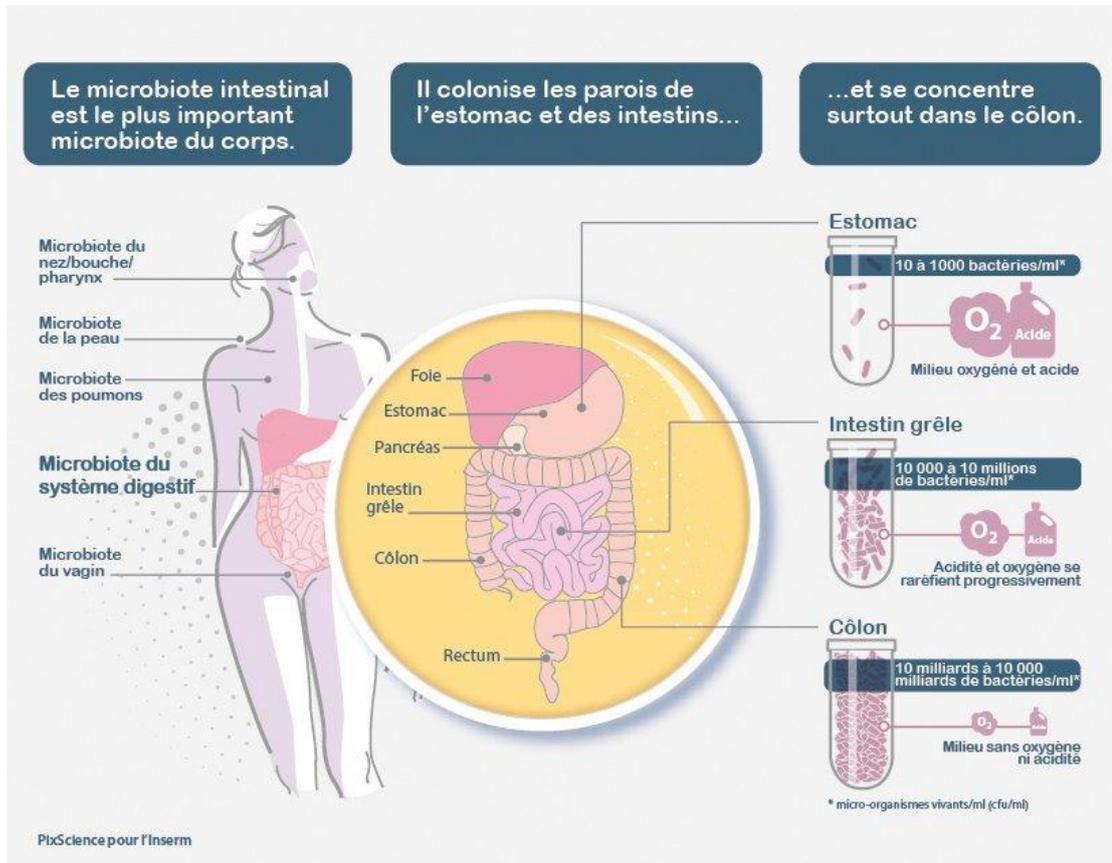


Figure 01. Composition du microbiote. (E Doli6e , 2018)

Les cellules majoritairement retrouv6ees sont les ent6eroctes (ou c6lonocytes au niveau du c6lon). Ce sont des cellules pourvues de microvillosit6es ayant diff6erentes fonctions. Elles permettent l'absorption des nutriments, gr6ace notamment à la production d'enzymes sp6cifiques et jouent 6galement un r6le de protection par un effet barri6re. (E Doli6e - 2018)

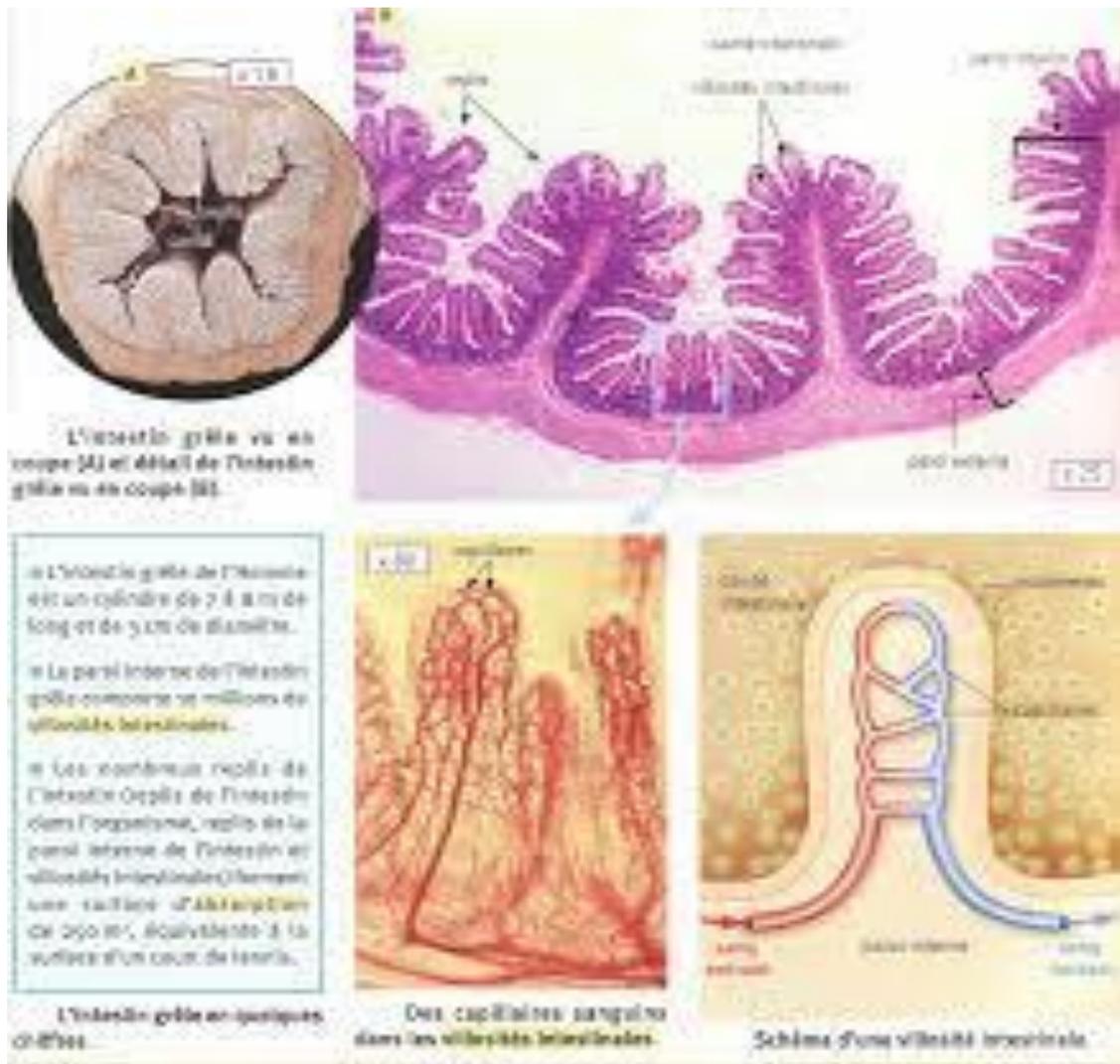


Figure 02. Structure de l'épithélium intestinal.(E Dole , 2018)

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.(E Dolié - 2018)

Structure de la muqueuse intestinale

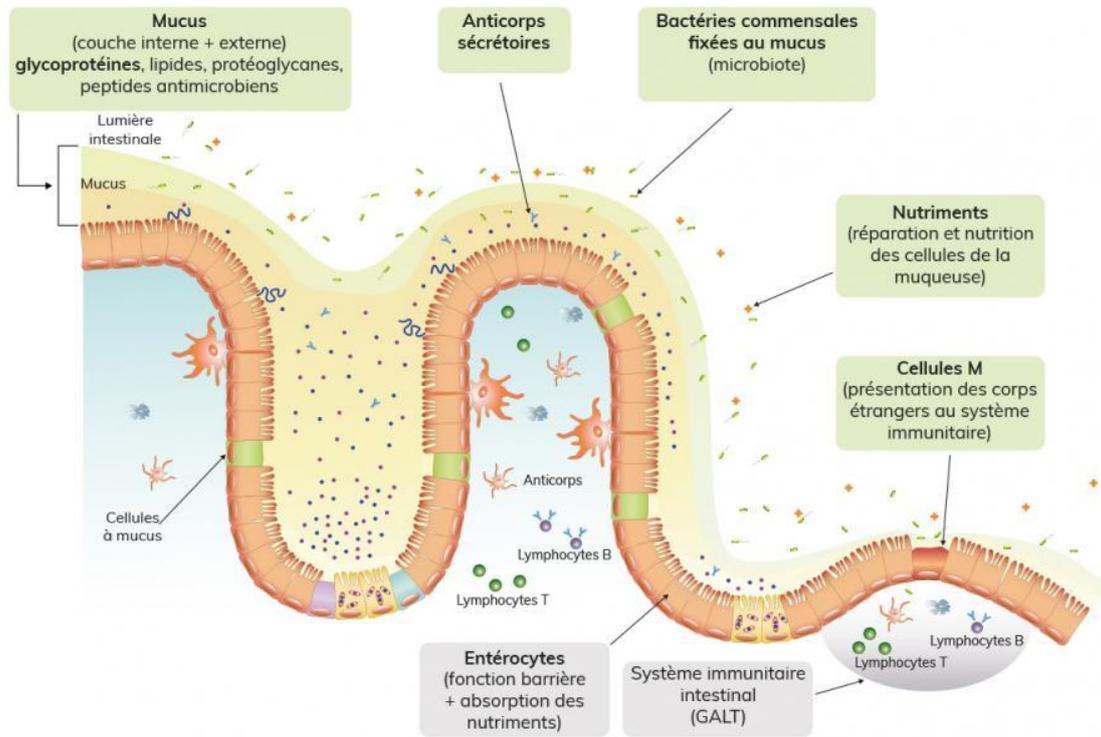


Figure 03. Structure de la muqueuse intestinale.(E,Dole2018)

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. .(E.Dolié - 2018)

3/ Fonctions du Micro biote Intestinal :

a/ Digestion :

Absorption et métabolisme L'une des fonctions physiologiques majoritaire de l'intestin est l'absorption des nutriments. La digestion est engagée dans l'estomac et aboutie dans le duodenum. L'absorption des nutriments a lieu en majorité dans le jéjunum, l'iléon (vitamine B12, sels biliaires) et le côlon (eau, électrolyte). (J Legendre - 2014)

Les micro-organismes de notre tractus intestinal fournissent de nombreuses enzymes qui participent ce processus. Ainsi ces enzymes contribuent à 3 métabolismes nécessaires à la digestion : le métabolisme des glucides, le métabolisme des lipides et le métabolisme des protéines. (RJ Michelland - 2009)

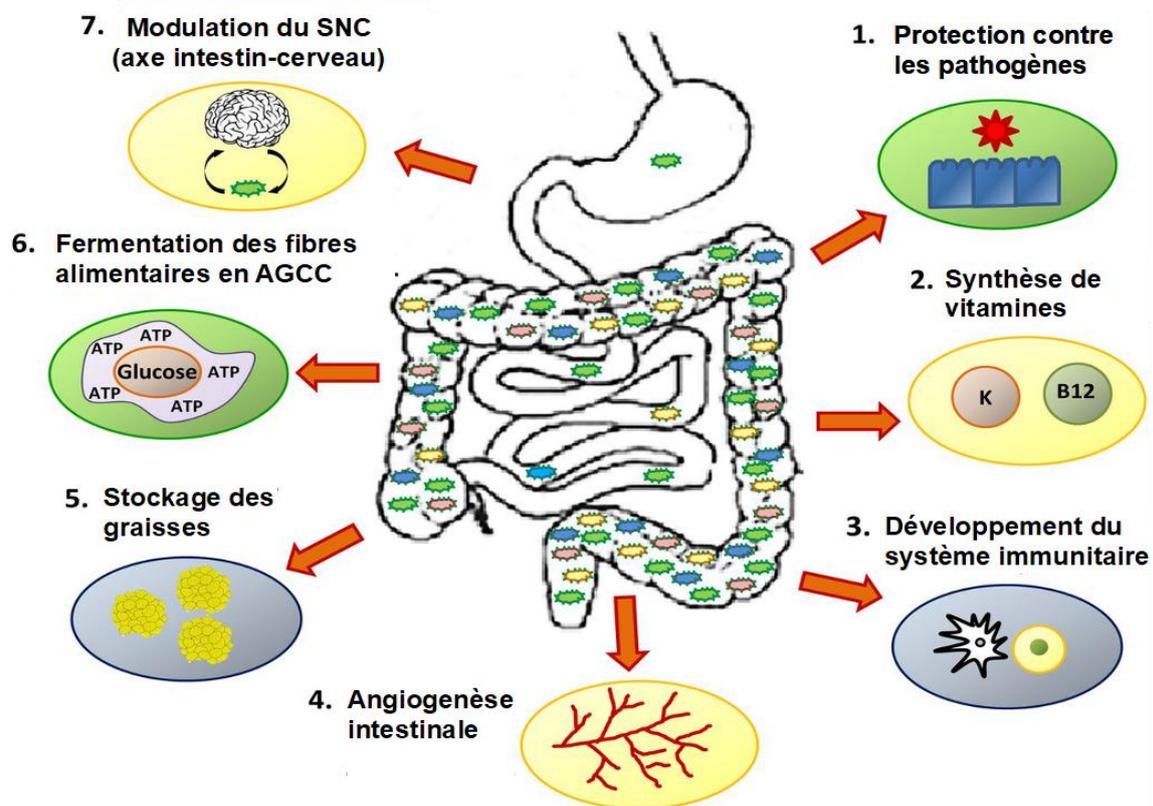


Figure 04. Fonctions du microbiote.(Legendre ;2018)

Le métabolisme des glucides va aboutir à partir de l'hydrolyse d'amidon, de cellulose et des xylanes, à la production d'acides gras chaînes courtes (AGCC) (butyrate, acétate, propionate) et de gaz intestinaux. Les AGCC permettent d'apporter de l'énergie à l'organisme et stimuler l'absorption de sodium dans le côlon. Le butyrate est directement consommé par l'entérocyte devenant sa principale source énergétique. Il va également permettre une immuno-modulation de la muqueuse. Le propionate et l'acétate sont absorbés par l'épithélium et redistribués dans la circulation générale. (J Legendre - 2014)

La fermentation bactérienne aboutie à la production d'hydrogène principalement. Il est réutilisé pour la réduction du sulfate par des souches sulforéductrices (*Desulfovibrio*), créant des sulfures toxiques pour l'épithélium intestinal (augmentation de l'apoptose, dommages à l'ADN, déplétion des cellules caliciformes, ulcérations). Le méthane est produit par des archa méthanogènes dont *Methanobrevibacter smithii*. L'élimination des gaz se fait par voie rectale ou pulmonaire. Les microorganismes intestinaux impliqués dans le métabolisme glucidique Inspiré de (Gérard and Bernalier-Donadille, 2007) En vert les microorganismes qui dégradent la cellulose, en orange l'amidon. En rose, les microorganismes producteurs d'acétate, en violet de propionate, en jaune de butyrate, en bleu de lactate et en noir et blanc de gaz intestinaux.

Les lipides présents dans le côlon ont plusieurs origines : cycle entéro-hépatique (acides biliaires, hormones stéroïdes), alimentation, desquamation de l'épithélium colique ou bactéries. Les acides gras non absorbés par l'intestin grêle le seront dans le côlon. Le microbiote va participer au métabolisme des lipides, dont les stérols par la conversion de cholestérol en coprostanol, éliminé dans les fèces(selles). (J Legendre - 2014)

Les microorganismes responsables de cette réaction sont peu connus. Les acides biliaires proviennent du cycle entéro-hépatique et seront déconjugués par

les bactéries intestinales. Cette réaction permettra leur réabsorption par la barrière intestinale grâce à l'acquisition de propriétés hydrophobes. (A Potiron - 2017)

Les hormones stéroïdes, comme certains xénobiotiques subissent les mêmes réactions que les acides biliaires sous l'action principale d'*Escherichia coli*, des *Bacteroides* et plus minoritairement des *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium* et *Peptococcus*. D'autre part, les acides gras et les triglycérides sont métabolisés par les lipases du microbiote.

Les acides gras insaturés subissent des réductions mais les acides gras à plus de 22 carbones ne sont pas métabolisés par la flore intestinale. Les microorganismes intestinaux impliqués dans le métabolisme des stérols.

Enfin, le microbiote intestinal participe au métabolisme des protéines. De nombreuses protéases bactériennes hydrolysent les protéines en acides aminés réutilisés par les microorganismes (*Veillonella*, *Peptococcus*, *Acidaminococcus*, *Clostridium*, *Eubacterium*) comme source d'azote et d'énergie.

L'activité de ces enzymes est régie par le pH, c'est pourquoi le côlon distal est la zone la plus favorable au métabolisme des protéines. Ces processus de dégradation et de partage des acides aminés entre microorganismes aboutissent à la production d'ammoniac (NH₃) et d'AGCC (propionate, butyrate, acétate) par des réactions de déamination, mais aussi de 94 molécules toxiques telles que le p-crésol et des sulfures. Microorganismes impliqués dans le métabolisme protéique, d'autre part, la production d'acides aminés tels que la lysine ou la thréonine par le microbiote intestinal va faire de lui une importante source de vitamine K et B pour l'organisme. (J Legendre - 2014)

Enfin, le microbiote peut participer au métabolisme de médicaments qui vont subir des processus de modifications proches de ceux des hormones

stéroïdiennes. On peut citer notamment l'exemple de la sulfazalazine, pro-drogue transformée en produit actif par les bactéries coliques. (E Dolié - 2018)

b/ Fonction immunologique :

Intestin au cœur de notre santé

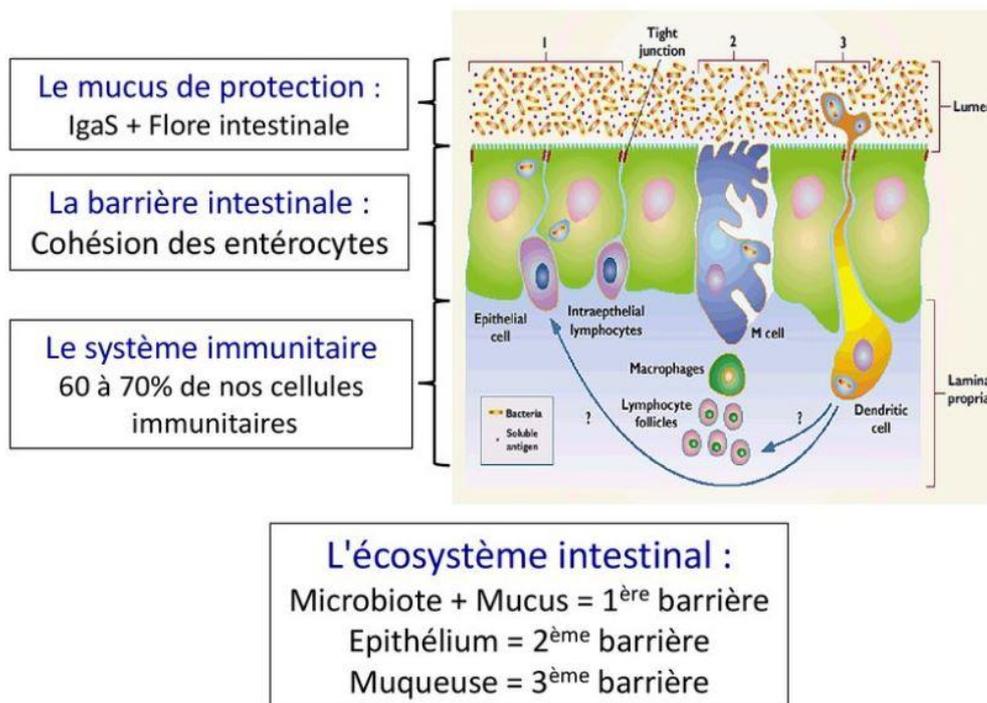


Figure 05. Perméabilité de la muqueuse intestinale.(Edole ;2014)

b-1/ Maturation du système immunitaire : L'étude de souris axéniques et la gnotobiologie ont permis de mettre en évidence la participation du microbiote dans la maturation du système immunitaire.

En effet, ces modèles naissent avec des altérations de structures et de fonction du système immunitaire intestinal qui seront rétablies par l'inoculation d'un microbiote. Ces altérations concernent : (S Morin - 2012)

1. Une accumulation du mucus,

2. Une faible fonction 12 Souris stériles, sans microbiote. Concept détaillé en péristaltique,
3. Un manque de diversification des immunoglobulines,
4. Une phagocytose et un chimiotactisme des macrophages diminués,
5. Une hypoplasie des plaques de Peyers,
6. Une baisse des lymphocytes intraépithéliaux,
7. De faibles niveaux cytokiniques,
8. Une angiogenèse perturbée.

Il en résulte une intolérance aux antigènes alimentaires chez ces souris. Certaines espèces ont été identifiées comme bénéfiques dans les processus de maturation du système digestif. Ainsi, *Bacteroides thetaiotaomicron* est une bactérie commensale qui a montré des propriétés pro-angiogéniques bénéfiques dans le développement des villosités intestinales ; le polysaccharide A de *Bacteroides fragilis* inhibe les lymphocytes Th17 et augmente la production d'IL-10. (P Bally - 2015)

b-2/ Effet de barrière : Le microbiote intestinal exerce des fonctions protectrices vis à vis des pathogènes extérieurs mais également des micro-organismes délétères minoritaires qui le composent (*Clostridium difficile*) via un effet de barrière. (A Couturier-Maillard - 2012)

En outre, les micro-organismes commensaux vont prévenir des phénomènes de colonisation pathogène par des processus de compétition : métabolismes des nutriments, modification de pH, sécrétion de peptides antimicrobiens, effets sur les voies de signalisation cellulaire (limitation des facteurs de virulence). (A Couturier-Maillard - 2012)

La production de colicine et microcine (peptides antimicrobiens) par *Escherichia coli*, la synthèse de *Ruminococcine A* par *Ruminococcus gnavus* dirigée contre *Clostridium difficile*; l'émissions de protéases par *Saccharomyces*

boulardii qui digèrent la toxine A de *Clostridium difficile* sont de nombreux exemples de cet effet de barrière exercé par le microbiote intestinal en réponse aux pathogènes. (J Legendre - 2014)

Les effets antibactériens induits par le microbiote améliorent la réponse de l'hôte aux pathogènes. Par exemple, une réponse défaillante de l'hôte pour *Toxoplasma gondii* est observée en cas d'altération de la reconnaissance innée de la flore commensale.

D'autre part, le microbiote intestinal est également impliqué dans le maintien de la barrière intestinale.

L'effet de consolidation de la barrière par les bactéries est également un mécanisme de défense dirigé contre les pathogènes invasifs. En effet, des lactobacilles inhibent l'adhésion épithéliale de *Escherichia Coli* entéropathogène en stimulant la synthèse de mucine, renforçant la barrière protectrice de mucus.

Le microbiote exerce donc des effets immunogènes et nutritifs bénéfiques pour l'hôte qui en contrepartie lui apporte l'écosystème nécessaire à son développement. Cette relation se nomme commensalisme. (J Legendre - 2014)

Chapitre III/ Etude analytique quantitative et qualitative de la flore microbienne intestinale :

1) Problématique :

Pourquoi l'étude de cette flore microbienne est elle récente ? Et quelles sont les principaux problèmes techniques rencontrés lors de ces études ?

Pendant de nombreuses années, le microbiote intestinal n'a pu être étudié qu'en partie, car la majorité des espèces qui le composent (notamment anaérobies strictes) ne sont pas cultivables in vitro ou nécessitent des milieux de cultures très spécifiques. Il a été estimé que seulement 30% des espèces de notre flore commensale sont cultivables in vitro. 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. (E Dolié - 2018)

Pour déterminer la composition du microbiote intestinal (Qin et al. 2010), le séquençage du gène codant l'ARN ribosomal 16S est majoritairement utilisé. L'ARN ribosomal 16S est une molécule présente dans toutes les bactéries.

Elle possède des régions conservées communes à l'ensemble du domaine Bactérien, des régions variables communes aux bactéries d'un groupe bactérien et des régions hypervariables spécifiques d'une espèce.

L'analyse métagénomique est l'analyse de l'ensemble des génomes bactériens présent dans un écosystème donné. Le but est de découvrir l'ensemble des organismes qui composent un mélange complexe. (Patrice DEBRÉ , 2014).

2) MétaHIT : Une flore d'une richesse inédite

L'étude MetaHIT, lancée en 2008 et coordonnée par l'INRA, a eu pour objectif d'identifier l'ensemble des génomes microbiens intestinaux (métagénome) par séquençage haut débit.

Cette étude a été fondée sur l'analyse 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. 16 Au plan individuel, cette étude a montré que chaque individu portait en moyenne 540 000 gènes microbiens, soient plus d'une centaine d'espèces, réparties en sept phyla différents. (J Dore, 2017)

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 –Inconues.

3) Résultats et analyse :

Chaque individu abrite dans son tube digestif 1014 micro-organismes qui composent son microbiote intestinal (CDU-HGE 2014), ce qui est 10 fois plus important que le nombre total de cellules eucaryotes dans le corps humain.

Des variations qualitatives et quantitatives de la flore intestinale sont observées tout au long du tube digestif (Barbut et Joly 2010) 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 1011 bactéries par gramme de contenu. (S Coudeyras, C Forestier 2010)

Le microbiote intestinal est propre à chaque individu, d'un point de vue qualitatif et quantitatif. Les micro-organismes majoritairement retrouvés sont les bactéries. On estime que chez chaque individu on retrouve près de 400 espèces bactériennes différentes de type anaérobie strict ou anaérobie facultatives. (A Mihajlovski - 2009)

Certaines espèces dominantes, qui sont présentes chez la majorité des individus, restent stables et permettent d'effectuer les fonctions essentielles du microbiote, elles sont associées à des populations minoritaires qui sont propres à chacun d'entre nous. 17 Les bactéries dominantes du microbiote peuvent être réparties en 3 phyla bactériens majeurs (Barbut et Joly 2010) :

a/ 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*. (E Dolié – 2018)

b/ 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*. (E Dolié - 2018)

c/ **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*. (E Dolié - 2018)

d/ On trouve également des bactéries du phylum des *Proteobacteria*, contenant l'ordre des *Entérobacterales* qui sont des bactéries anaérobies facultatives que l'on retrouve en faible quantité. 18 De façon minoritaire, on retrouve des bactéries des phyla *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia* et *Spirochaetes*. (E Dolié - 2018)

e/ **La composante fongique** : Est constituée de champignons et de levures.

f/ **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. . (E Dolié - 2018)

g/ **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, archaéphages 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. . (E Dolié - 2018)

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*.

Chapitre IV/ Développement du Microbiote Intestinal dès la Naissance :

Le microbiote d'un individu se constitue dès sa naissance, au contact de la flore vaginale après un accouchement par voie basse, ou au contact des micro-organismes de l'environnement pour ceux nés par césarienne.

Le fœtus humain vit dans un liquide amniotique stérile ; la primo-colonisation de son tube digestif dépend de la voie d'accouchement : par voie basse l'enfant est d'abord colonisé par des bactéries qui reflètent la flore vaginale, par césarienne qui reflètent la flore cutanée ; la naissance par césarienne est caractérisée par un microbiote moins important (d'un tiers à l'âge d'un mois) avec en particulier une diminution du taux de *bifidobactéries*, de *Bacteroides fragilis*, de *Clostridia*; à 6 mois il n'y a plus de différences significatives. Ces différences pendant les six premiers mois de la vie ont des conséquences potentielles sur le système immunitaire et le risque de développer diverses pathologies (infections, allergies, diabète type I...). (P Debré, 2014)

La flore bactérienne du nouveau-né s'enrichit en fonction de l'environnement (*Escherichia*, *streptocoques*), de son alimentation lactée (en cas de lait maternel il y a augmentation des *bifidobacteries* et diminution des *bacteroides* et des *coliformes*, alors que ces trois espèces sont en concentration à peu près équivalente avec des laits industriels), du niveau d'hygiène maternel, d'une hospitalisation éventuelle et de traitements médicamenteux. (P Debré, JY Le Gall 2014)

Le sevrage est une étape importante dans l'évolution du microbiote de l'enfant en raison de l'introduction dans son alimentation de produits diversifiés (légumes, viandes, féculents) ; le microbiote est considéré (P Debré, JY Le Gall 2014)

comme stabilisé et en équilibre entre la deuxième et troisième année ; il évolue ensuite chez chaque individu en fonction de différents facteurs : capital génétique de la personne, régime alimentaire, environnement....

En définitive les conditions de vie ont donc une influence majeure sur le microbiote ; ainsi sa densité est beaucoup plus faible chez les enfants nord-américains que chez les enfants des pays africains . (M Leboeuf - 2020)

La colonisation bactérienne a lieu de façon progressive, dans un ordre bien précis : les premières bactéries intestinales ont besoin d'oxygène pour se multiplier (bactéries aérobies : *entérocoques*, *staphylocoques*...). En consommant l'oxygène présent dans l'intestin, elles favorisent ensuite l'implantation de bactéries qui ne prolifèrent justement qu'en absence de ce gaz (bactéries anaérobies : *bactéroides*, *clostridium*, *bifidobacterium*...). (J Cornuault - 2018)

Sous l'influence de la diversification alimentaire, de la génétique, du niveau d'hygiène, des traitements médicaux reçus et de l'environnement, la composition du microbiote intestinal va évoluer qualitativement et quantitativement pendant les premières années de vie. Ensuite, la composition qualitative et quantitative du microbiote reste assez stable. La fluctuation des hormones sexuelles – testostérone et estrogènes – pourra malgré tout avoir un impact sur sa composition. (N Biard - 2016)

Des traitements médicaux, des modifications de l'hygiène de vie ou divers événements peuvent aussi modifier le microbiote, de façon plus ou moins durable. Par exemple, un traitement antibiotique réduit la qualité et la quantité du microbiote sur plusieurs jours à plusieurs semaines. Les espèces initiales sont capables de se rétablir en grande partie, mais des différences peuvent subsister. (J Legendre - 2014)

Des antibiothérapies répétées au cours de la vie pourraient ainsi induire une évolution progressive et définitive du microbiote, potentiellement délétère. Il semble cependant que nous ne soyons pas tous égaux face à ce risque : certains auraient un microbiote plus stable que d'autres, face à un même événement perturbateur. (C Malpas, C Guerrier - 2019)

Le microbiote est variable qualitativement et quantitativement le long du tube digestif avec des densités bactériennes de 10^3 dans le duodénum, 10^5 dans le jejunum, 10^8 dans l'iléon et 10^{12} dans le colon. Le microbiote intestinal humain est habituellement décrit à partir de l'analyse d'échantillons de selles ; il est donc le reflet de la partie terminale du tube digestif. (E Dolié - 2018)

Chapitre V/ Transplantation Fécale (principe, législation et application) :

1) Introduction :

Considéré maintenant comme un organe à part entière, le microbiote intestinal peut être transplanté. Pour l'instant, la transplantation de microbiote fécal s'est avérée efficace dans le traitement des infections intestinales récidivantes à *Clostridium difficile*, infections le plus souvent consécutives à une antibiothérapie entraînant une altération importante du microbiote intestinal. (B Dodet , 2016)

Plusieurs centaines de patients ont été traités ainsi avec succès. L'introduction des selles d'un donneur sain dans leur tube digestif a permis de restaurer leur flore intestinale altérée.

Cette approche qui paraît novatrice a été publiée pour la première fois en 1958 avant la « découverte » du microbiote, mais elle s'inscrit dans une longue histoire revisitée : le transfert de selles se pratiquait en Chine dès le IV^e siècle.

Cette pratique pose néanmoins des questions quant à son acceptabilité. Quelle en est la perception de la population, des donneurs et des receveurs potentiels de matériel fécal. (B Dodet , 2016)

L'essor de la transplantation fécale pose en outre la question de l'encadrement et du statut juridique du transplant, sur lesquels les avis sont divisés.

S'agit-il d'un tissu au même titre que le cartilage par exemple, ou bien d'un médicament ? Par ailleurs, les selles ne sont-elles qu'un substrat dans lequel prospère le microbiote ? L'Agence européenne des médicaments ne s'est pas encore prononcée. (B Dodet , 2016)

À ce jour, en France, le code de la Santé publique ne prévoit pas de statut particulier, mais pour l'Agence de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), le microbiote fécal utilisé en transplantation doit être considéré comme un médicament dans la mesure où il a une visée curative.

Le donneur apparaît alors comme une sorte de bioréacteur produisant un matériel d'intérêt thérapeutique. (F Megerlin, E Fouassier , 2014)

Pour unifier et sécuriser la transplantation de microbiote fécal, qui entre déjà dans la pratique pour les infections récurrentes à *Clostridium difficile*, le Groupe français de transplantation fécale (GFTF) vient de publier des recommandations concernant ses indications, la sélection des donneurs, la préparation et l'administration du transplant, ainsi que sa traçabilité. . (B Dodet , 2016)

2) Définition :

La transplantation de microbiote fécal (TMF) consiste à administrer une préparation de matière fécale issue d'un sujet sain à un patient atteint d'une pathologie liée à une altération du microbiote intestinal, en vue d'exercer des effets thérapeutiques. (Harry Sokol).

La même question se pose pour le don de matières fécales dans un but de recherche. Il s'avère en effet plus difficile de recueillir des échantillons de selles que des échantillons de sang, remarquent les chercheurs engagés sur le terrain, reconnaissant que l'on touche là à des aspects symboliques fondamentaux. (G Enders - 2015)

La constitution de banques de microbiote fécal doit donc s'accompagner d'une réflexion sur leur acceptabilité et de règles en matière de propriété, de confidentialité et d'utilisation des données.

Dans cet esprit, MetaGenoPolis a créé une plateforme de vigilance éthique pour encadrer le « don de selles » et pour évaluer l'impact éthique et sociétal des projets de recherche en fraction métagénomique dans le domaine de la santé, de la nutrition et de la médecine. (B Dodet - 2016)

3) Conclusion et Perspectives :

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. . (E Dolié - 2018)

La TMF a révolutionné la prise en charge des infections récidivantes à *Clostridium 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. . (E Dolié - 2018)

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. (H Sokol - 2018)

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. (H Sokol - 2018)

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.([Harry Sokol ; 2017](#)).

Chapitre VI/ Microbiote et maladies inflammatoires de l'intestin :

Le microbiote intestinal joue un rôle fondamental dans la pathogénie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), et de nombreux travaux chez l'animal et l'humain retrouvent ce concept de dysbiose intestinale, à la fois pour le microbiote bactérien, mais probablement également pour le microbiote fongique et viral.

De nombreuses études retrouvent une modification du microbiote bactérien chez les patients atteints de MICI, caractérisé par une réduction de la diversité bactérienne, avec une diminution du phylum des *Firmicutes* (dont notamment *Faecalibacterium prausnitzii*) et une augmentation du phylum des *Proteobacteria*. (G Corthier - 2010)

Les études actuelles sur la transplantation de microbiote intestinal devraient permettre de mieux comprendre le rôle de la dysbiose dans ces pathologies.

1) Introduction :

Les MICI sont des pathologies caractérisées par une inflammation chronique de la paroi du tube digestif qui mène souvent à des ulcérations. Elles évoluent par des périodes de crises entrecoupées de périodes de rémission. Les MICI les plus représentées sont la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH).

Elles constituent un problème de santé publique mondiale car elles touchent des millions de sujets dans le Monde et leur incidence n'a cessé d'augmenter ces dernières décennies. (J Legendre - 2014)

Les MICI sont des pathologies lourdes qui affectent le plus souvent l'adulte jeune. Actuellement aucune prise en charge thérapeutique ne permet d'obtenir

une guérison complète des malades, conséquence d'une physiopathologie des MICI mal maîtrisée.

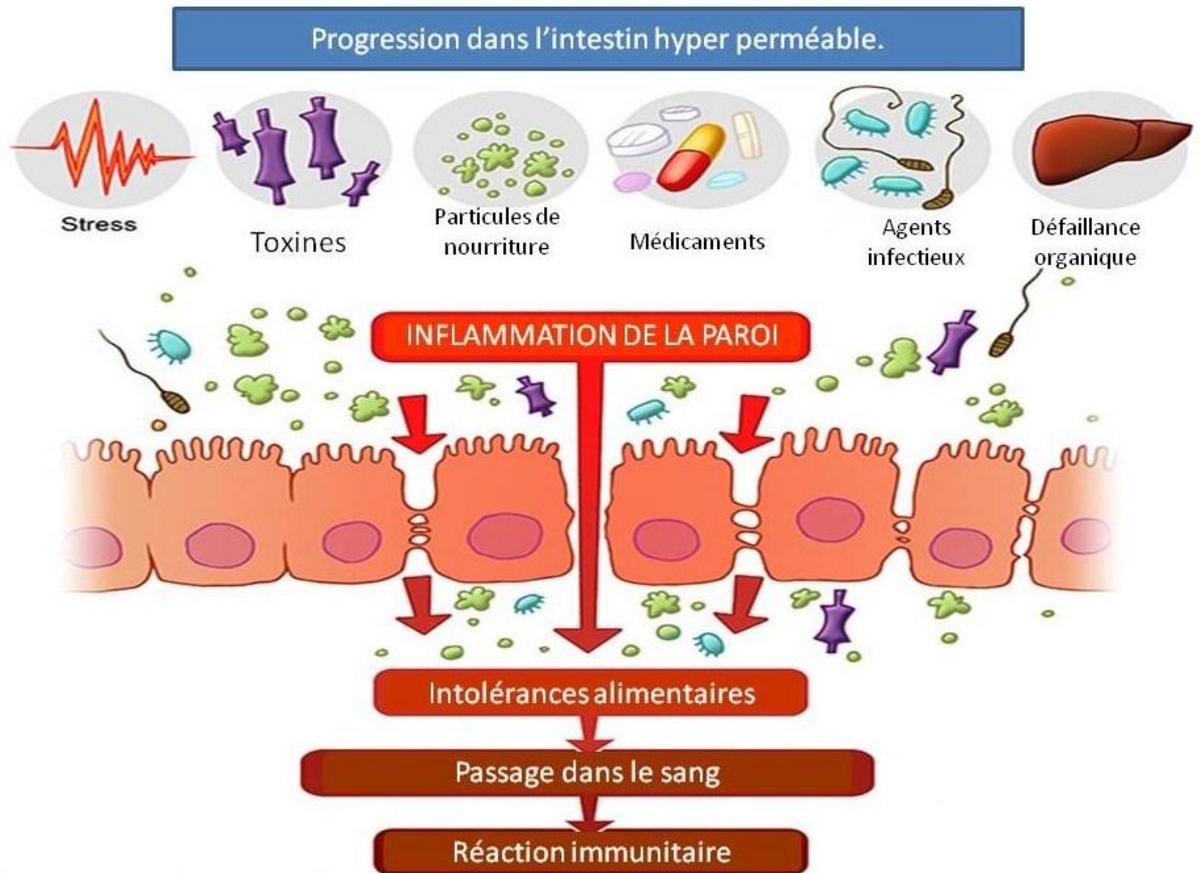


Figure 06. Inflammation de la muqueuse intestinale. (Marteau et al. 2003).

C'est pourquoi de nombreux efforts sont fournis afin d'approfondir nos connaissances sur les processus pathologiques et l'étiologie de ces maladies pour permettre l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques pertinentes (Marteau et al. 2003).

Pour l'heure, il est établi que les MICI résultent d'une réaction immunitaire exacerbée contre la flore intestinale chez des sujets prédisposés génétiquement. Ce constat fait donc état d'une participation du microbiote intestinal dans la physiopathologie des MICI (Baumgart and Carding, 2007).

2) Définition :

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) représentent un groupe de pathologies caractérisées par une inflammation chronique d'une partie de la paroi du tube digestif. Cette inflammation peut être intermittente ou continue, et mène fréquemment à des ulcérations de la paroi digestive. Les MICI évoluent par poussées entrecoupées de phases de rémission. (J Legendre - 2014)

Actuellement, aucune étiologie des MICI n'a été clairement identifiée. Néanmoins, de nombreuses données semblent les définir comme étant la résultante d'une réaction immunitaire exacerbée contre la flore intestinale chez des sujets prédisposés génétiquement. (E Lerebours, G Savoye-, 2003)

3) Epidémiologie des MICI :

L'incidence des MICI est variable selon les pays. Ce sont des pathologies des pays occidentaux. Les taux d'incidence des MICI les plus élevés ont été enregistrés en Amérique du Nord et dans le Nord de l'Europe. De plus, certains pays du pacifique tels que l'Australie et la Nouvelle-Zélande qui partagent les mêmes facteurs génétiques et environnementaux que ces derniers, présentent également des taux d'incidence de la même teneur ; la Nouvelle-Zélande et l'Australie étant les pays pour lesquels il a été répertorié les plus fort taux d'incidence de ces pathologies dans le monde. Les pays en voie d'occidentalisation (Afrique du Nord, Chine, Inde, Corée du Sud, Iran et Liban) voient également l'incidence des MICI augmenter ces dernières années. (Harry Sokol).

4) Physiopathologie des MICI :

Les MICI résultent d'une réaction inflammatoire exacerbée dirigée contre flore intestinale chez des sujets génétiquement prédisposés. Aujourd'hui, les mécanismes de survenue de l'inflammation ne sont pas élucidés et l'entretien de l'état inflammatoire responsable des lésions organiques reste, lui aussi, encore à définir. Cette partie est donc un état des lieux non exhaustif des phénomènes immunologiques retrouvés dans l'intestin au cours des MICI. (P Marteau - 2003)

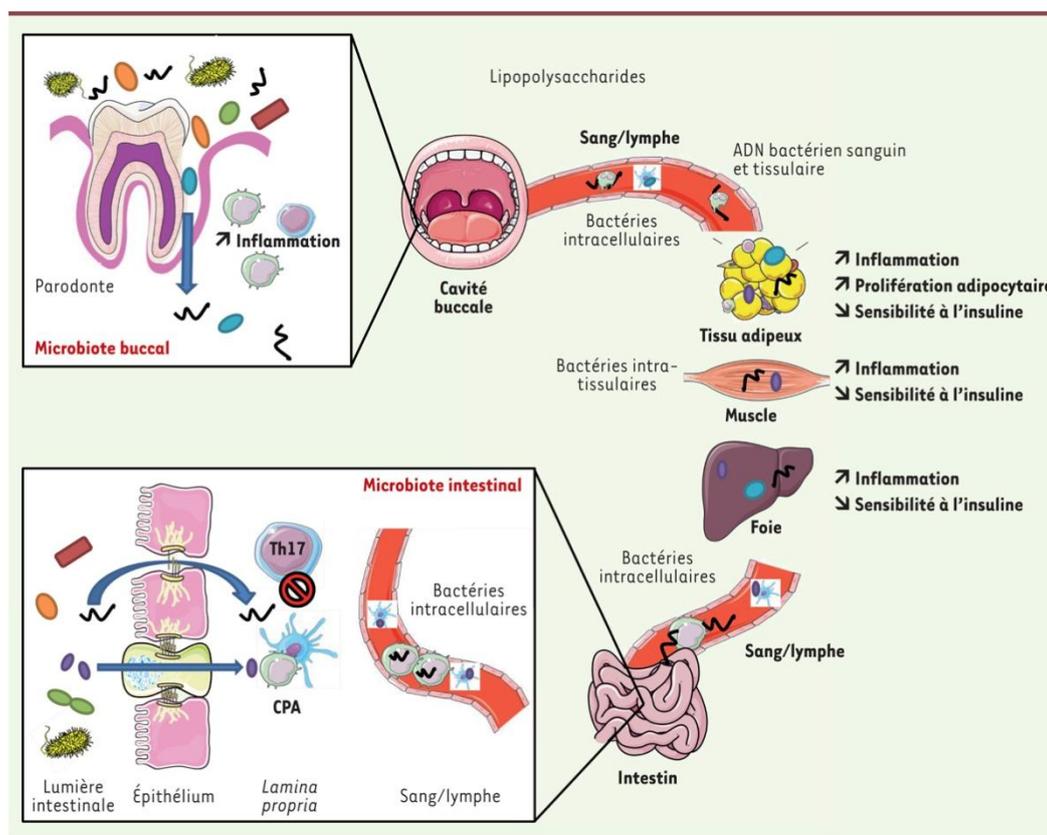


Figure 07. Hyperperméabilité intestinale. (Marteau et al. 2003).

Le constat actuel fait état de 3 événements majeurs intervenant dans la physiopathologie des MICI :

- Une altération de la barrière épithéliale intestinale,
- Une stimulation excessive des cellules de l'immunité intestinale par les antigènes luminaux, et enfin

- Une réponse immunitaire inappropriée à ces derniers

Enfin, il a été mis en évidence que les patients MICI génèrent des auto anticorps dirigés contre des peptides antimicrobiens dont la BPI. Ce phénomène est corrélé au problème d'élimination des bactéries Gram – au cours des MICI. L'augmentation de ces bactéries dans la muqueuse aurait donc pour conséquence une amplification de la stimulation d'autres récepteurs de l'immunité innée : les TLR, dont TLR4. (GP de Chambrun - 2014)

a) Facteurs génétiques :

Prédisposition familiale L'existence de différences ethniques et de famille à MICI (5-10% des MICI) suggère l'implication de facteurs génétiques dans la survenue de MICI. L'appartenance à une famille avec des antécédents familiaux de MICI est désormais considérée comme un facteur de risque. En effet, le risque de contracter une MC pour un 38 parent du premier degré s'élève à 1-3% et 1% pour la RCH. Ce risque décroît à mesure où le degré de parenté s'éloigne.

- a-1) Les gènes de prédisposition Des études à l'échelle du génome ont donné lieu au cours des années 90 à la mise en évidence de 7 loci de prédisposition aux MICI, nommés IBD1 à 7. Certains loci sont spécifiques de la MC, d'autres de la RCH, et d'autres peuvent être partagés par la MC et la RCH (Ahmad et al., 2004; Kaser et al., 2010). L'étude de ces loci a permis en 2001, l'identification du premier gène de susceptibilité à contracter la MC, le gène CARD15/NOD2 localisé dans le locus IBD1. Il code pour le PRR NOD2. Des études portant sur le locus IBD3 ont révélé un lien entre HLA et MICI.
- a-2) La connaissance de gènes impliqués dans les MICI semble ouvrir des perspectives cliniques intéressantes telles que la découverte de véritables marqueurs génétiques.

En effet, ces derniers pourraient être des marqueurs d'aide au diagnostic chez des patients ayant un tableau clinique proche de ces pathologies mais aussi concourir à la détection d'une MICI chez des personnes appartenant à une famille à risque permettant ainsi d'anticiper des examens médicaux voire mettre en place une approche thérapeutique préventive chez ces patients a priori asymptomatiques. (D Hanriot - 2008)

Au-delà de l'aide au diagnostic, l'approfondissement de nos connaissances sur les variants géniques retrouvés dans les MICI permettrait une approche pharmacologique différente. En effet, l'émergence de la pharmacogénétique repose sur la connaissance de l'impact du polymorphisme génétique sur la réponse au traitement : efficacité, survenue d'effets indésirables. En outre, le produit d'un gène modifié, cible d'un médicament peut induire une réponse différente de celle attendue.

Il semble donc important de poursuivre les études sur de tels facteurs génétiques en vue de l'émergence de cette nouvelle approche thérapeutique. . (J Legendre - 2014)

b) Facteurs environnementaux :

b-1) Le tabagisme : Les facteurs environnementaux liés à l'apparition des MICI sont nombreux. L'un des plus étudié est le tabagisme. En effet, le rôle du tabac dans la survenue des MICI est aujourd'hui bien établi. Il est connu pour avoir des effets opposés sur la RCH et la MC : la RCH prédominante chez les sujets non-fumeurs ou anciens fumeurs et la MC chez les fumeurs. En plus d'atteindre préférentiellement les sujets fumeurs, le tabac devient un facteur aggravant de la MC : les poussées et leurs complications sont plus fréquentes, le recours aux immunosuppresseurs et corticoïdes ou à une chirurgie lourde (résection)

plus précoces. Le mécanisme d'action du tabac n'est à ce jour pas élucidé. Cependant des études ont montré que le tabac affecte la perméabilité de la barrière, les niveaux de cytokines et de métabolites de l'acide arachidonique, la réponse immunitaire humorale, la vascularisation et la motilité intestinale. Ces effets sembleraient imputables à la présence de monoxyde de carbone et de la nicotine chez les fumeurs. (A Poncy - 2002)

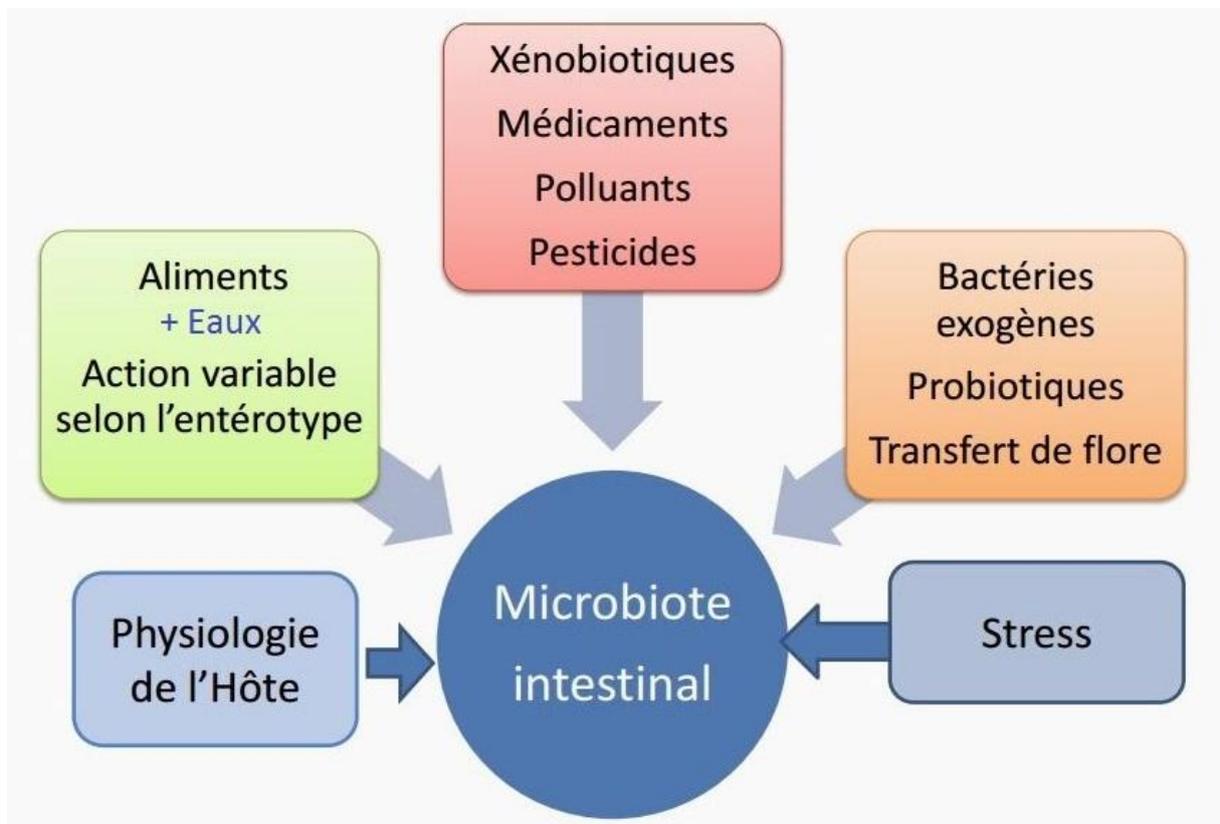


Figure 08. Facteurs environnementaux influant sur le microbiote. (A Poncy - 2002)

b-2) L'alimentation : L'alimentation trouve sa place dans les étiologies des MICI d'une part car ce sont des maladies qui affectent le site d'absorption des nutriments, d'autre part parce que les aliments constituent avec le microbiote un large panel d'antigènes à la surface de l'épithélium intestinal. De nombreux aliments ont été identifiés comme à risque pour la contraction des MICI. En effet, un régime « occidental »

riche en graisses (polyinsaturées) et protéines animales, les sucres raffinés, la margarine, alimentation de type fastfood favoriserait l'apparition de MICI. Par exemple, la consommation de saccharose est supérieure à la normale chez des patients atteints de MC au moment du diagnostic. Mais aussi, la présence de traces d'émulsifiants et de détergents utilisés dans la cuisine moderne semble concourir à l'émergence des MICI car ils augmentent la translocation bactérienne. Par opposition la consommation de fruits et légumes réduit le risque de contracter une RCH et un régime riche en fibres atténue le risque de contracter une MC. En effet, les fibres réduisent l'adhérence de bactéries pathogènes à l'épithélium. Le curcumin s'est également montré bénéfique dans la réduction de la colite dans certains modèles de RCH 43 car il est anti-inflammatoire (inhibition de NF-kB) (J Legendre - 2014)

b-3) Mode de vie :

- **Les conditions d'hygiène :** Les MICI sont des pathologies des pays occidentalisés, c'est pourquoi il a été étudié l'impact du mode de vie sur leur survenue et leur devenir. En effet, les pays où l'hygiène est limitée enregistrent de faibles taux d'incidence de MICI. Plusieurs facteurs protecteurs seraient donc proposés : (1) l'absence d'eau du robinet potable, (2) familles nombreuses, (3) la présence de bétails ou d'animaux de compagnie, (4) l'exposition à des pathogènes entériques, (5) le non-recours à la médication (Ponder and Long, 2013). En effet, l'amélioration de l'état sanitaire limite l'exposition à certaines infections chez l'enfant, augmentant ainsi le risque pour ce dernier de contracter une MICI à l'âge adulte. Ceci peut s'expliquer par un manque de maturation du système immunitaire du patient, dont la résultante se traduit par une réponse immunitaire aberrante à certains antigènes et notamment aux infections intestinales.

b-1) La pollution : L'augmentation de l'incidence des MICI a eu lieu parallèlement à l'industrialisation des pays. Ce phénomène s'est accompagné de l'émergence de facteurs polluant notre air aujourd'hui responsables de l'exacerbation d'un grand nombre de pathologies telles que l'asthme ou encore l'appendicite. Ces polluants se déposent dans nos sols et notre eau et contaminent donc directement notre alimentation et notre eau potable. Globalement, l'exposition à la pollution atmosphérique n'est pas associée à une augmentation de l'incidence des MICI. Seule la présence résiduelle de dioxyde d'azote et dioxyde de soufre dans l'air augmente le risque de contracter respectivement une MC et une RCH.) (J Legendre - 2014)

➤ **L'allothérapie :** La prise d'antibiotiques, la contraception orale, ou encore les anti-inflammatoires non stéroïdiens semblent impliqués dans la survenue et l'évolution des MICI. En effet, il a été constaté que la prise d'antibiotique lors de la première année de naissance était plus fréquente chez les patients atteints de MICI que les contrôles. Cependant, il est difficile d'imputer une responsabilité claire des antibiotiques dans l'apparition d'une MICI du fait d'un manque de données concernant l'objet de la prise des antibiotiques.

La prise d'anti-inflammatoire non stéroïdiens semble également avoir un effet délétère sur les MICI. En effet, une prise chronique d'aspirine augmente de 6 fois le risque de contracter une MICI. La majorité des patients MICI traités par du diclofenac, naproxène, indométacine ou acétaminophène subissent une rechute dans les deux semaines. Ces molécules exercent des effets directs sur la muqueuse en réduisant la

formation de prostaglandines et induisant des dommages tissulaires. (J Legendre - 2014)

La contraception orale a un effet délétère pour les patients MICI. Même si elle reste davantage associée à la MC, elle est également un facteur aggravant pour la RCH lorsque la patiente a un passif tabagique. En effet, elle augmente le risque de rechute chez les malades Crohn car les œstrogènes stimulent l'immunité, la prolifération des macrophages et favorisent les lésions thrombotiques gastro-intestinales. Elle peut donc être considérée comme un facteur de risque favorisant apparition et aggravation de ces pathologies. . (J Legendre - 2014)

- **Le stress** : Les patients font souvent part d'un facteur psychosomatique (stress, fatigue) dans l'évolution de leur pathologie. Il est admis que le stress peut induire un relargage de neuropeptide influant sur la perméabilité intestinale. L'effet du stress ou des comorbidités psychiatriques dans l'histoire naturelle des MICI ont été examinés. Il a été observé qu'un état dépressif était un facteur de risque d'une MC et que le traitement de la dépression pouvait améliorer l'évolution des MICI. D'autre part, il a été établi un lien entre évènement de la vie stressant et risque de rechute. Le stress est donc un facteur qui peut générer des rechutes ou modifier le regard du patient sur sa pathologie. Bien que non considéré comme un facteur déclencheur, il est à prendre en compte dans la prise en charge des patients anxieux. (E Lerebours, G Savoye 2003)

L'appendicectomie : L'appendicectomie est un acte chirurgical consistant en l'ablation de l'appendice iléocaecal, effectuée en cas d'appendicite. Cette opération est aujourd'hui considérée comme un facteur protecteur dans la RCH, et montre une efficacité plus importante que le tabac dans certaines études épidémiologiques. En outre, le risque

de contracter une RCH est réduit de 70% lorsqu'une appendicectomie est réalisée avant l'âge de 20 ans. L'appendicectomie a également une répercussion dans l'histoire naturelle de la RCH en réduisant son risque de rechute ou évitant le recours à une colectomie chez les patients. . (J Legendre - 2014)

5) **Conclusion** :

Même si la cause des MICI reste inconnue, beaucoup d'observations suggèrent qu'une dysbiose précède le déclenchement de la maladie.

Une étude récente impliquant les membres sains de familles présentant plusieurs cas de MC, indique que chez une proportion de ces individus, il existe une augmentation de la perméabilité intestinale, une élévation de la calprotectine⁶ fécale, une sérologie antimicrobienne positive, des altérations des marqueurs de l'immunité innée ou acquise, une composition bactérienne fécale modifiée, ou une combinaison de plusieurs de ces facteurs. La susceptibilité génétique à la maladie est l'un des facteurs de risque mais des facteurs environnementaux ou alimentaires qui peuvent aggraver la dysbiose augmentent ce risque de déclencher la maladie.

La dysbiose ainsi induite peut également favoriser la colonisation intestinale par des bactéries dont le potentiel pathogène est plus élevé que celui des bactéries présentes en eubiose, et ainsi augmenter l'inflammation. (F Guarner, AG Khan, J Garisch, 2011)

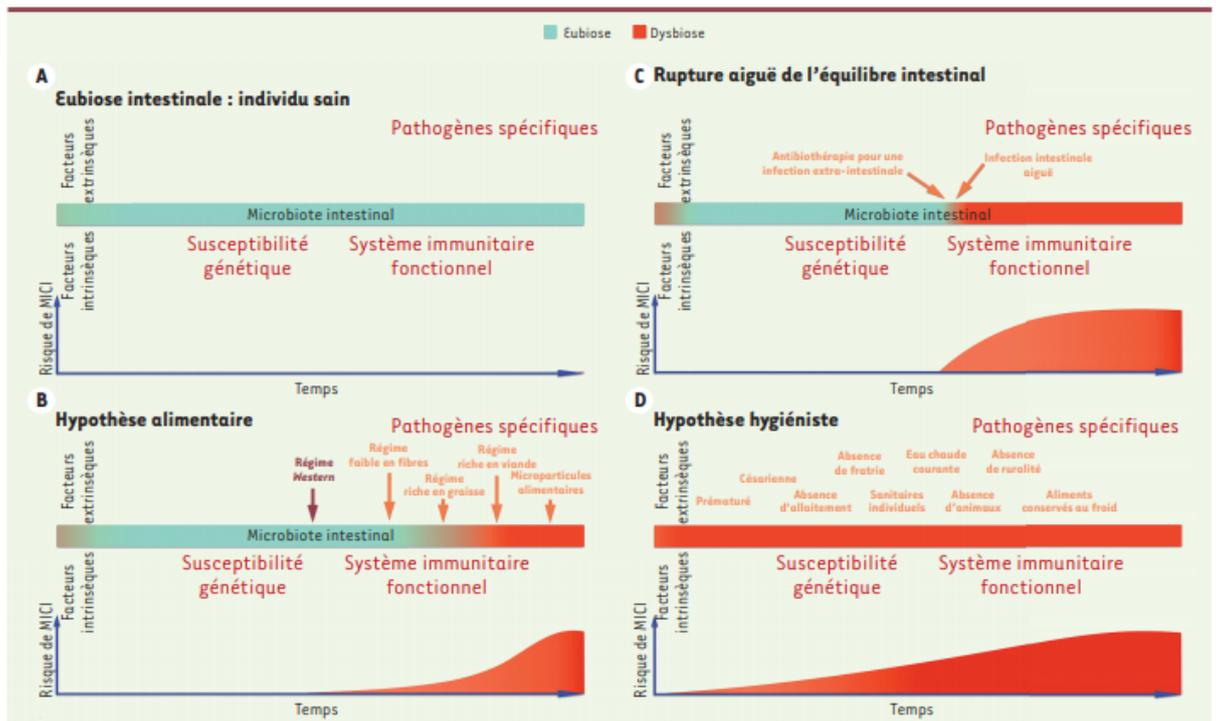


Figure 2. Modification du microbiote intestinal avant le déclenchement d'une maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI). **A.** Chez l'individu en eubiose, une protection contre les états pathologiques existe avec un risque faible de développer une MICI. **B.** Un régime alimentaire « occidental » conduit à une dysbiose et, progressivement, à un risque plus élevé de MICI. **C.** Une infection gastro-intestinale aiguë et des antibiothérapies favorisent une dysbiose et augmentent le risque de développement des MICI. **D.** L'hypothèse de l'hygiène, qui propose un contact réduit avec une grande variété de micro-organismes, entraîne une dysbiose intestinale dès la petite enfance et est associée à un risque élevé de MICI.

Figure 09. Modification du microbiote intestinal(J Garisch, 2011)

Chapitre VII/ Microbiote, Obésité, Diabète et risque Cardio-métabolique :

1) Introduction :

Il aura fallu environ un siècle et demi à la communauté scientifique, depuis Louis Pasteur, pour décrypter par séquençage et répertorier dans un catalogue l'ensemble des gènes des bactéries qui sont présentes à la surface de nos épithéliums, regroupé sous le terme « métagénome ». En 2014, près de 10 millions de gènes bactériens ont été identifiés à partir d'échantillons fécaux provenant de 1 268 patients originaires de trois continents différents. (R Burcelin, S Nicolas, V Blasco-Baque 2016)

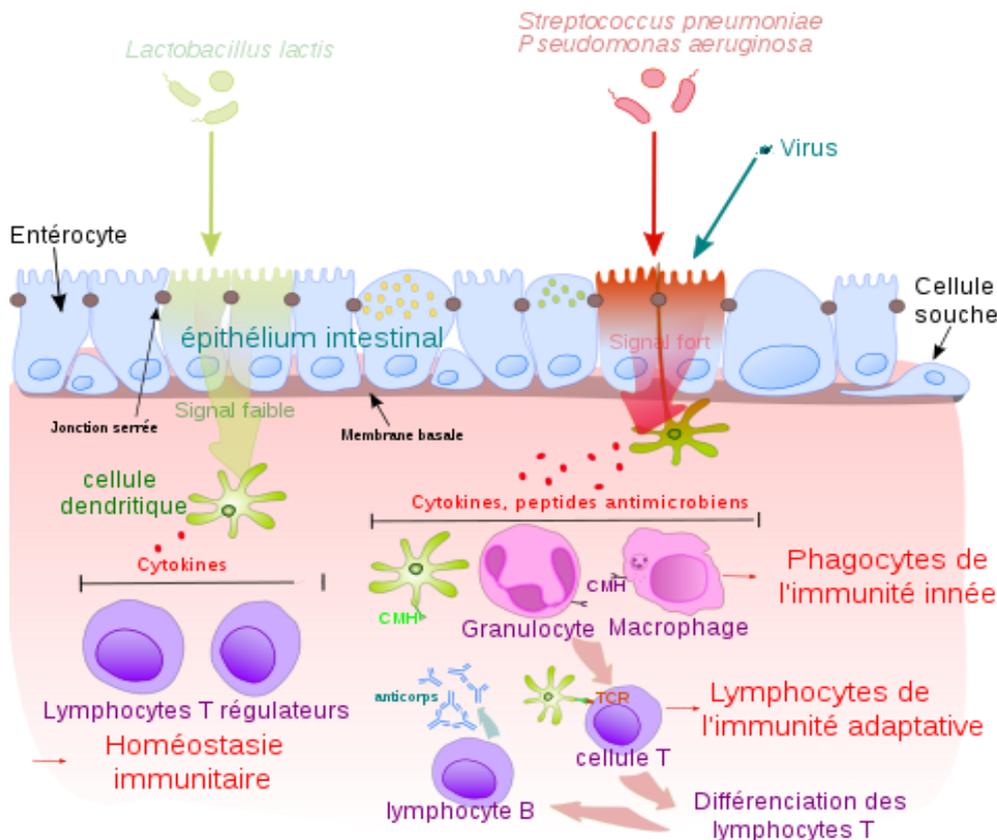


Figure 10. Mécanisme de la dysbiose intestinale. (V Blasco-Baque 2016)

Les bactéries qui nous colonisent seraient donc aussi, ou plus, nombreuses que nos cellules. Parallèlement, la comparaison de cohortes issues de différentes

sources (chinoise et danoise) a mis en évidence une répartition de ces gènes dépendant de l'origine des individus examinés.

Ces gènes entrent dans la composition du génome de milliers d'espèces bactériennes dont la plupart ne sont actuellement pas encore identifiées.

Aujourd'hui, les données concernant ces bactéries et ces gènes, recueillies au niveau international, sont collectées par un consortium (international microbiome project) afin de pouvoir classer ce métagénome en fonction des groupes d'individus étudiés et des maladies qu'ils présentent. (Harry Sokol)

2) Les maladies métaboliques revisitées grâce à la métagénomique :

Une des avancées majeures de cette dernière décennie concerne les maladies métaboliques, notamment le diabète de type 2, l'obésité, et la stéatose hépatique non-alcoolique.

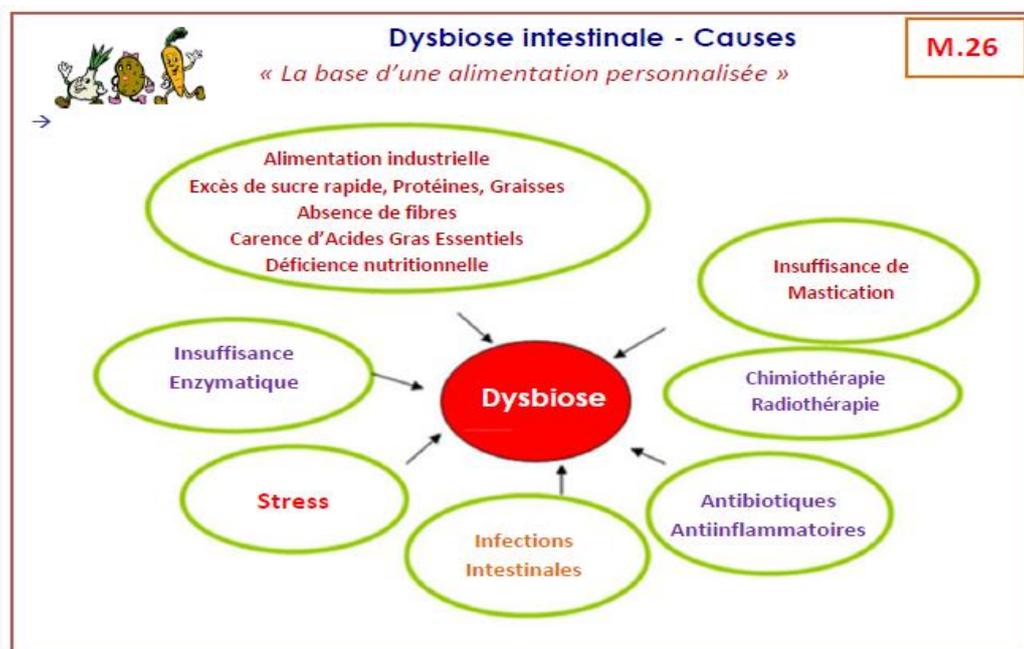


Figure 11. Causes de la dysbiose intestinale.(V Blasco-Baque 2016)

S'il était intuitif jusqu'ici de concevoir que ces pathologies, toutes fortement liées à un déséquilibre nutritionnel, pouvaient être associées à un changement de l'écologie microbienne intestinale et buccale (les bactéries se nourrissant de ce que nous mangeons), ce n'est que récemment, grâce à l'avènement du séquençage à ultra-haut débit, que des associations entre pathologies métaboliques et modifications du microbiote ont pu être établies. (R Burcelin, S Nicolas, V Blasco-Baque , 2016)

Ainsi, les travaux du groupe d'O. Pedersen au Danemark ont montré sur une cohorte de plus de 300 patients, qu'il existait une signature caractéristique du microbiote intestinal du patient obèse et, dans une certaine mesure, du diabétique de type 2. En effet, on retrouve dans l'intestin d'une majorité de patients fortement obèses un nombre réduit de gènes de bactéries (moins de 500 000), ce qui a introduit le concept de dysbiose intestinale.

Parallèlement, la notion d'entérotypes a été avancée, notamment dans le contexte de la mise en place du microbiote qui a lieu au moment de la naissance ou dans le cas de certaines maladies métaboliques ou cardiovasculaires.

Il est également possible de définir une signature bactérienne, ou un entérotipe bactérien, spécifique d'un sous-groupe de patients tous atteints de la même maladie. (G.Hoarau .2016)

Ainsi, un entérotipe donné, défini à partir des observations réalisées sur des individus ayant des microbiotes et une pathologie similaires, pourrait permettre de regrouper des patients non plus uniquement en fonction de leur phénotype, mais également sur la base de leur métagénome bactérien, identifié par l'analyse de leurs selles. (C Rofes - 2014)

À ce jour, l'identification de groupes bactériens (appelés taxons) qui constitueraient une signature du diabète de type 2 et de l'obésité n'est cependant pas sans ambiguïté.

De façon générale, par rapport à des sujets apparemment sains, une restriction de la diversité microbienne¹, est observée chez les sujets obèses. En effet, chez les sujets présentant un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 45, on observe une réduction de 30 à 70 % du nombre des gènes bactériens , réduction qui peut être modulée par un régime riche en fibres alimentaires.

Il permet en effet d'augmenter la diversité en espèces microbiennes et, en parallèle, de diminuer le surpoids et, globalement, d'améliorer la santé , comme observé dans une étude restreinte de 50 patients obèses. (R Burcelin, S Nicolas, V Blasco-Baque -2016)

Cette notion de réduction de diversité génétique bactérienne est donc à opposer à celle de l'implication d'une seule, ou de plusieurs, entités bactériennes particulières dans le développement de la maladie. Cependant, la réduction de diversité du microbiote intestinal n'est pas spécifique des maladies métaboliques.

Elle est en effet également retrouvée dans d'autres pathologies dont les pathologies inflammatoires comme la maladie de Crohn, une maladie inflammatoire chronique du tube digestif (MICI) .

Ces spécificités de microbiote intestinal ne peuvent donc être utilisées de manière univoque pour le diagnostic d'une maladie métabolique. De plus, dans une proportion importante de patients obèses (environ 30 à 40 %), une telle altération du microbiote intestinal n'est pas observée, ce qui pourrait être lié au caractère multigénique et multi-étiologique de la maladie métabolique. (Harry 2017).

3) Mécanismes d'action :

a) **Facteur Bactérien** : Le diabète de type 2 et l'obésité sont caractérisés par une inflammation métabolique chronique à bas bruit. Les tissus impliqués dans le contrôle du poids et de la glycémie, comme le foie, le tissu adipeux, le muscle, le pancréas endocrine et le cerveau, sont infiltrés par des cellules immunitaires inflammatoires.

La transmission du signal insulinique est alors altérée à la suite de la stimulation, dans ces cellules, de différentes voies de signalisation (impliquant des phosphatases, des kinases, etc.) à l'origine de la production de cytokines qui induisent une résistance à l'insuline au niveau du muscle et du foie. (N Khelif - 2011)

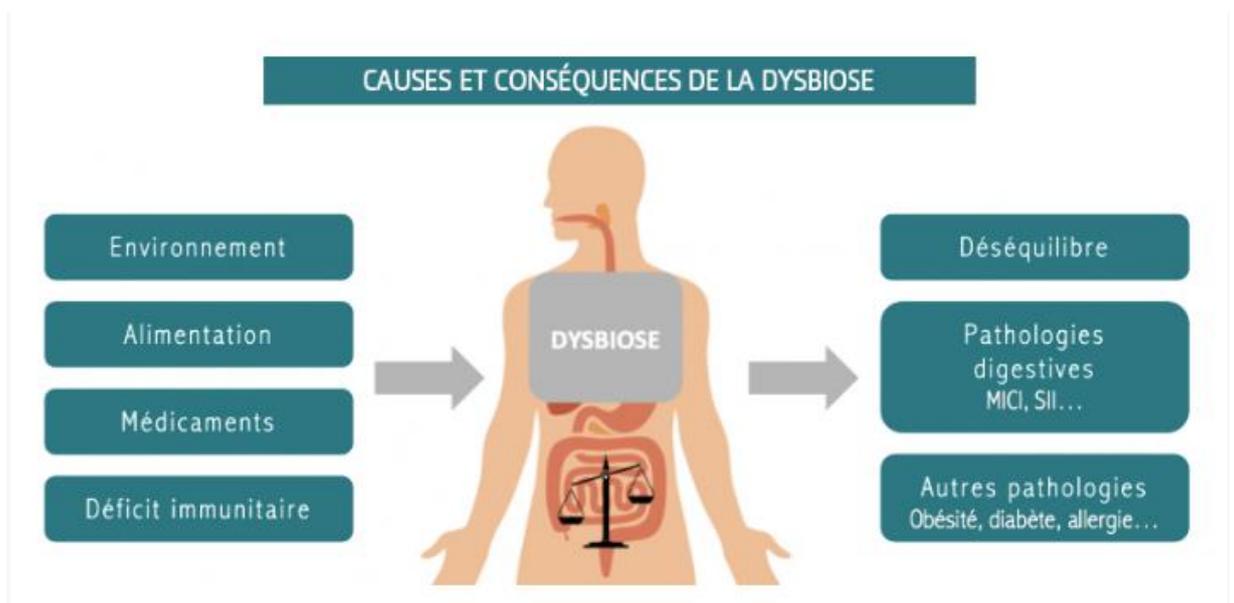


Figure 12. Causes et conséquences de la dysbiose. (N Khelif - 2011)

Ces cytokines peuvent également favoriser une désensibilisation au glucose des cellules beta-pancréatiques pour la sécrétion d'insuline ou le contrôle de la prise alimentaire par le cerveau. Les mécanismes à l'origine

de cette activation du système immunitaire tissulaire restent une question majeure.

La dysbiose, intestinale et buccale, pourrait être à l'origine de cette inflammation, mais par quels mécanismes ? Nous avons montré qu'un régime riche en graisses, notamment celles saturées, qui induit un diabète de type 2 et une obésité, génère une dysbiose du microbiote intestinal et buccal. Ceci favoriserait l'absorption de molécules d'origine bactérienne, comme les LPS. (C Masik 2017)

Les LPS sont empaquetés dans les chylomicrons, des complexes lipides - protéines, puis sont échangés avec les autres lipoprotéines et véhiculés jusqu'aux tissus qui les métabolisent. Une anomalie du transfert et de l'élimination de ces LPS, comme on les observe au cours des maladies métaboliques, serait ainsi à l'origine d'une sur-activation du système immunitaire au niveau tissulaire. Ils seraient libérés au voisinage de ces tissus où ils induiraient une réaction inflammatoire.

Ainsi, l'infiltration des cellules immunitaires et leur activation seraient la conséquence d'une dysbiose intestinale avec pour effet l'absorption de fragments bactériens inflammatoires, comme les LPS et les peptidoglycane. (B Lamas, ML Richard, H Sokol 2016)

b) Facteur Hôte : Du côté de l'hôte, une augmentation de la perméabilité intestinale permettrait le passage des antigènes et des molécules pro inflammatoires ayant pour origine les bactéries. Si cette hypothèse reste à démontrer chez l'homme, chez la souris, un régime enrichi en graisses saturées modifie la perméabilité intestinale.

Cela reposerait sur une modification de la localisation des protéines de jonctions serrées, et donc une augmentation de la perméabilité paracellulaire (entre cellules épithéliales). (O Rahmouni, L Dubuquoy...2016 -)

Une perméabilité trans-cellulaire (au travers des cellules) permettrait également aux fragments bactériens de traverser l'épithélium sans qu'il y ait intervention des jonctions serrées, via les cellules caliciformes, les cellules qui produisent le mucus.

Dans différentes affections, il existe, en plus du passage de fragments bactériens, une translocation de bactéries commensales vivantes, du tractus gastro-intestinal vers des sites extra-intestinaux comme les ganglions lymphatiques, le foie, la rate, le rein ou la circulation sanguine . (JC Lagier, D Raoult - 2016)

LES SYMPTOMES DE LA DYSBIOSE

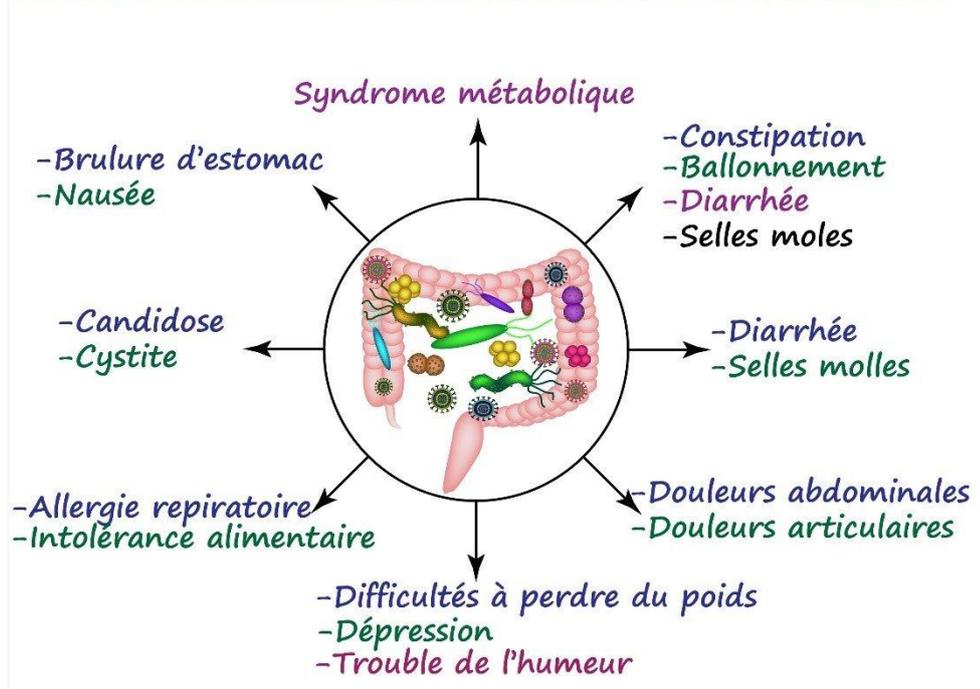


Figure 13. Les principaux symptômes de la dysbiose. (D Raoult - 2016)

Plusieurs mécanismes ont été décrits pour expliquer ce passage transépithélial de bactéries. Des phagocytes présents dans la lumière intestinale peuvent en effet capturer les bactéries qui adhèrent à l'épithélium, normalement protégé par une couche de mucus. Les bactéries peuvent également traverser les cellules M de l'épithélium présentes au niveau des plaques de Peyer, un organe lymphoïde secondaire.

Au cours du diabète de type 2, la couche de mucus est réduite. L'adhérence des bactéries lumineales (présentes dans la lumière) sur l'épithélium et leur translocation dans les tissus sont donc favorisées. (D Payros - 2012)

Des fragments d'ADN bactériens sont également retrouvés dans les organes et le sang chez la souris comme chez l'homme. Certaines de ces séquences d'ADN sont prédictives de l'apparition du diabète de type 2 tandis que d'autres sont associées à l'apparition d'événements cardiovasculaires. (B Lamas, ML Richard, H Sokol - 2016)

Dans les tissus, les bactéries, ou leurs fragments, induisent une stimulation de la prolifération de précurseurs pré-adipocytaires et de macrophages, contribuant ainsi au développement de l'obésité et de l'insulino-résistance. Les LPS des bactéries ainsi transloqués, circulent et se fixent aux complexes récepteurs CD14/TLR4-MD2 présentés par les cellules des tissus comme le foie et le tissu adipeux générant la production de cytokines qui interfèrent avec la signalisation de l'insuline et induisent l'insulino-résistance et le diabète. (Rémy Burcelin, 2015).

4) Alimentation, interventions diététiques et changement du microbiote :

La composition du microbiote intestinal est caractérisée par une grande variabilité interindividuelle. Cependant, les études du génome bactérien (par métagénomique) ont révélé des ressemblances. Le concept d'entérotype a ainsi été défini. Ces entérotypes sont caractérisés par la présence prédominante d'un genre bactérien comme, respectivement, Bacteroides (entérotype 1), Prevotella (entérotype 2) ou Ruminococcus (entérotype 3). Ces entérotypes semblent liés aux habitudes alimentaires : une alimentation contenant des protéines animales et des graisses saturées pour l'entérotype 1, alimentation à base d'hydrates de carbone pour l'entérotype 2. D'ailleurs, un changement diététique de courte durée ne semble pas modifier ces entérotypes.

D'autres modifications sont observées lors des changements diététiques. Ils sont généralement rapides mais reproductibles dès les premiers jours après un changement alimentaire. Par exemple, des régimes enrichis en hydrates de carbone vont modifier la richesse en bactéries connues pour jouer un rôle dans leur digestion, comme par exemple Roseburia et Eubacterium rectale. Notre équipe a effectué une intervention diététique de 6 semaines de perte de poids suivie de 6 semaines de stabilisation pondérale chez des personnes en surpoids ou obèses. Cette intervention consistait en une réduction calorique mais associée à un enrichissement en protéines, fibres et glucides. Outre des changements dans la composition du microbiote associée aux améliorations métaboliques et inflammatoires, nous avons observé que cette 134 Correspondances en augmentait de 30 % environ la richesse bactérienne chez les personnes obèses ou en surpoids, en particulier chez celles qui avaient un appauvrissement du microbiote intestinal avant l'intervention . (Diabètes et Nutrition - juin 2015)

En revanche, dans cette étude de courte durée, les paramètres métaboliques (lipides circulants), inflammatoires systémiques (CRP) et

tissulaires des sujets avec un microbiote appauvri avant l'intervention étaient améliorés, mais sans rejoindre les niveaux observés chez des sujets avec un microbiote plus riche avant l'intervention (Rémy Burcelin, 2012.).

Conclusion :

Le décryptage du microbiote tissulaire et sanguin personnalisé nécessitera de mettre en œuvre les moyens informatiques et mathématiques adaptés aux méga-données qui seront obtenues à partir de larges cohortes de patients. Les bactéries qui nous entourent ont été sélectionnées au cours de 3 milliards d'années d'évolution.

Nous commençons seulement notre plongée dans les profondeurs, à la découverte de la face immergée de l'iceberg, mais les premières informations recueillies sont déjà riches en promesses thérapeutiques. (Harry Sokol.2014)

Chapitre VIII/ Microbiote, Cancérogenèse Digestive et Thérapie

Anticancéreuse :

1) Introduction :

La muqueuse intestinale est colonisée par environ 100 milliards de micro-organismes (incluant des bactéries, des champignons, des virus et des bactériophages), mais il existe 3 principaux phyla : les *Firmicutes* (30-50 %), les *Bacteroidetes* (20-40%) et les *Actinobacteria* (1-10%) .

Le microbiote intestinal diffère significativement d'un individu à l'autre, mais sa composition est globalement stable chez une personne donnée au cours du temps. Le mode de vie, l'alimentation et le génotype de l'hôte sont les déterminants majeurs de la composition du microbiote. (J Legendre - 2014)

Après une perturbation, le microbiote intestinal a la capacité de se restaurer, mais, si les modifications de la composition microbienne excèdent sa résilience, les altérations deviennent permanentes, aboutissant à une dysbiose.

(I Lamoureux - 2016)

Quand la relation symbiotique entre l'hôte et le microbiote est altérée, une réponse inflammatoire ou immunitaire déséquilibrée apparaît, à l'origine de dommages tissulaires chroniques que l'on peut voir, par exemple, dans les maladies inflammatoires chroniques intestinales.

La dysbiose est également impliquée dans la carcinogenèse : elle déclenche des signaux pro-inflammatoires ou immunosuppresseurs. (A Lopez)

2) Pathogénie :

Grâce aux travaux de R. Koch, il a été démontré que certaines souches bactériennes avaient une pathogénicité intrinsèque. *Helicobacter pylori* a par exemple été classé il y a plus de 20 ans dans le groupe des carcinogènes de type I par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), et est impliqué dans trois quarts des cancers gastriques à l'échelle mondiale. Cependant, l'idée qu'un microorganisme correspondrait à une maladie est rarement vérifiée, et il semblerait que des modifications plus globales du microbiote participent à la carcinogénèse. (E Bessede - 2012)

Le microbiote peut ainsi être impliqué dans la carcinogénèse de multiples manières: mécanismes pathogéniques directs, immunosuppression, altération des mécanismes inflammatoires, du métabolisme de l'hôte ainsi que des voies de prolifération et de mort cellulaire. Récemment, des données ont été rapportées sur l'impact du microbiote sur la réponse à l'immunothérapie. . (A Lopez .2012)

3) Hypothèse Infectieuse dans la Carcinogénèse :

En 2012, environ 15 % des nouveaux cas de cancer diagnostiqués dans le monde étaient attribuables à des agents infectieux, Le CIRC considère que 10 micro-organismes sont carcinogènes pour l'homme, parmi lesquels : *H. pylori*, le papillomavirus humain, les virus des hépatites B et C, ou encore le virus d'Epstein-Barr .

H. pylori est directement et fortement impliqué dans la carcinogénèse gastrique, De nombreux auteurs ont rapporté une surreprésentation de *Fusobacterium nucleatum* dans les biopsies tumorales de cancer colorectal (CCR) ; De la même manière, *Salmonella typhi* pourrait aussi jouer un rôle central dans la carcinogénèse par le biais de sa protéine AvrA (Avirulence Factor for *Salmonella*). (D Coëtmeur. Et al 2012)

4) Dysbiose, inflammation et cancer :

Les muqueuses permettent d'entretenir une symbiose entre hôte et micro-organismes, mais les infections, les traumatismes ou certains facteurs alimentaires peuvent conduire à une brèche persistante de ces barrières, et donc à une relation perturbée entre ces acteurs, avec pour conséquence une augmentation des signaux pro-inflammatoires.

Microbiote, immuno-suppression et évation tumorale : Les micro-organismes ne sont pas seulement capables de stimuler des signaux pro inflammatoires: ils peuvent aussi induire des réponses immunosuppressives, en protégeant les tumeurs des systèmes défensifs de l'hôte. Par exemple, de nombreuses études ont évoqué le rôle de la toxine de *Bactéroïdes fragilis* (BFT) dans la carcinogenèse colique. ()

De nombreuses études ont montré qu'une densité élevée de cellules associées aux tumeurs exprimant les marqueurs des Treg, notamment le FoxP3, était associée à un mauvais pronostic en cas de cancer digestif.

Les interactions complexes entre le microbiote intestinal, le système immunitaire et les cellules tumorales nous font entrer dans une nouvelle ère où les micro-organismes pourraient être à la fois nos partenaires et nos ennemis. ([M Tosolini - 2010](#))

5) Microbiote et Cancérogenèse Digestive :

5.1) Cancer colorectal :

Certains arguments indirects suggèrent un rôle potentiel du microbiote dans la carcinogenèse colorectale, La concentration bactérienne dans le côlon est environ 1 million de fois plus élevée que dans l'intestin grêle, alors que l'incidence du CCR est 12 fois supérieure à celle du cancer de l'intestin grêle.

Le CCR est une maladie essentiellement génétique, mais le microbiote pourrait expliquer les interactions entre le génome de l'hôte et l'environnement dans la carcinogenèse. (A Lopez,2015)

Cependant, le cancer reste une maladie multifactorielle, et établir un lien de causalité robuste entre micro-organismes et CCR est difficile, au regard des nombreuses limites des études disponibles sur le microbiome des tumeurs coliques.

Dans la carcinogenèse colique, peu de bactéries réunissent les critères habituels de causalité : Cependant, certaines bactéries semblent fréquemment associées au CCR : *Streptococcus gallolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacteroides fragilis entérotoxigène (BFET)*, *Escherichia coli* et *Fusobacterium nucleatum*. (S DILAL - 2019)

5.2) Cancer gastrique :

En raison de l'acidité de l'estomac, la concentration bactérienne y est 5 fois inférieure à celle du côlon. Chez les patients *H. pylori*-négatifs, le phylum le plus abondant est celui des *Proteobacteria*, suivi des *Firmicutes*, des *Bacteroidetes*, des *Actinobacteria* puis des *Fusobacteria*.

À l'échelle mondiale, 74 % des cancers gastriques sont attribuables à *H. pylori*, notamment car ce dernier est capable de modifier la composition et la

biodiversité du microbiote gastrique, favorisant ainsi la carcinogénèse. (A Lopez, E Hansmannel, T Kokten- 2017)

En utilisant l'ARN ribosomal 16S, une petite étude (12 sujets) a montré que l'abondance relative de *Proteobacteria* et d'*Acidobacteria* était plus élevée chez les patients infectés par *H. pylori*, tandis que les patients *H. pylori*-négatifs avaient une plus grande abondance d'*Actinobacteria* et de *Firmicutes*. (Dumas. 17/06/2021)

En cas de dysbiose gastrique, les bactéries réductrices de nitrates peuvent être surreprésentées, comme *Veillonella parvula*, conduisant à une accumulation de nitrites dans le mucus gastrique .

Enfin, *H. pylori* pourrait être un déclencheur de la gastrite atrophique, associée à une baisse de l'acidité et à des changements dans la constitution du microbiote, qui ont des conséquences dans les étapes ultérieures de la carcinogénèse gastrique. (A Lopez 2015)

5.3) Cancer œsophagien :

Par rapport à celles du CCR et du cancer gastrique, les données concernant le microbiote et le cancer œsophagien sont parcellaires. En 2009, L. Yang et al. ont analysé 6 800 clones géniques issus d'ARN ribosomal 16S chez 34 sujets, ce qui a permis d'isoler 2 profils de microbiome :

- Le type I, essentiellement associé avec l'œsophage sain, dans lequel prédominaient les bactéries du phylum *Firmicutes*, et en premier lieu celles du genre *Streptococcus*;
- Le type II, surexprimant les bactéries des *phyla Bacteroidetes, Proteobacteria, Fusobacteria ;Spirochaetes*, était associé à l'œsophagite de reflux.

Ces résultats ont par la suite été affinés par (N. Liu et al). Qui ont montré que *Veillonella*, *Prevotella*, *Neisseria* et *Fusobacterium* étaient prédominants en cas d'œsophagite de reflux et d'œsophage de Barrett, mais absents chez les sujets contrôles. (A Lopez, T Kokten- 2017)

Rares sont les études qui ont abordé les modifications du microbiote œsophagien en cas de cancer ; La façon dont le microbiote pourrait jouer un rôle dans la carcinogenèse œsophagienne n'est actuellement pas connue, mais les Toll-Like Receptors (TLR) exprimés dans le microenvironnement de la muqueuse œsophagienne seraient des médiateurs potentiels dans la progression de la maladie depuis le reflux jusqu'au cancer invasif, en créant des interactions entre le système immunitaire et le microbiome . (PG CAMPISTRON - 2012)

5.4) Carcinome hépatocellulaire :

Le foie est constamment exposé au microbiote intestinal via le flux veineux portal. La stérilisation de l'intestin prévient l'apparition de tumeurs hépatiques. De la même manière, une antibiothérapie permet de réduire le nombre et la taille des tumeurs.

Le lien entre microbiote et CHC semble fortement corrélé à l'obésité. . Chez les souris nourries selon un régime riche en graisses, la proportion de bactéries à Gram positif est augmentée, ce qui est potentiellement à l'origine de dommages dans l'ADN des cellules stellaires des souris obèses . (INSERM.2016)

Les ABS (Acides Biliaires Secondaires) pourraient également jouer un rôle dans la carcinogenèse hépatique. Ceux-ci sont augmentés en cas d'alimentation riche en graisses, ce qui active des voies de signalisation promototiques et pro-inflammatoires ; Même si ces données préliminaires suggèrent un impact du microbiote et de l'homéostasie intestinale sur la

carcinogénèse hépatique, des études longitudinales chez l'homme sont nécessaires pour confirmer cette relation. (Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K et al. 2013)

5.5) Cancer du pancréas :

Les cellules pancréatiques peuvent entrer en contact avec les micro-organismes par la translocation de microflore orale et intestinale, l'activation chronique du système immunitaire et l'inflammation liée à la tumeur impliquant une stimulation des TLR seraient un mécanisme plausible ; le microbiome ouvre des voies prometteuses quant à une détection précoce du CP, mais des études complet Microbiote et Cancérogénèse Digestive mentaires sont nécessaires pour mieux explorer les liens entre micro-organismes et carcinogénèse pancréatique. (A Lopez ,2015)

6) Microbiote et Thérapie Anti-Cancéreuse :

L'efficacité des thérapies anticancéreuses serait aussi sous l'influence du microbiote. Il existerait une synergie d'action entre certains médicaments anticancéreux et la flore intestinale : on sait ainsi que l'efficacité du cyclophosphamide, couramment utilisé en oncologie est influencée par le microbiote qui favorise la perméabilité intestinale et la migration de bactéries immunogènes vers le système immunitaire tumoral. Elles provoqueraient une réponse immunitaire en synergie avec le médicament anti tumoral. (INSERM. 2015)

L'immunothérapie, utilisée depuis peu dans le traitement du mélanome et des cancers bronchiques et rénaux, bénéficierait aussi d'un coup de pouce de la part des bactéries de type *Bactéroides*.

Elles influenceraient la capacité du système immunitaire à résister naturellement au mélanome. Par ailleurs, l'efficacité d'un traitement anti-

mélanome par ipilimumab est elle-même corrélée à la présence de l'une ou l'autre de deux espèces de bactéries de la famille *Bacteroides*.

D'autres thérapeutiques (sels de platine, nivolumab) et d'autres cibles cancéreuses pourraient répondre aux mêmes mécanismes.

Les perspectives thérapeutiques sont nombreuses : l'analyse du microbiote pourrait devenir un test systématique avant la mise en œuvre d'un traitement, prédictif de la réponse thérapeutique. (ANSM.. 2014).

Si nécessaire, des traitements spécifiques du microbiote y seraient adjoints : des probiotiques connus pour être capables de booster les lymphocytes intra tumoraux pourraient être associées au traitement conventionnel anticancéreux.

Chapitre IX/ Pharmacobiotique :

1) La pharmacobiotique :

A pour objectif de modifier le microbiote intestinal dans un but thérapeutique et ceci par différents moyens : prébiotiques, probiotiques, antibiotiques, transplantations fécales. (Petschow B, et al..2013).

2) Les prébiotiques :

Sont essentiellement des glucides complexes, comme l'inuline ou les galacto et fructosaccharides, non digérés par l'homme et favorisant la croissance de certains groupes bactériens (*Bifidobacteria*, *Faecalidacteria*, etc.), et modifiant quantitativement la composition du microbiote. La durabilité de leurs effets nécessite une prise régulière et continue.

3) Les probiotiques :

Sont des microorganismes vivants (*Bifidobacterium animalis*, *delbrueckii*, *lactis*, etc.), apportés ou ajoutés à certains aliments et sensés conférer un bénéfice en matière de santé, en particulier sur le contrôle de la masse corporelle.

En Définition : Les probiotiques sont définis comme des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte. Ils peuvent être composés de bactéries ou de levures. Même s'ils ont en commun d'être des microorganismes non pathogènes, les probiotiques diffèrent considérablement les uns des autres.

Il n'y a pas de définition légale du terme probiotique mais il existe des critères minimums pour être considérés comme probiotique :

- Spécifié selon le genre et la souche
- La souche doit être retrouvée vivante dans le produit.
- Conditionné à un dosage approprié jusqu'à sa date de péremption
- Démontré efficace dans des études contrôlées sur l'humain.
- Démontré sûr pour l'usage prévu. (Emilie Dolié.: 2018)

4) L'utilisation des antibiotiques :

A bien entendu des effets sur la flore intestinale et éventuellement des conséquences métaboliques. S'il est recommandé d'éviter la prise d'antibiotiques pendant la première année de vie pour ne pas perturber la constitution d'un microbiote normal, à l'inverse le traitement calorique de certains états de dénutrition infantile type kwashiorkor nécessite d'être associé à des antibiotiques pour aider à la reconstitution d'un microbiote fonctionnel.

5) Transplantation fécale :

Aux précédents moyens (pré et probiotiques, antibiotiques) susceptibles de modifier et si possible d'améliorer le microbiote intestinal s'associe la **transplantation fécale**, le risque de cette approche thérapeutique étant la transmission d'agents infectieux.

Deux types de pathologies ont fait l'objet d'études importantes : les maladies inflammatoires de l'intestin (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique) et le syndrome du colon irritable ; les résultats sont encourageants dans les modèles expérimentaux mais peu déterminants en clinique humaine. Par contre dans le traitement des récurrences de colite ulcéro-membraneuse à *Clostridium difficile*, survenant chez les personnes âgées après

certaines traitements antibiotiques, le taux de succès de la transplantation fécale atteint 90 %. Des recommandations sur les conditions de mise en œuvre de ce type de transplantation ont été récemment émises par l'ANSM (agence nationale de sécurité du médicament). (ANSM.. 2014).

Il existe donc un équilibre entre le microbiote, la barrière intestinale, le système immunitaire et l'activité métabolique, mais indépendamment des nutriments le tube digestif peut également être exposé à différents xénobiotiques

6) Les interactions microbiote/xénobiotiques :

Peuvent relever aussi bien d'un phénomène de compétitivité que d'un rôle direct de la flore intestinale dans le métabolisme de certains médicaments. L'exemple est celui de l'**irinotécan**, utilisé per os en chimiothérapie des cancers colorectaux : le produit est inactivé par **glucuronidation** dans le foie mais réactivé après excrétion biliaire par les glucuronidases bactériennes et susceptible de provoquer diarrhées et anorexie ; sa tolérance est augmentée par une co-administration d'un inhibiteur de ces glucuronidases.

Un autre mécanisme est celui de la stimulation de l'immunité sous l'action de la **cyclophosphamide** : cet anticancéreux provoque une altération de la barrière intestinale entraînant le passage de bactéries Gram+ dans la circulation sanguine et les ganglions, qui augmentent les défenses immunitaires y compris anti-tumorales. (Viaud S, et al. 2013).

Ces notions récentes conduisent à recommander une utilisation rationnelle et mesurée des antibiotiques chez les patients cancéreux et à prendre en compte le microbiote comme un autre paramètre prédictif de réponse aux chimiothérapies. (PatriceDEBRÉ,..2014)

Références Bibliographiques :

-Emilie Dolié. Rôle de la flore intestinale dans l'immunité : usage actuel des probiotiques et futures indications. UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ANNEE: 2018 THESE 2018/TOU3/2040.

-Julie LEGENDRE. MICROBIOTE INTESTINAL ET MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN. Directeur de thèse : Professeur Campistrone Gérard. UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ANNEE : 2014 THESES 2014 .

-Patrice DEBRÉ *, Jean-Yves LE GALL Au nom de la commission I (Biologie). Microbiote. Intestins. Métagénome. Symbiose. Dysbiose. Digestion. Obésité. Bull. Acad. Natle Méd., 2014, 198, no 9, 1667-1684, séance du 9 décembre 2014.

-Harry Sokol (u) Service de Gastroentérologie et Nutrition, Hôpital Saint-Antoine, 184 rue du Faubourg Saint-Antoine, 75571 Paris Cedex 12, France.

-Rémy Burcelin,1* Simon Nicolas,1 and Vincent Blasco-Baque. Microbiotes et maladies métaboliques De nouveaux concepts pour de nouvelles stratégies thérapeutiques. 1Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm), Toulouse, France. Université Paul Sabatier (UPS), unité mixte de recherche (UMR).

-Judith Aron-Wisniewsky (institut cardiométabolique et nutrition INSERM), Karine Clément (université Pierre-et-MarieCurie ;service nutrition, hôpital de la PitiéSalpêtrière, Paris). Microbiote et obésité : données cliniques et chirurgicales.

-Harry Sokol (u) Service de Gastroentérologie et Nutrition, Hôpital Saint-Antoine, 184 rue du Faubourg Saint-Antoine, 75571 Paris Cedex 12, France. Transplantation fécale

-Anthony Lopez. Service d'hépatogastroentérologie et unité Inserm U954, CHRU de Nancy et université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy. Microbiote et cancer.

-Microbiote Intestinal,une piste sérieuse pour comprendre l'origine des maladies.INSERM. Publié le : 12/07/2017.

-ANSM. La transplantation du microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques. 2014.

-Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillere R, Hannani D, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. Science. 2013; 342:971-976.

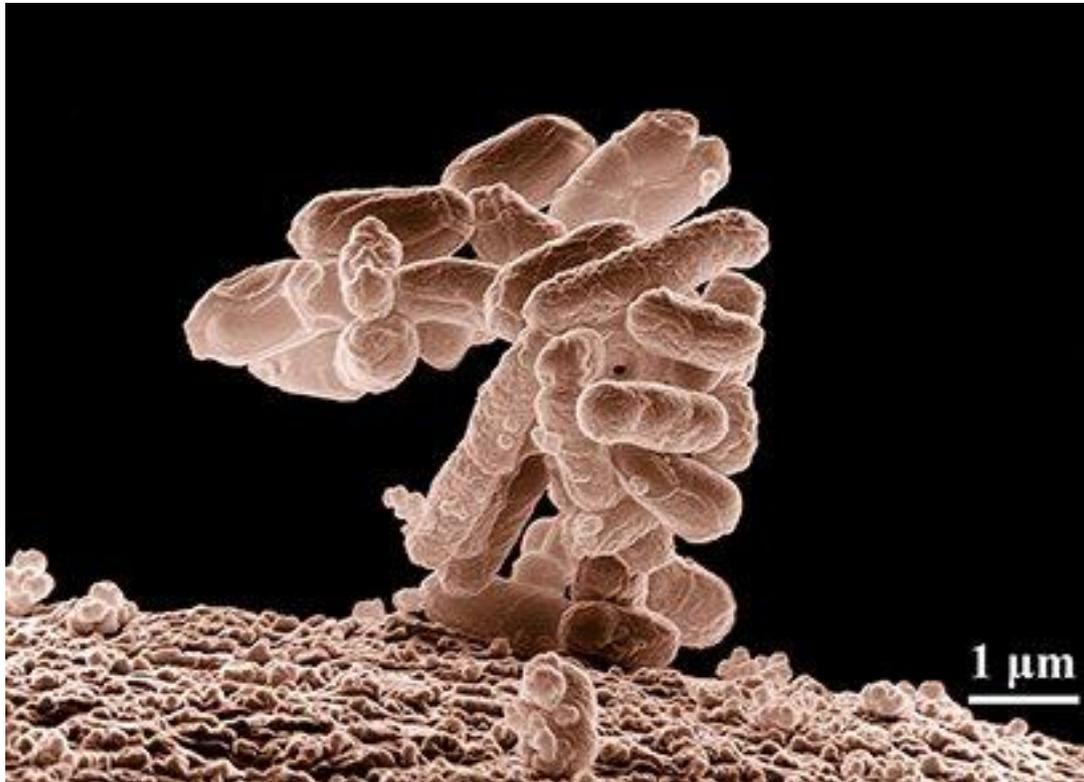
-J Legendre - 2014 - thesesante.ups-tlse.fr

- Doctissimo. J.Cardeas 05/03/2018. Flore intestinale
- C Humblot - 2015 - horizon.documentation.ird.fr.
- J Dore, D Ehrlich, V Monnet, E Le Chatelier... - 2017 - hal.archives-ouvertes.fr
- Burcelin et al. 2016
- E Dolié - 2018 - thesesante.ups-tlse.fr
- Muniz et al. 2012
- RJ Michelland - 2009 - oatao.univ-toulouse.fr
- Gérard and Bernalier-Donadille, 2007
- . A Potiron - 2017 - theses.fr
- . Eleam- univ.oran1.dz
- S Morin - 2012 - tel.archives-ouvertes.fr
- P Bally - 2015 - theses.fr
- A Couturier-Maillard - 2012 - tel.archives-ouvertes.fr
- . campus.cerimes.fr/parasitologie-enseignement-toxoplasmose
- Qin et al. 2010
- J Dore, D Ehrlich, V Monnet, E Le Chatelier... - 2017 - hal.archives-ouvertes.fr
- S Coudeyras, C Forestier - Canadian Journal of Microbiology, 2010 - cdnsciencepub.com
- Barbut et Joly 2010
- A Mihajlovski - 2009 - tel.archives-ouvertes.fr
- P Debré, JY Le Gall - Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine, 2014 – Elsevier
- Bull. Acad. Natle Méd., 2014, 198, no 9, 1667-1684, séance du 9 décembre 2014 1669

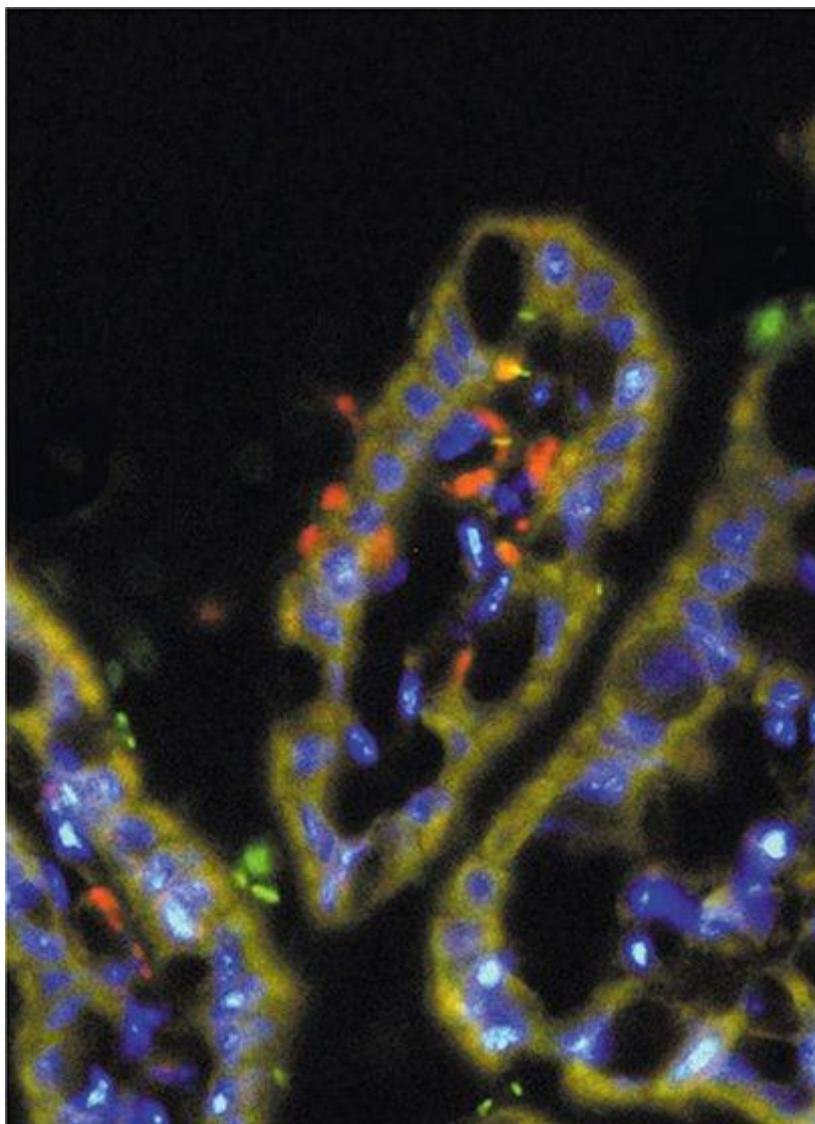
- J Cornuault - 2018 - theses.fr
- N Biard - 2016 - hal.univ-lorraine.fr
- C Malpas, C Guerrier - 2019 - Média Diffusion
- B Dodet - médecine/sciences, 2016 - medecinesciences.org
- F Megerlin, E Fouassier - Annales pharmaceutiques françaises, 2014 - Elsevier
- G Enders - 2015 - Éditions Actes Sud
- G Corthier - 2010 - books.google.com
- cregg.org › Espace patients › My MICI Book
- Baumgart and Carding, 2007
- E Lerebours, G Savoye- clinique et biologique, 2003 - pubmed.ncbi.nlm.nih.gov
- P Marteau - 2003 - books.google.com
- GP de Chambrun - 2014 - tel.archives-ouvertes.fr
- D Hanriot - 2008 - hal.univ-lorraine.fr
- A Poncy - 2002 - hal.univ-lorraine.fr
- Ponder and Long, 2013
- R Burcelin, S Nicolas, V Blasco-Baque - médecine/sciences, 2016 - medecinesciences.org
- C Rofes - 2014 - thesesante.ups-tlse.fr
- Khelif - 2011 - eprints.univ-batna2.dz
- ThesesantéUPStlse.fr C Masik 2017
- B Lamas, ML Richard, H Sokol - médecine/sciences, 2016 - medecinesciences.org
- O Rahmouni, L Dubuquoy... - médecine ..., 2016 - medecinesciences.org
- D Payros - 2012 - thesesups.ups-tlse.fr

- A Lopez - edimark.fr
- I Lamoureux - 2016 - thesesante.ups-tlse.fr
- E Bessede - 2012 - theses.fr
- D Coëtmeur, G Leveiller, L Alix... - Revue des Maladies ..., 2012 - Elsevier Masson
- Acces.ens-Lyon.fr thématiques virus et immunité 6 fevrier 2021
- M Tosolini - 2010 - tel.archives-ouvertes.fr
- S DILAL - 2019 - ao.um5.ac.ma
- A Lopez, F Hansmannel, T Kokten- , 2017 - academic.oup.com
- Dumas.ccsd.cnrs.fr documents 17/06/2021
- PG CAMPISTRON - 2012 - core.ac.uk
- INSERM.fr dossier Microbiote Intestinal 01/02/2016
- Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K et al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. Nature 2013; 499:97-101
- passeportsanté.net-Nutriments/les glucides
- Petschow B, Dore J, Hibberd P, Dinan T, Reid G, Blaser M, et al. Probiotics, prebiotics, and the host microbiome: the science of translation. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2013;1306:1-17.
- Emilie Dolié. Rôle de la flore intestinale dans l'immunité : usage actuel des probiotiques et futures indications. UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ANNEE: 2018 THESE 2018 (2)
- INSERM : Rémy Burcelin (unité Inserm 1048 /université de Toulouse Paul Sabatier, Institut des maladies métaboliques et cardiovasculaires, hôpital Rangueil, Toulouse), Laurence Zitvogel (unité Inserm 1015 /Université Paris Sud, « Immunologie des tumeurs et immunothérapie contre le cancer », Institut Gustave-Roussy, Villejuif), Guillaume Fond (unité Inserm 955 /Université Paris-Est Créteil Val-de-Marne, Fondation FondaMental, Institut Mondor de recherche biomédicale, hôpital Mondor, Créteil) et Harry Sokol (unité Inserm 1157 /CNRS/UPMC, « Micro-organismes, molécules bioactives et physiopathologie intestinale », Hôpital Saint-Antoine, Paris)

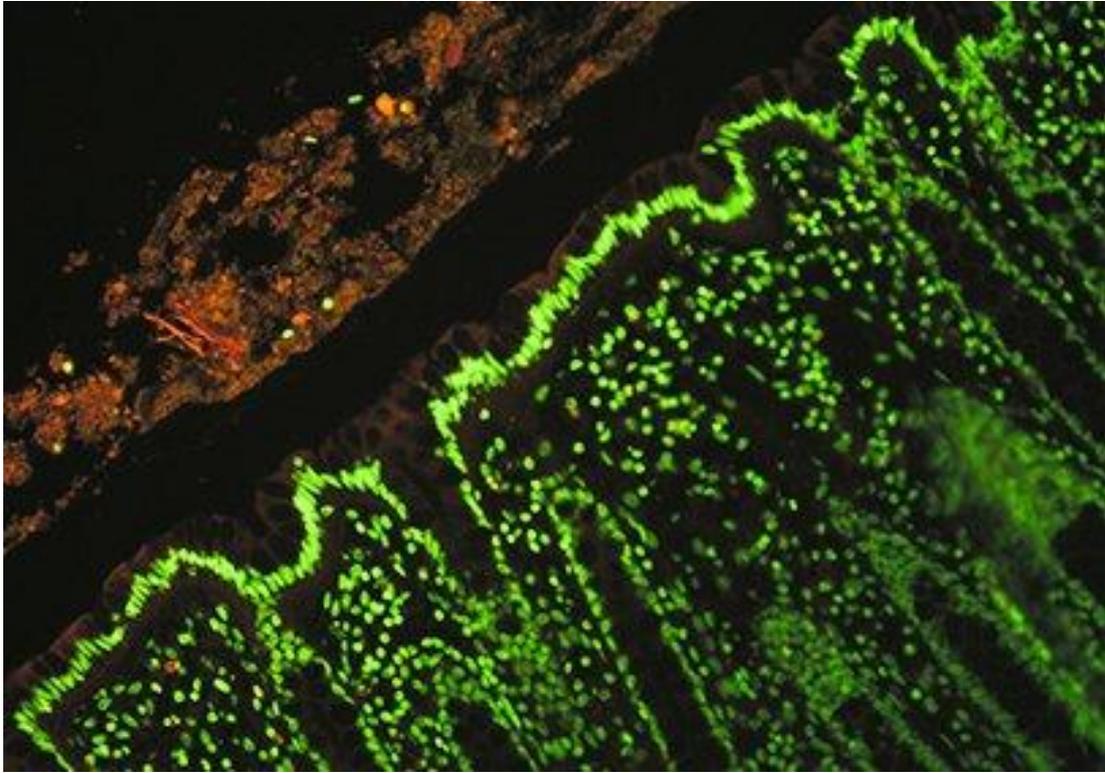
Annexes



Micrographie électronique à basse température d'un groupe de bactéries *E. coli* (X10 000) © Photo d'Eric Erbe, colorisation numérique par Christopher Pooley, tous deux de l'USDA, ARS, EMU. Cette image a été publiée par l'Agricultural Research Service, l'agence de recherche du Département de l'Agriculture des Etats-Unis (ID K11077-1).



Mise en évidence des bactéries (en vert) dans l'épithélium intestinal (en bleu). En rouge, les cellules immunitaires. © Inserm/Chabo, Chantal



Microbiote (marquage rouge par la méthode FISH) et intestin (marquage vert/conversion DAPI). Mise en évidence du positionnement de la flore intestinale commensale pour l'essentiel à distance de la surface épithéliale du fait de la présence de mucus et des molécules antimicrobiennes à qui il sert de matrice. Illustration de l'environnement auquel *Lactobacillus* est confronté lors de son processus de colonisation et d'établissement © Inserm, T. Pédrón