

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2015

THESES 2015 / TOU3 / 2096

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

Aurore ABADIE

MICROBIOTE INTESTINAL ET DIABETE DE TYPE 2

Vendredi 11 décembre 2015

Directeur de thèse : Yannis SAINTE-MARIE

JURY

Président : Gérard CAMPISTRON, Professeur Emérite de physiologie
1^{er} assesseur : Yannis SAINTE-MARIE, Maître de conférences en physiologie
2^{ème} assesseur : Vincent ALQUIER, Docteur en pharmacie

**PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} octobre 2014**

Professeurs Émérites

M. BASTIDE R	Pharmacie Clinique
M. BERNADOU J	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G	Physiologie
M. CHAVANT L	Mycologie
Mme FOURASTÉ I	Pharmacognosie
M. MOULIS C	Pharmacognosie
M. ROUGE P	Biologie Cellulaire

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CHATELUT E	Pharmacologie	Mme BARRE A	Biologie
M. FAVRE G	Biochimie	Mme BAZIARD G	Chimie pharmaceutique
M. HOUIN G	Pharmacologie	Mme BENDERBOUS S	Mathématiques – Biostat.
M. PARINI A	Physiologie	M. BENOIST H	Immunologie
M. PASQUIER C (Doyen)	Bactériologie - Virologie	Mme BERNARDES-GÉNISSON V	Chimie thérapeutique
Mme ROQUES C	Bactériologie - Virologie	Mme COUDERC B	Biochimie
Mme ROUSSIN A	Pharmacologie	M. CUSSAC D (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SALLERIN B	Pharmacie Clinique	Mme DOISNEAU-SIXOU S	Biochimie
M. SIÉ P	Hématologie	M. FABRE N	Pharmacognosie
M. VALENTIN A	Parasitologie	M. GAIRIN J-E	Pharmacologie
		Mme MULLER-STAU MONT C	Toxicologie - Sémiologie
		Mme NEPVEU F	Chimie analytique
		M. SALLES B	Toxicologie
		Mme SAUTEREAU A-M	Pharmacie galénique
		M. SÉGUI B	Biologie Cellulaire
		M. SOUCHARD J-P	Chimie analytique
		Mme TABOULET F	Droit Pharmaceutique
		M. VERHAEGHE P	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CESTAC P	Pharmacie Clinique	Mme ARÉLLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme GANDIA-MAILLY P (*)	Pharmacologie	Mme AUTHIER H	Parasitologie
Mme JUILLARD-CONDAT B	Droit Pharmaceutique	M. BERGÉ M. (*)	Bactériologie - Virologie
M. PUISSET F	Pharmacie Clinique	Mme BON C	Biophysique
Mme SÉRONIE-VIVIEN S	Biochimie	M. BOUAJILA J (*)	Chimie analytique
Mme THOMAS F	Pharmacologie	Mme BOUTET E	Toxicologie - Sémiologie
		M. BROUILLET F	Pharmacie Galénique
		Mme CABOU C	Physiologie
		Mme CAZALBOU S (*)	Pharmacie Galénique
		Mme CHAPUY-REGAUD S	Bactériologie - Virologie
		Mme COSTE A (*)	Parasitologie
		M. DELCOURT N	Biochimie
		Mme DERAEEVE C	Chimie Thérapeutique
		Mme ÉCHINARD-DOUIN V	Physiologie
		Mme EL GARAH F	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F	Toxicologie
		Mme GIROD-FULLANA S (*)	Pharmacie Galénique
		Mme HALOVA-LAJOIE B	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I	Biochimie
		Mme LEFEVRE L	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C	Pharmacognosie
		M. LEMARIE A	Biochimie
		M. MARTI G	Pharmacognosie
		Mme MIREY G (*)	Toxicologie
		Mme MONTFERRAN S	Biochimie
		M. OLICHON A	Biochimie
		M. PERE D	Pharmacognosie
		Mme PHILIBERT C	Toxicologie
		Mme PORTHE G	Immunologie
		Mme REYBIER-VUATTOUX K (*)	Chimie Analytique
		M. SAINTE-MARIE Y	Physiologie
		M. STIGLIANI J-L	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D	Hématologie
		Mme TOURRETTE A	Pharmacie Galénique
		Mme VANSTEELANDT M	Pharmacognosie
		Mme WHITE-KONING M	Mathématiques

(*) titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires		Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche	
Mme COOL C (**)	Physiologie	Mme PALOQUE L	Parasitologie
Mme FONTAN C	Biophysique	Mme GIRARDI C	Pharmacognosie
Mme KELLER L	Biochimie	M IBRAHIM H	Chimie anal. - galénique
M. PÉRES M. (**)	Immunologie		
Mme ROUCH L	Pharmacie Clinique		
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique		

(**) Nominé au 1^{er} novembre 2014

Remerciements

A mon jury :

Monsieur Campistron, merci de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. J'en profite pour vous remercier d'avoir été un professeur intéressant, abordable et sympathique pendant ces longues années études.

Monsieur Yannis Sainte-Marie, merci d'avoir accepté de m'encadrer pour la réalisation de cette thèse. Merci pour votre investissement et votre écoute tout au long de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements les plus sincères et de mon profond respect.

Monsieur Vincent Alquier, merci infiniment d'avoir accepté de juger mon travail. Tu es un pharmacien exceptionnel, un exemple pour beaucoup d'entre nous mais surtout un exemple pour moi. Ta thèse a été la première à laquelle j'ai assisté il y a quelques années, maintenant tu me passes le relais et j'en suis fier.

Aux équipes officinales qui m'ont accompagnée dans mes premiers pas de pharmacien :

A l'équipe de la pharmacie de l'Avenue de Muret : Camille, Charlotte, Anne. Merci de m'avoir tout appris et fait partager vos compétences lors de mes débuts au comptoir, et de m'avoir montré la beauté de ce métier. Merci pour votre patience, votre pédagogie et votre gentillesse. Vous resterez un exemple pour moi.

A l'équipe de la pharmacie Ozenne : Carole, Eric, Brigitte, Emilie, Nadia, Anne-Sophie. Merci pour tout ce que vous m'avez appris et pour tous ces rires partagés. Vous êtes simplement exceptionnels. Je n'oublierai pas ces six mois à vos côtés.

A ma famille :

Maman, papa, merci de m'avoir supportée pendant ces années d'études (et je sais que ce n'est pas toujours facile !). Merci de m'avoir donné les moyens de réussir et d'en être là aujourd'hui, d'être toujours présents et de me soutenir dans tout ce que j'entreprends.

Cédric, même si on est chien et chat, je sais que je peux toujours compter sur toi. Merci d'être là.

Papis et mamies, à tous les quatre, merci de toujours me soutenir et de vous inquiéter pour moi. Ca y est, j'ai enfin fini et sans trop d'embuche, vous allez pouvoir souffler !

A mes oncles et tantes :

Toutou, Cathie : merci d'être toujours là et de vous être toujours intéressés à ce que je faisais. Vous m'avez été d'un grand soutien.

Jean-Claude, Anne-Marie : merci pour votre soutien et de répondre présent à toutes les occasions, je sais que je peux compter sur vous.

Et bien sûr à tous mes cousins Jérémie, Maxime, Jean, Paul, Mathieu, avec qui je n'ai jamais pu jouer à la poupée, mais je vous aime quand même ! Et surtout, merci à Mathieu d'avoir apporté une touche de féminité à cette famille : Déborah, même si on a passé l'âge de la poupée, je suis ravie de t'avoir dans la famille !

Un immense merci à Ludo, mon chéri, qui suit mon parcours depuis déjà plusieurs années. Merci de me soutenir (me supporter) au quotidien, tu as toujours su être patient, à l'écoute, attentionné, et bien d'autres choses encore. Merci d'être comme tu es, je n'aurai pas pu rêver d'un si beau prince.

Un grand merci aussi à ta famille de m'avoir accueilli à bras ouverts et de me soutenir.

A mes amis :

Les copains d'Auch : Cécoule, Mimilou, Marin, Manue, Ton, Hugro, Réré. Vous êtes maintenant dans ma vie depuis 15, 20 voire 25 ans et je pense que juste avec ça tout est dit. Même si je ne vous vois pas aussi souvent qu'il le faudrait, et malgré la distance qui nous a souvent séparé, vous êtes toujours là et notre amitié n'a jamais été ébranlée. J'espère qu'elle durera encore au moins autant de temps.

Ade, Eugène, Rinou : merci d'être ce que vous êtes, pour moi des amies exceptionnelles.

Ade, merci pour toutes ces années, toulousaines ou pas, pour l'année de coloc' extraordinaire que tu m'as fait vivre, pour être toujours un peu à l'ouest et nous autoriser à nous moquer de toi. Ne change rien !

Euchnie, merci pour ta folie, des comme toi y en a pas deux et c'est pour ça qu'on t'aime ! Merci de nous avoir apporté une magnifique petite princesse, un petit rayon de soleil pour toi mais aussi pour nous !

Rinou, merci d'avoir toujours été là pendant ces années, merci pour ta joie de vivre et ton sourire. Tout ce que je peux te souhaiter maintenant c'est de la réussite parce que tu le mérites amplement !

Quand je pense à vous, je ne peux m'empêcher de penser au pop circus et à toutes nos années là-bas. On y a grandi ensemble et ça a fait de nous ce que nous sommes aujourd'hui. Je n'oublierai jamais ça.

A Julie, Caro, Lila, Mathilde, Tristan, Guigui : merci d'avoir été là pendant ces années d'études et de m'avoir toujours soutenue.

Aux pH :

Ma bibi, merci d'avoir partagé toutes ces années, du premier au dernier jour, tu as toujours été là. Pour notre soutien mutuel pendant la première année, pour nos soirées et nos kebabs pendant la deuxième année, pour les interminables TP qui ont jalonné nos années de fac et pour tout le reste, merci !

Marion, chaton, que dire... Une vraie amitié, simple et sincère. Depuis ce WEI où tu étais brice de nice, on ne s'est plus quittées. Merci d'être toi-même : simple, sensible, toujours prête à aider, toujours motivée de tout. C'est facile d'être ton amie, et je sais que notre amitié durera bien 100 ans de plus !

Je ne peux pas parler de toi sans parler de ton doudou, avec qui j'ai partagé une année mouvementée en tant que VP soirées. Un très bon souvenir ! Même si on t'a perdu en route, tu vois maintenant le bout de tes études et tu peux être fier de toi ! En tous cas moi je suis impressionnée !

Prenez bien soin l'un de l'autre !

Ma Rourou, tu es quelqu'un d'exceptionnel et je suis contente d'avoir croisé ta route. Je n'oublierai jamais ces deux années de coloc' passées avec toi et nos amis rongeurs, nos discussions, nos révisions, nos soirées télé, nos soirées plus agitées, nos repas légers à la veille des exams, et j'en passe. En attendant de se remettre en coloc' dans 60 ans, reste comme tu es, souriante, généreuse, forte. Je sais que je pourrai toujours compter sur toi, et vice versa !

Vincou, tu as eu droit au petit mot sérieux un peu plus haut, maintenant un peu plus de légèreté : tu es un exemple pour nous aussi en soirée, le roi du déguisement (c'est d'ailleurs grâce à ça que tu as conquis ta douce), l'allergique au rhum, le bon vivant. Tous les deux vous vous êtes bien trouvés, et je vous souhaite le bonheur !

Sara, ma momo, merci pour tous ces moments partagés, pour toutes les soirées où tu as été magique, pour toutes les révisions où tu m'aidais avec tes fiches de l'espace, pour toutes nos conversations téléphoniques. Maintenant tu es loin mais même si on se voit moins notre amitié reste intacte et c'est là l'essentiel. Pour toi la route n'est pas encore finie (tu l'as bien cherché) et je te souhaite simplement de la réussite pour la suite, en espérant que tu n'aïles plus jamais à Brest, pour ta santé mentale.

Une pensée pour Guiby avec qui j'ai aussi partagé quelques moments de corpo, je te souhaite beaucoup de réussite, mais je ne m'en fais pas pour vous deux.

Anouch, notre petit rayon de soleil à toutes, la joie de vivre incarnée. Tu es l'amie dont on a tous besoin, toujours là pour nous faire rire, ou nous redonner le sourire quand ça va moins bien. Après 6 ans d'amitié je suis toujours aussi heureuse

de t'avoir rencontrée, reste comme tu es tout est beau chez toi (sauf ton chicot pourri).

Lolo, merci pour ton rire communicatif qui fait toujours plaisir à entendre. Merci aussi pour ta motivation éternelle à aller danser alors que tes chevilles ne veulent pas !

Béatch, merci pour toutes ces soirées passées chez toi, on se demande comment ton appart' est toujours en place. Ca aura été un bon investissement en tout cas ! Merci d'avoir toujours été là quand j'ai eu besoin de toi.

Dada, merci pour ta simplicité et ta bonne humeur quotidienne. Ton calme apparent (les apparences peuvent être trompeuses) est apaisant !

Soso, notre exemple, la surdouée de la bande, mais aussi la plus folle quand il s'agit de sortir. Des anecdotes à ton sujet on pourrait en faire une thèse mais je les garde pour moi comme des supers souvenirs, en espérant qu'il y en ait encore beaucoup !

Baric, tu vois le hibou a bien grandi ! Il fallait que je parle de ton plus grand don, celui des comparaisons animalières. Merci pour ça tu m'auras vraiment fait rire ! Et j'attendrai encore tous les ans mon message d'anniversaire personnalisé je te préviens ! Merci aussi pour ton petit caractère qu'on adore, ne le change surtout pas (quoi que je ne pense pas que ça soit possible) ; ton humour, ta curiosité, ton enthousiasme et ton honnêteté font de toi quelqu'un d'unique !

Aux copains de la fac : Arnaud, Clément, Dan, François. Merci d'avoir partagé ces années de fac et de nous avoir apporté une touche légère et masculine !

Table des matières

Liste des abréviations	13
Liste des figures	15
Liste des tableaux	15
Introduction.....	16
PARTIE 1 : LE DIABETE DE TYPE 2.....	18
I. Généralités	19
1. Définition	19
2. Epidémiologie.....	19
II. Diagnostic.....	20
1. Quand y penser ?	20
2. Comment l'affirmer ?.....	21
III. Physiopathologie	22
1. Régulation de la glycémie chez un individu sain.....	22
2. Insulinorésistance	23
3. Altération de la sécrétion d'insuline	28
4. Autres mécanismes	30
a. Prédispositions génétiques.....	30
b. Inflammation.....	30
c. Profil lipidique particulier	30
d. Flore intestinale	31
IV. Complications.....	31
1. Macroangiopathies.....	32
a. AVC.....	32
b. Ischémie myocardique	33
c. Artérite des membres inférieurs	34
d. Prévention.....	35
2. Microangiopathies.....	35
a. Rétinopathie	35
b. Néphropathie.....	36
c. Neuropathie	39
V. Traitements	41
1. Objectifs thérapeutiques	41
a. Objectif glycémique à adapter au patient.....	42
b. Prise en charge des facteurs de risque.....	42
2. Traitement non médicamenteux.....	42
3. Traitement médicamenteux	43

a. Les médicaments de l'insulinorésistance	43
b. Les insulinosécréteurs	43
c. Les incrétines	44
d. Les inhibiteurs des alpha-glucosidases : Acarbose (Glucor®)	44
e. L'insuline	45
4. Schéma thérapeutique	46

PARTIE 2 : LE MICROBIOTE INTESTINAL

I. Définition	48
II. Composition	48
1. Méthodes d'analyse	48
2. Différents micro-organismes	49
3. Répartition	50
III. Mise en place	51
1. Inégalités dès la naissance	51
a. Mode d'accouchement	51
b. Mode d'allaitement	52
2. Mise en place progressive	53
IV. Rôles	53
1. Défense de l'hôte	53
a. Lutte contre l'intrusion de microorganismes étrangers : « effet barrière »	53
b. Education et maturation du système immunitaire	55
c. Activité anti-inflammatoire	56
2. Biotransformation	58
a. Métabolisme des glucides	58
b. Métabolisme des protéines	59
c. Métabolisme des lipides	60
d. Métabolisme des gaz	61
3. Synthèse de vitamines	61
4. En résumé	61
5. Fonctions du microbiote dans certaines pathologies	62
V. Facteurs de variation	62
1. Facteurs dépendant de l'hôte	63
a. Patrimoine génétique	63
b. Age	63
2. Facteurs exogènes	64
a. Médicaments	64
b. Alimentation	65
c. Polluants minéraux	69

PARTIE 3 : IMPACT DU MICROBIOTE SUR LE METABOLISME ET LE DIABETE DE TYPE 2	71
I. Lien entre microbiote et maladies métaboliques.....	72
1. Obésité et désordres métaboliques associés.....	72
2. Modifications de la flore intestinale : cause ou conséquence des désordres métaboliques ?.....	73
a. Mise en cause du microbiote intestinal dans le diabète de type 1.....	73
b. Chez l'Homme.....	73
c. Chez la souris.....	75
d. Expériences.....	75
II. Modification du stockage énergétique.....	77
1. Fermentation de glucides non digestibles.....	78
2. LPL.....	81
3. AMPK.....	82
III. Inflammation.....	84
1. Désordres immunitaires.....	84
2. Baisse d'action de l'insuline.....	85
3. Augmentation de la plasticité des tissus adipeux.....	85
4. LPS.....	86
5. Perméabilité intestinale.....	89
a. Protéines de jonctions serrées.....	90
b. GLP-2.....	90
c. Système endocannabinoïde.....	91
d. En résumé.....	92
IV. Synthèse : mécanisme physiopathologique du diabète lié à la flore.....	92
 PARTIE 4 : APPROCHES THERAPEUTIQUES ET HYPOTHESES	94
I. Moyens de modification du microbiote.....	95
1. Probiotiques.....	95
a. Définition.....	95
b. Origine.....	96
c. Où les trouver ?.....	97
2. Prébiotiques.....	98
a. Définition.....	98
b. Où les trouver ?.....	98
3. Transfert de flore.....	99
a. Définition.....	99
b. Origine.....	99
4. Résultats.....	100

a. Avec probiotiques	100
b. Avec prébiotiques	100
c. Avec transfert de flore	101
5. Autres moyens de modification du microbiote	101
a. Antibiotiques.....	101
b. Metformine	102
II. Statut réglementaire.....	104
1. Législation	104
a. Nomenclature, dosage, étiquetage.....	104
b. Aliments fonctionnels	105
c. Prébiotiques et probiotiques	106
d. Transfert de flore	107
2. Effets indésirables.....	108
III. A l'officine.....	111
1. Produits	111
2. Utilisation clinique	118
a. Mécanisme d'action	118
b. Affections gastro-intestinales	119
c. Affections allergiques	122
d. Affections ORL	122
e. Affection gynécologiques.....	122
IV. Discussion.....	124
 Conclusion.....	 130
 Bibliographie.....	 132

Liste des abréviations

A

AGCC : acides gras à chaîne courte
AGL : acides gras libres
AMIR : anomalies microvasculaires intrarétiniennes
AMPK : adenosine monophosphate protein kinase
AOMI : artériopathie oblitérante des membres inférieurs
5-ASA : acide 5-aminosalicylique
ATB : antibiotique
AVC : accident vasculaire cérébral

B

BCE : système endocannabinoïde
BCR : B-cell receptor

C

CB₁ : cannabinoid receptor type 1
CCR2 : C-C chemokine receptor type 2
CD14 : cluster of differentiation 14
CdCl₂ : chlorure de cadmium

D

DFG : débit de filtration glomérulaire
DPP-4 : dipeptidyl peptidase-4

E

ECG : électrocardiogramme

F

FIAF : fasting-induced adipose factor
FOS : fructo-oligosaccharides

G

GIP : glucose-dependent insulintropic polypeptide
GLP : glucagon like peptide
GLUT4 : glucose transporter type 4
GLUT2 : glucose transporter 2
GPR41 : G-protein coupled receptor 41
GPR43 : G-protein coupled receptor 43

H

HbA1c : hémoglobine glyquée
HDL-3 : high density lipoprotein 3
HIF-1 : hypoxia inducible factor

I

ICAM-1 : intracellular adhesion molecule 1

IFN- γ : interféron gamma
IgA : immunoglobuline A
IL : interleukine
IRS : insulin receptor substrate

L

LDL : low density lipoprotein
LPL : lipoprotéine lipase
LPS : lipopolysaccharide

M

MCP-1 : monocyte chemoattractant protein-1
MICI : maladie inflammatoire chronique de l'intestin

N

NF- κ B : nuclear factor-*kappa B*
NOD2 : nucleotide-binding oligomerization domain 2

O

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P

PAI1 : plasminogen activator inhibitor-1
PbCl₂ : chlorure de plomb
PECAM : platelet/endothelial cell adhesion molecule
PKC θ : protéine kinase C thêta
PPAR- γ : peroxisome proliferator activated receptor

R

RAG-1 : recombination-activating protein 2
RCPG : récepteurs couplés aux protéines G
RIP2 : receptor interacting protein 2

T

T-bet : T-box expressed in T-cells
TCR : T-cell receptor
Th1 : T helper 1
TK : tyrosine kinase
TLR : toll-like receptor
TNF- α : tumor necrosis factor alpha

U

UFC : unité formant colonie

Z

ZO-1 : zonula occludens-1

Liste des figures

Figure 1 : les tissus cibles de l'insuline	23
Figure 2 : hypothèse du rôle des AGL dans l'insulinorésistance	27
Figure 3 : impact des anomalies de l'insulinosécrétion et de l'insulinosensibilité dans le DNID	29
Figure 4 :	
a : Schéma simplifié des perturbations physiopathologiques qui conduisent à l'hyperglycémie du DNID.	
b : Schéma simplifié des points d'impact des différentes thérapeutiques à visée hypoglycémisante dans le DNID.....	45
Figure 5 : répartition des différentes espèces bactériennes dans le tube digestif	51
Figure 6 : glande intestinale	54
Figure 7 : évolution de la flore bactérienne fécale au cours de la vie.....	64
Figure 8 : le microbiote intestinal comme cause des désordres métaboliques.....	77
Figure 9 : rôle de GPR43 comme capteur de l'excès d'énergie alimentaire	80
Figure 10 : différentes voies de régulation énergétique	83
Figure 11 : origine de l'inflammation induite par un régime riche en lipides	89
Figure 12 : différents acteurs influant sur la perméabilité intestinale.....	92
Figure 13 : critères de sélection des probiotiques.....	109

Liste des tableaux

Tableau 1 : classification des rétinopathies diabétiques	36
Tableau 2 : classification des néphropathies diabétiques	38
Tableau 3 : fonctions des bactéries commensales de l'intestin	61
Tableau 4 : résumé des dysbioses induites par l'alimentation	67
Tableau 5 : classification des bactéries selon leur pathogénicité	108

Introduction

Le diabète de type 2, ou diabète non-insulinodépendant (DNID), correspond à une augmentation prolongée du taux de sucre dans le sang (hyperglycémie). Depuis plusieurs années, l'incidence de cette maladie est en constante progression, notamment avec l'âge ; elle est diagnostiquée à un âge moyen de 65 ans. Le diabète de type 2 est une pathologie progressive et insidieuse, qui reste longtemps asymptomatique, et qui est généralement découverte fortuitement au cours d'un examen de routine, ou lors de complications. Aujourd'hui, elle touche plusieurs millions de personnes.

Les connaissances actuelles permettent de définir des causes de survenue de la maladie : prédispositions génétiques, âge, mode de vie (sédentarité, surpoids, hypercholestérolémie, hypertension). D'autres facteurs pourraient toutefois avoir un lien avec le DNID, et notamment les modifications de la flore intestinale, sujet auquel nous allons nous intéresser au cours de cette thèse.

La flore intestinale, ou microbiote intestinal, est l'ensemble des micro-organismes qui réside dans notre intestin. Ce dernier, constitué de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon) et du gros intestin (caecum, colon, rectum), joue deux rôles principaux dans la digestion des aliments : l'absorption des nutriments et la protection contre les agressions extérieures. Ces missions sont accomplies par la communauté microbienne très développée résidant dans l'intestin ; c'est la flore la plus importante de l'organisme, avec 10^{14} bactéries. Or, un déséquilibre de cet espace pourrait être à l'origine de nombreuses pathologies, qu'elles soient digestives ou extra-digestives.

Depuis quelques années, des études sont menées afin de mettre en lumière l'implication du microbiote intestinal dans la survenue de ces maladies. Peut-il alors y avoir un lien entre un déséquilibre de la flore intestinale et la survenue d'un diabète de type 2 ? Une nouvelle perspective thérapeutique peut-elle être évoquée dans la prévention et le traitement du diabète ?

Pour répondre à ces questions, une première partie illustrera nos connaissances actuelles sur le diabète non-insulinodépendant, de la physiopathologie aux traitements, en passant par les complications induites par cette pathologie.

Nous décrirons ensuite le microbiote intestinal, la population qui le compose, sa mise en place, ses fonctions ainsi que les facteurs capables de le modifier.

Dans une troisième partie, nous mettrons en évidence les caractéristiques du microbiote pouvant évoquer une relation entre flore intestinale et diabète.

Nous ferons ensuite l'état des lieux des moyens disponibles pour modifier le microbiote et des produits actuellement retrouvés en officine.

Pour finir, nous discuterons des éléments apportés tout au long du manuscrit permettant de justifier la place du microbiote intestinal comme cible thérapeutique dans le diabète de type 2, en émettant des hypothèses sur les éventuels futurs traitements.

PARTIE 1 :
LE DIABETE DE
TYPE 2

I. Généralités

1. Définition

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. Ce défaut en insuline, hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang, est responsable d'une hyperglycémie (élévation prolongée de la concentration de glucose dans le sang). Dans le cas du diabète de type 2, ce phénomène apparaît progressivement et insidieusement.

Avec le temps, des complications peuvent apparaître : atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins [1] [2].

Le diabète de type 2 est défini par :

une glycémie supérieure à 1,26 g/l (7,0 mmol/l) à jeun et vérifiée à deux reprises ;

ou la présence de symptômes du diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement) associée à une glycémie (sur plasma veineux) supérieure ou égale à 2 g/l (11,1 mmol/l) ;

ou une glycémie (sur plasma veineux) supérieure ou égale à 2 g/l (11,1 mmol/l) 2 heures après une charge orale de 75 g de glucose (critères proposés par l'Organisation mondiale de la santé) [3].

2. Epidémiologie

L'incidence du diabète de type 2 augmente de façon globale, et en particulier avec l'âge. La maladie se manifeste généralement après 40 ans et est diagnostiquée à un âge moyen proche de 65 ans. L'incidence est maximale entre 75 et 79 ans avec 20% des hommes et 14% des femmes traités pour cette maladie. Cependant, le diabète de type 2 touche aussi des sujets plus jeunes, y compris des adolescents, voire des enfants.

En 2014, 9% de la population adulte (18 ans et plus) était diabétique. En 2012, le diabète a été la cause directe d'1,5 million de décès, dont plus de 80% se produisent dans des pays à revenu faible ou intermédiaire, mais ce chiffre est largement sous-estimé puisqu'il ne tient pas compte des personnes non traitées ou non diagnostiquées.

Le DNID représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde. Il est en grande partie le résultat d'une surcharge pondérale et de la sédentarité.

La prévalence de la maladie est par ailleurs en augmentation continue depuis plusieurs années, avec une hausse de 5,4% par an entre 2000 et 2011. Cette hausse est liée au vieillissement de la population, à l'augmentation de l'espérance de vie des diabétiques, ou encore à une hygiène de vie plus délétère.

L'OMS prévoit qu'en 2030, le diabète sera la septième cause de décès dans le monde [1] [2].

II. Diagnostic

1. Quand y penser ?

Les symptômes du diabète de type 2 peuvent être les mêmes que ceux du diabète de type 1 mais sont souvent moins marqués. De ce fait, la maladie peut être diagnostiquée plusieurs années après son apparition, une fois les complications déjà présentes.

Circonstances du diagnostic :

- Découverte fortuite :

Compte tenu du caractère asymptomatique, le diagnostic est souvent porté à l'occasion d'un examen de santé pratiqué à titre systématique (recherche de glycosurie dans le cadre de la médecine du travail, glycémie systématique ou chez un sujet à risque).

- Symptomatologie clinique :

Le syndrome cardinal diabétique comprenant une polyuro-polydipsie, une asthénie, un amaigrissement et une hyperphagie, n'apparaît que pour des glycémies nettement supérieures à 3g/l. Elles sont alors responsables d'une forte glycosurie provoquant une polyurie osmotique entraînant à son tour une polydipsie. Il est caractéristique d'une hyperglycémie d'installation rapide, donc du diabète de type 1, mais peut aussi révéler un diabète de type 2. Cette insulino-pénie impose dans tous les cas la mise en route d'une insulinothérapie, qui peut s'avérer transitoire, en particulier si elle est favorisée par un traitement ou une pathologie associée (vasculaire, infectieuse...), permettant une réévaluation de la stratégie thérapeutique à distance de ce facteur de décompensation.

- Hypoglycémies réactionnelles :

L'insulinosécrétion retardée et inadéquate par rapport au stimulus glucidique peut favoriser l'apparition d'hypoglycémies réactionnelles survenant 3 à 4 heures après la prise d'un repas. Ce type d'hypoglycémie survient le plus souvent durant la période d'hyperglycémie modérée ou d'intolérance au glucose. Ces manifestations sont cependant rares lorsque le diabète s'est installé.

- Complications :

Trop souvent, c'est une complication « dégénérative » qui conduit au diagnostic : plaie du pied, baisse de l'acuité visuelle, accident cardiovasculaire... Des complications infectieuses récidivantes ou sévères peuvent également révéler l'existence d'un diabète (infections urinaires, génitales, dentaires). A l'inverse, des épisodes cardio-vasculaires ou infectieux aigus sont susceptibles d'entraîner des troubles de glycorégulation transitoires qui n'existaient pas auparavant.

L'interprétation d'une hyperglycémie concomitante d'un tel épisode aigu peut donc parfois s'avérer difficile.

2. Comment l'affirmer ?

Le test recommandé pour le dépistage est le test de la glycémie sur sang veineux à jeun, effectué au laboratoire. Il se caractérise par sa fiabilité, sa reproductibilité, sa

facilité de réalisation et son coût modéré. Ce test est particulièrement adapté au dépistage opportuniste et offre la possibilité d'être associé à un bilan lipidique.

Le test de la glycémie capillaire (sur goutte de sang) peut être utile pour orienter le dépistage, par exemple en médecine du travail. Cependant, il représente surtout un outil quotidien de surveillance de l'équilibre et d'aide à l'adaptation du traitement pour les patients.

L'hyperglycémie provoquée par voie orale (charge en glucose) est une méthode standardisée qui étudie l'évolution de la glycémie après l'absorption, en moins de 5 minutes, de 75 grammes de glucose, dissous dans 200 à 300 ml d'eau. La glycémie veineuse est mesurée à jeun, puis deux heures après la charge en glucose. Ce test est peu reproductible, onéreux et contraignant pour les patients ; il n'est plus recommandé ni nécessaire.

Le dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) est utile pour définir les seuils et les objectifs thérapeutiques ; c'est le meilleur paramètre de prédiction des complications du diabète. Cependant, il n'est pas recommandé comme test de dépistage en France en raison d'un manque de sensibilité [4] [5].

III. Physiopathologie

1. Régulation de la glycémie chez un individu sain

Après un repas, une réponse hormonale complexe se déclenche, dont le but est notamment de réduire les variations de la glycémie grâce à une stimulation appropriée du captage de glucose au niveau hépatique, musculaire et adipeux. L'activité insulinosécrétoire des cellules β du pancréas joue un rôle majeur dans cette réponse. Bien que l'augmentation du glucose sanguin soit le stimulus principal de l'insulinosécrétion, des hormones intestinales, libérées par des cellules endocrines de l'épithélium intestinal lors du passage de nutriments, jouent un rôle important de potentialisation de l'effet du glucose sur les cellules β pancréatiques. Ces hormones, les gluco-incrélines, sont principalement le GLP-1 (glucagon like peptide-1) et le GIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide) [6].

L'insuline sécrétée ira ensuite se lier sur un récepteur membranaire spécifique au niveau des cellules musculaires, des adipocytes et des hépatocytes, entraînant divers effets : stimulation du transport du glucose, lipogénèse (foie et tissu adipeux), glycogénogénèse et glycolyse (muscles et foie).

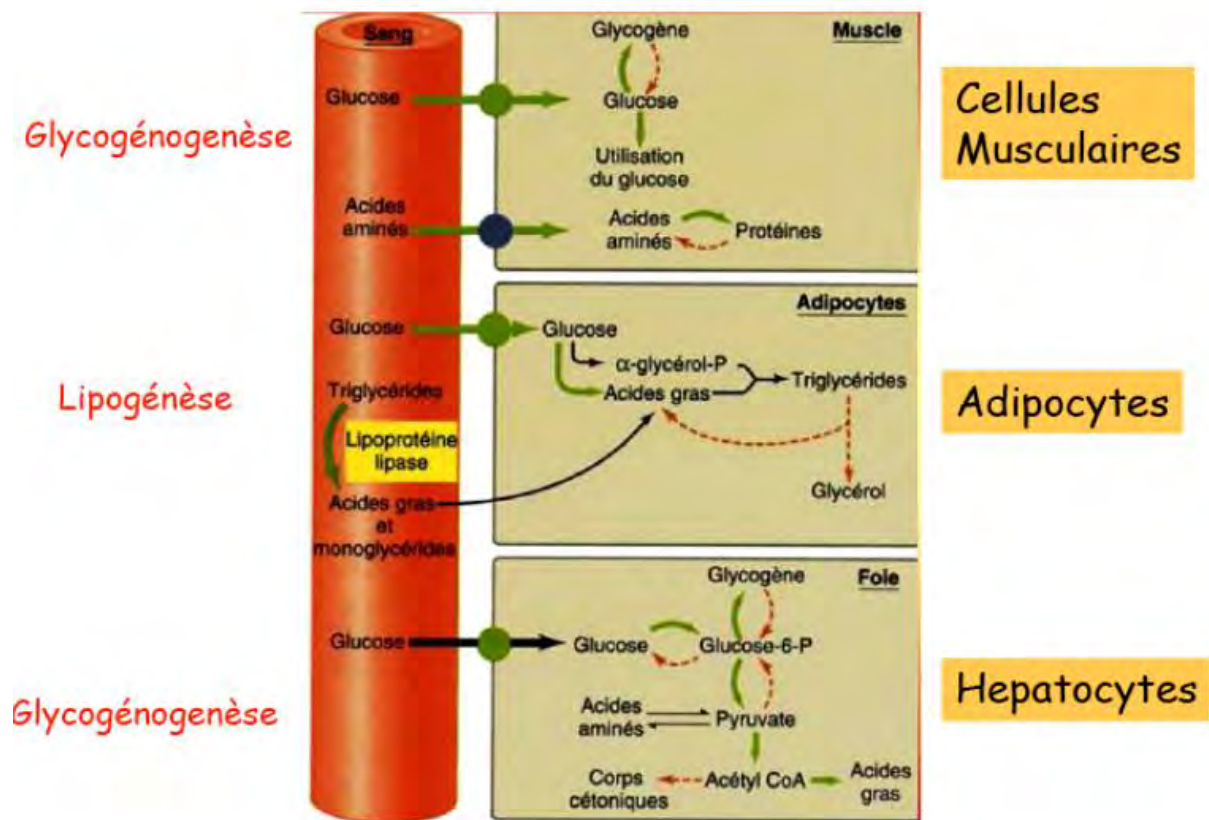


Figure 1 : les tissus cibles de l'insuline [7]

2. Insulinorésistance

Une des causes du développement du diabète est l'insulinorésistance, définie par une diminution de la réponse cellulaire et tissulaire à l'insuline.

Il est maintenant reconnu que l'insulinorésistance tissulaire dépend en partie de la présence de lipides déposés de manière anormale au sein des tissus cibles. En effet, habituellement, les adipocytes stockent les lipides disponibles ; au cours de l'insulinorésistance, on observe au contraire une accumulation des lipides hors des adipocytes, directement dans les tissus cibles de l'insuline ; ce sont les acides gras libres (AGL), qui auraient pour origine le tissu adipeux abdominal.

La répartition viscérale, sous-cutanée et particulièrement abdominale des graisses est un des facteurs cliniques de l'insulinorésistance. On distingue trois types de tissus adipeux de topographie différente :

- le tissu adipeux gynoïde (de type féminin) qui prédomine à la partie inférieure du corps, au niveau des cuisses et des fesses ;
- le tissu adipeux androïde sous-cutané ;
- Le tissu adipeux androïde viscéral (de type masculin), qui se localise à la partie supérieure du corps. Il est caractérisé par une hypertrophie adipocytaire et une sensibilité lipolytique importante.

La répartition abdominale des graisses est appréciée grossièrement par le rapport du périmètre de la ceinture (mesurée au niveau de l'ombilic) sur le périmètre des hanches (mesuré au niveau des trochanters) ; c'est ce que l'on appelle le rapport taille sur hanche. Une répartition androïde des graisses est définie par un rapport taille sur hanche supérieur à 0,8 chez la femme et supérieur à 1 chez l'homme. Cette répartition androïde comporte un risque d'apparition de diabète multiplié par 3 à 6 en comparaison à une population de poids identique avec une répartition des graisses différente [8].

La répartition topographique du tissu adipeux et la variation typologique du tissu musculaire dépendraient de facteurs hormonaux et environnementaux : le stress, l'alcool ou le tabagisme favoriseraient la topographie androïde [9].

Il a été rapidement montré que le tissu adipeux cutané est très stable et relargue difficilement son contenu en lipides dans la circulation par lipolyse. A l'inverse, le tissu adipeux intra-abdominal a des capacités lipolytiques intenses lui permettant de relarguer son contenu lipidique sous forme d'AGL. L'augmentation de la concentration des AGL circulants va favoriser leur dépôt dans différents organes tels que le pancréas, le foie, les muscles et le cœur.

Ce flux dérégulé d'acides gras est stocké en partie dans le foie et conduit à la stéatose hépatique non alcoolique. L'excédent non stocké dans le foie gagne la circulation générale sous forme de triglycérides et est à la base de l'hypertriglycéridémie observée dans les populations diabétiques de type 2 et insulinorésistantes.

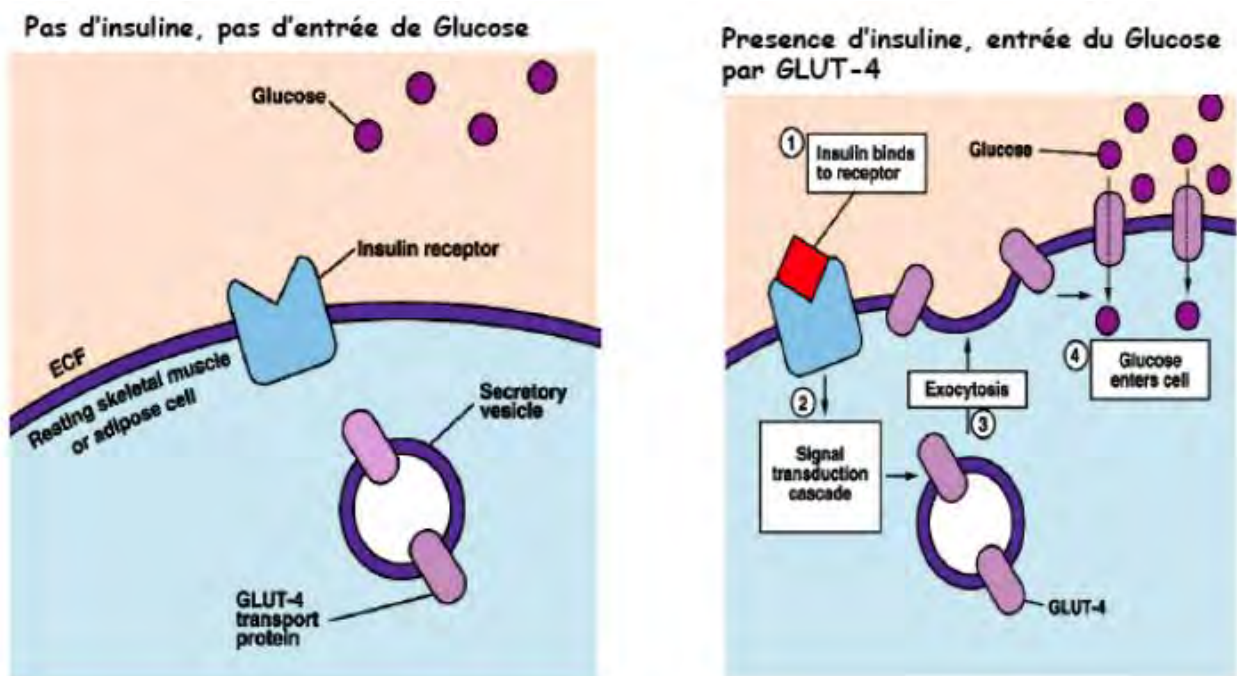
Au niveau musculaire, il existe une véritable compétition entre les AGL et le glucose pour être oxydés : les AGL sont oxydés en priorité, entraînant une production accrue

d'acétyl CoA qui inhibe en retour les enzymes de la glycolyse. L'énergie musculaire est donc fournie en priorité par l'oxydation des AGL et la transformation de glucose en glycogène n'est pas stimulée.

Au sein des tissus, les lipides ectopiques en excès vont progressivement favoriser la synthèse de composés capables d'inhiber la transmission du signal insulinique intracellulaire. Cela participe directement au développement de l'insulinorésistance [8].

Insulinorésistance périphérique :

L'action de l'insuline sur les tissus périphériques, en particulier le muscle, succède à la liaison de l'insuline à la membrane cellulaire par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique.



GLUT4 est un transporteur de glucose stocké dans des vésicules cytoplasmiques. L'insuline induit la migration des vésicules et l'insertion de GLUT4 dans la membrane des cellules adipeuses et musculaires ; c'est la translocation du transporteur [7].

La résistance à l'insuline combine deux types d'anomalies :

- déficit du transport du glucose : au cours du DNID, le nombre total de transporteurs GLUT4 (cytoplasme plus membranes) est normal mais le phénomène de translocation serait altéré.

- atteinte du nombre ou de l'affinité des récepteurs à l'insuline : l'action de l'insuline sur ses tissus cibles est médiée par un récepteur hétérotétramérique composé de deux sous-unités α extracellulaires qui lient l'insuline et de deux sous-unités β qui possèdent une activité tyrosine kinase (TK) intracellulaire.

La liaison de l'insuline à son récepteur entraîne l'autophosphorylation de la sous-unité β du récepteur sur un certain nombre de tyrosines. Cette autophosphorylation stimule l'activité TK du récepteur envers des substrats cellulaires dont le rôle est de transmettre le signal « insuline » à l'intérieur de la cellule. Ceci conduit aux effets biologiques de l'hormone [11].

L'implication du récepteur insulinique dans l'insulinorésistance a été mise en évidence à plusieurs occasions :

- Une insulinorésistance congénitale reliée à une mutation affectant la géométrie du site de liaison insuline/récepteur.

- Le vieillissement de l'organisme qui peut se traduire par une efficacité diminuée du récepteur activé.

- L'hyperglycémie souvent associée à l'hyperinsulinémie qui exacerbe la régulation négative du nombre de récepteur. Ceux-ci n'étant quasiment plus recyclés, la cellule originellement insulinosensible cesse d'être une cellule cible [12].

Comment l'augmentation des AGL plasmatiques inhibe le transport de glucose ?

- Par un effet direct sur le transporteur GLUT-4, par exemple des changements induits par les AGL dans la synthèse, le trafic vésiculaire, ou la fusion de GLUT-4.

- L'augmentation des AGL peut affecter indirectement GLUT-4 en modifiant la signalisation de l'insuline en amont. Afin d'examiner cette hypothèse, des chercheurs ont étudié l'impact de l'augmentation des AGL sur la phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-kinase), une composante importante de la cascade de signalisation de l'insuline impliquée dans la régulation de la translocation de GLUT-4. Ils ont constaté que l'augmentation de l'activité PI 3-kinase observée en réponse à la stimulation de l'insuline chez les sujets témoins a été pratiquement abolie chez les individus ayant

une augmentation des AGL. Néanmoins, on ne sait pas si les AGL plasmatiques élevés inhibent la PI 3-kinase directement ou en modifiant d'autres composants de la voie de signalisation de l'insuline. Des expériences ultérieures ont montré que des concentrations élevées en AGL peuvent affecter plusieurs protéines en amont de la voie, y compris le substrat du récepteur à l'insuline 1 (IRS-1) et la protéine kinase C θ . Chez les rats perfusés avec des lipides dans des conditions euglycémique hyperinsulinémique, une diminution de 50% de l'activité PI 3-kinase a été observée par rapport aux rats témoins. Chez ces animaux, la phosphorylation de l'IRS-1 a diminué et les concentrations de PKC θ lié à la membrane ont augmenté par rapport aux témoins. Ces résultats suggèrent que l'augmentation des AGL peut induire une résistance à l'insuline dans le muscle squelettique en activant PKC θ . Il est proposé que la diminution de la phosphorylation de l'IRS-1 inhibe l'activité de la PI 3-kinase et diminue la translocation de GLUT-4, aboutissant à une réduction du transport du glucose.

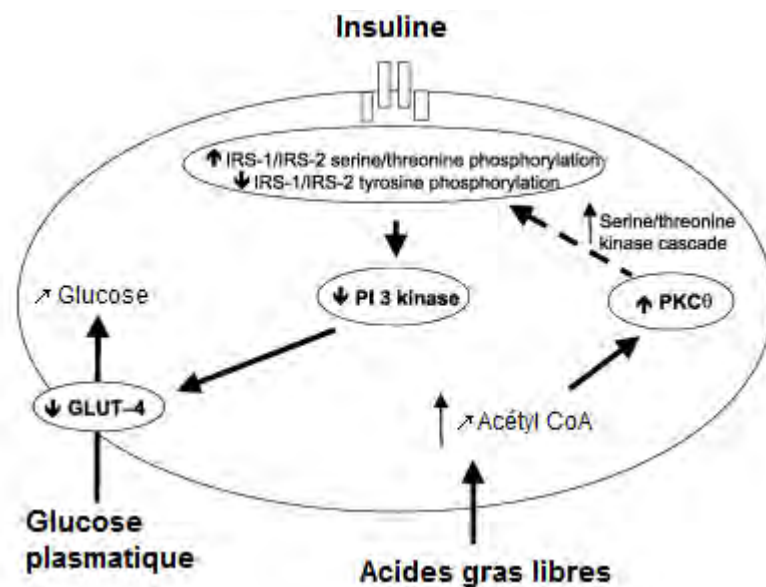
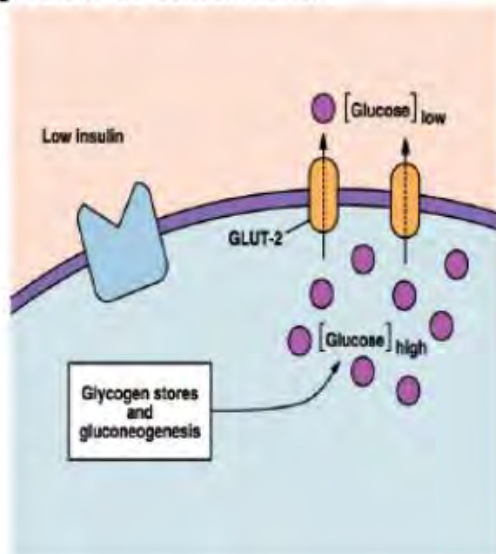


Figure 2 : hypothèse du rôle des AGL dans l'insulinorésistance [13]

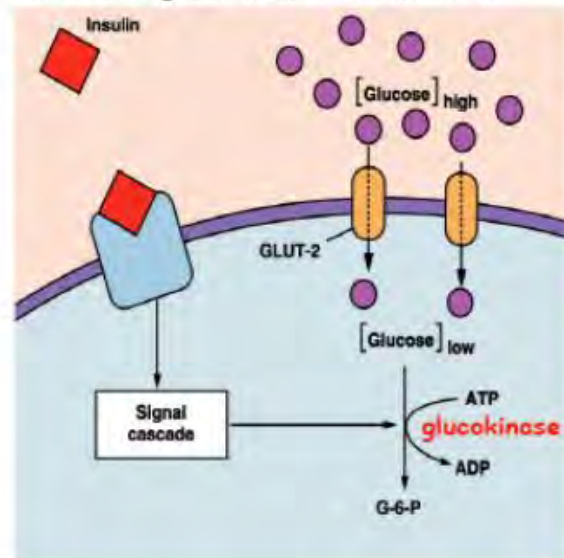
L'insulinorésistance périphérique induit un déficit de captation du glucose par les tissus insulindépendants et tient donc un rôle important dans le développement de l'hyperglycémie postprandiale [5].

Insulinorésistance hépatique :

Pas d'insuline, sortie du Glucose selon gradient de concentration



Insuline diminue la [glucose] intracell. et inverse le gradient de concentration



L'insuline stimule la glucokinase pour induire l'absorption du glucose dans les hépatocytes. Le glucose est transporté par GLUT2 vers l'intérieur de l'hépatocyte [7].

Au niveau hépatique, le flux d'AGL libéré par le tissu adipeux viscéral favorise la synthèse hépatique de triglycérides et stimule la néoglucogenèse hépatique.

La production hépatique de glucose joue un rôle primordial dans l'élévation de la glycémie à jeun.

En résumé, le stockage et l'utilisation du glucose sont diminués au niveau musculaire alors qu'au niveau hépatique il y a stimulation de la néoglucogenèse ; tout ceci concourt à faire augmenter la glycémie [9].

3. Altération de la sécrétion d'insuline

Pour répondre à la demande accrue en insuline qui en découle, les cellules insulino-sécrétrices du pancréas produisent davantage d'insuline (hyperinsulinisme) jusqu'à ce qu'elles ne puissent plus répondre ou finissent par s'épuiser. La production d'insuline devient alors insuffisante, conduisant à une accumulation de glucose dans le sang (hyperglycémie), responsable de complications [1].

Ce défaut de sécrétion d'insuline est aussi fortement corrélé au surpoids abdominal. En effet, l'obésité, appréciée par l'indice de masse corporelle (poids en kilos sur carré de la taille en mètre), et définie par un index supérieur à 30, est un facteur de risque évident de développement du diabète de type 2. Ainsi, on considère qu'une obésité modérée multiplie le risque d'apparition d'un DNID par un facteur 2, une obésité moyenne par un facteur 5 et une obésité sévère par un facteur 10 [8].

Des études ont démontré que les acides gras intervenaient dans la régulation de la sécrétion d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans. Les acides gras sont des substrats énergétiques majeurs de la cellule β ; ils stimulent l'insulinosécrétion en présence de concentrations normales ou élevées de glucose sanguin.

Ainsi, les AGL contrôlent l'expression d'un certain nombre de gènes ; cependant, lorsqu'ils sont chroniquement présents en excès dans la cellule, ils entraînent une inhibition de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose ainsi qu'une lipotoxicité qui conduit à la destruction des cellules β par apoptose.

Les cellules β réagissent tout d'abord à l'accroissement de leur teneur en triglycérides en se multipliant activement, ce qui augmente transitoirement la production d'insuline. Lorsque le stock lipidique de l'îlot a dépassé de 50 fois sa valeur normale, les cellules β entrent en apoptose et un diabète peut en résulter [14].

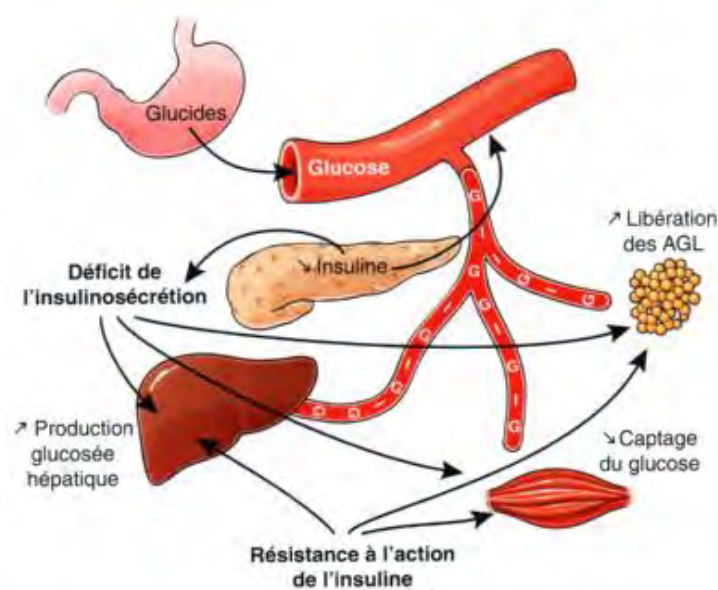


Figure 3 : impact des anomalies de l'insulinosécrétion et de l'insulinosensibilité dans le DNID [10]

4. Autres mécanismes

a. Prédispositions génétiques

Il existe une prédisposition génétique au diabète de type 2. L'analyse de vastes cohortes de patients a permis d'identifier des gènes associés à un risque accru de développer la maladie. La plupart d'entre eux sont impliqués dans le fonctionnement des cellules β pancréatiques. Mais ces gènes sont très hétérogènes, et aucun d'entre eux ne permet de prédire l'apparition de la maladie.

La composante génétique ne saurait donc expliquer à elle seule la survenue d'un diabète de type 2, ni l'augmentation spectaculaire de son incidence. L'apparition de la maladie semble davantage corrélée à l'âge et à l'interaction entre le génome et les conditions de vie [1].

b. Inflammation

Le tissu adipeux viscéral en excès est également caractérisé par une infiltration macrophagique. Ces macrophages sécrètent localement des médiateurs de l'inflammation comme l'interleukine-6 (IL-6) et le TNF- α ¹, qui participent eux-mêmes au développement de l'insulinorésistance, car réduisent la signalisation insulinique au niveau des tissus périphériques après avoir diffusé via la circulation sanguine. De plus, ces cytokines altèrent les sécrétions hormonales physiologiques de l'adipocyte comme la sécrétion d'adiponectine, une hormone adipocytaire qui augmente la sensibilité des tissus à l'insuline.

Des anti-inflammatoires modifiés sont en cours de développement pour tester leur éventuelle efficacité dans le traitement des patients diabétiques de type 2.

c. Profil lipidique particulier

L'insulinorésistance provoque une dyslipidémie qualitative ; elle est corrélée à l'augmentation des LDL petites et denses (très athérogènes) et à une diminution des HDL-3 qui perdent leurs propriétés anti-oxydantes, ainsi qu'à une hyperlipidémie postprandiale.

¹ tumor necrosis factor alpha

La diminution du taux de HDL-cholestérol s'explique à la fois par un catabolisme accru du HDL et par une réduction de synthèse des particules pré-HDL (qui vont capter le cholestérol tissulaire afin de participer à son recyclage hépatique et à son élimination). Ces deux anomalies sont favorisées par l'insulinorésistance.

Pour le LDL-cholestérol, un taux considéré comme normal n'est pas forcément protecteur dans un contexte d'insulinorésistance ; en effet, dans ce contexte pathologique, ces particules subissent une étape supplémentaire dans leur circuit aboutissant à la formation de particules plus petites et plus athérogènes que les particules classiques de LDL cholestérol.

Enfin, les sujets insulinorésistants ont une production hépatique élevée de triglycérides dans un contexte de stéatose hépatique, expliquant la grande fréquence du profil hypertriglycéridémie-HDL bas observé dans cette population [8].

d. Flore intestinale

D'autres équipes s'intéressent à la modification de la flore intestinale, qui s'avère particulière chez les sujets atteints de DNID. Des travaux ont montré que sa composition change avec un régime gras, et que le système nerveux entérique (localisé au niveau du tube digestif) joue un rôle dans la régulation du métabolisme. C'est ce point que nous développerons plus précisément dans les parties suivantes ; nous verrons ainsi que la variation du microbiote intestinal peut être responsable de l'apparition d'une inflammation favorisant l'insulinorésistance et le développement du tissu adipeux [1].

IV. Complications

Une hyperglycémie prolongée entraîne des complications graves à long terme. Elle est d'autant plus insidieuse qu'elle est le plus souvent asymptomatique. Ces complications peuvent survenir après plusieurs années de déséquilibre glycémique (souvent après 10 à 20 ans).

1. Macroangiopathies

La macroangiopathie est définie comme l'atteinte des artères de moyen et gros calibre. Elle regroupe les atteintes des artères coronaires, des artères à destinée cervicale et des artères des membres inférieurs. Elle représente la principale cause de mortalité dans le diabète, qu'il s'agisse du diabète de type 1 ou 2.

On distingue deux grands types de lésions :

- l'athérosclérose : remaniement de l'intima et de la média des grosses et moyennes artères par l'accumulation de lipides, glucides complexes, produits sanguins, tissu fibreux et calcium. Par la suite, ces dépôts peuvent se calcifier jusqu'à boucher totalement l'artère. L'athérosclérose est le plus souvent généralisée à tout l'organisme, affectant plusieurs artères : artères coronaires, carotidiennes, digestives, rénales ou artères des membres inférieurs.

- la médiocalcose : calcification de la média et de la limitante élastique interne des artères de moyen et petit calibre.

Ces lésions ne sont pas spécifiques de la maladie diabétique, mais surviennent plus tôt et avec une fréquence accrue chez les patients en hyperglycémie chronique.

a. AVC

Les accidents vasculaires cérébraux sont plus fréquents chez les diabétiques et favorisés par la coexistence d'une hypertension artérielle. Ils sont responsables d'une lourde mortalité puisque 20% des diabétiques meurent des suites d'un AVC.

L'auscultation des artères à destinée céphalique doit faire partie de l'examen clinique complet du diabétique. Une surveillance par échographie-doppler est mise en place devant l'apparition d'une anomalie clinique.

Comme dans le cas de l'infarctus du myocarde, un accident vasculaire cérébral peut révéler un diabète, mais il convient de se méfier des troubles de la glycorégulation transitoires induits par un accident aigu. A l'inverse, ce type d'accident peut induire une décompensation acido-cétosique chez un diabétique connu ou non.

Certains accidents vasculaires sont iatrogènes, liés par exemple à une hypoglycémie. Les sulfamides hypoglycémiantes doivent être prescrits avec précautions chez les personnes de plus de 70 ans (et contre-indiqués en cas

d'insuffisance rénale), du fait des hypoglycémies sévères et prolongées qu'ils induisent ; un certain nombre d'AVC ont fait suite à ces hypoglycémies. Les hypoglycémies induites par l'insuline sont, en général, plus brèves et moins délétères [5].

b. Ischémie myocardique

Elle se définit comme une anomalie cardiaque, à l'origine d'un déséquilibre entre les apports et les besoins en oxygène du cœur. L'athérosclérose est responsable de l'accumulation de dépôts lipidiques et fibreux dans les artères coronaires qui sont alors rétrécies ; le sang ne peut donc plus circuler correctement dans les vaisseaux. Cette ischémie peut être silencieuse et transitoire, observée à l'occasion d'un stress chez un sujet dont l'ECG de repos est strictement normal. Le patient diabétique n'en ressent pas toujours les signes du fait d'une autre complication du diabète, la neuropathie, qui détruit une partie de certains nerfs, entraînant une diminution voire une absence totale de la sensation de douleur dans la zone innervée par ces nerfs : dans ce cas, les nerfs cardiaques.

Elle est plus fréquente chez le diabétique que chez le non diabétique et sa prévalence est élevée quand d'autres facteurs de risque cardiovasculaires sont associés au diabète. Elle toucherait 10 à 30% des diabétiques de type 2 selon les séries et les méthodes utilisées pour la dépister. Elle est associée au risque de survenue d'un accident cardiovasculaire majeur.

Les infarctus du myocarde sont plus fréquents chez les diabétiques, mais aussi plus graves. Le diabète est responsable d'une surmortalité d'origine cardio-vasculaire quelle que soit la population étudiée, aussi bien chez les hommes que chez les femmes, et 65 à 80% des patients diabétiques meurent d'une pathologie cardio-vasculaire. On estime que les maladies cardio-vasculaires sont responsables d'une diminution de l'espérance de vie de 8 ans pour les patients entre 55 et 64 ans. Le diabète fait aussi disparaître la relative protection qu'ont les femmes avant la ménopause vis à vis du risque coronarien [5].

c. Artérite des membres inférieurs

L'artérite des membres inférieurs ou artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI) regroupe les maladies qui se déclenchent lorsque l'approvisionnement en sang des muscles des membres inférieurs est bloqué ou interrompu. La cause la plus courante est l'athérosclérose, le dépôt de matière grasse (plaque d'athérome) dans les artères des membres inférieurs, qui provoque le blocage progressif de la circulation du sang [15].

Localisation classique de la macroangiopathie diabétique, l'AOMI est fréquente, mais son caractère souvent silencieux et son évolution imprévisible expliquent le retard trop fréquemment constaté de la prise en charge [16].

Si les signes cliniques classiques de l'artériopathie n'ont rien de spécifique chez le patient diabétique, elle n'est en revanche que très rarement isolée, et s'associe souvent à la neuropathie et à l'infection, pour aboutir à l'entité du « pied diabétique ». Les explorations vasculaires sont toujours pratiquées en première intention, mais un bilan exhaustif inclut le plus souvent une angiographie des membres inférieurs, dont la réalisation est parfois délicate chez ces patients fragiles. La prise en charge doit toujours commencer par apprécier la part de l'infection et la traiter. Dans un deuxième temps peuvent s'envisager des moyens de restauration artérielle, que ce soit par angioplastie ou par pontages, mais ils ne permettent pas toujours d'éviter des gestes d'amputation.

Par ailleurs, outre le déséquilibre glycémique, le tabagisme est un facteur de risque important pour cette affection.

La palpation des pouls distaux, l'auscultation des axes vasculaires et l'examen minutieux des pieds doivent être systématiques chez les diabétiques. En effet, les patients sont souvent asymptomatiques : moins de 50% des diabétiques ont une claudication intermittente. Le diagnostic d'AOMI repose sur la perte d'au moins deux pouls distaux dont au moins un tibial postérieur.

Un « pied artéritique » est un pied froid, dépilé dont la peau est fine et luisante. Les pouls distaux ne sont alors en général pas perçus [5].

d. Prévention

Une meilleure prise en charge des différents facteurs de risque (contrôler la pression artérielle, réduire la surcharge pondérale, accroître l'activité physique, réduire les boissons alcoolisées, stopper l'intoxication tabagique...) diminuerait le risque de complications et la mortalité.

2. Microangiopathies

On regroupe sous ce terme les complications spécifiques du diabète que sont : la rétinopathie, la glomérulopathie, la neuropathie diabétiques.

a. Rétinopathie

La rétinopathie diabétique est une cause importante de cécité et survient à la suite de lésions des petits vaisseaux sanguins de la rétine qui s'accumulent avec le temps. 1% de la cécité dans le monde peut être attribué au diabète [2].

La survenue d'une rétinopathie est corrélée à la durée du diabète et au degré d'équilibre glycémique. La rétinopathie menace donc les patients diabétiques après quelques années d'hyperglycémie mal maîtrisée. Inversement, plusieurs articles ont prouvé qu'un excellent contrôle glycémique prévient ou retarde la rétinopathie. Maintenir à long terme un taux correct d'HbA1C (inférieure à 6,5%) mettrait donc le patient à l'abri des complications micro-vasculaires dont fait partie la rétinopathie.

L'hypertension artérielle est un facteur aggravant majeur de la rétinopathie diabétique. Inversement, le glaucome primitif et la myopie sévère sont des facteurs protecteurs reconnus.

La rétinopathie diabétique se développe à bas bruit, sans que le malade ne perçoive pendant longtemps aucun symptôme. La baisse de l'acuité visuelle témoigne donc de lésions très avancées. Il est essentiel que tout patient diabétique reçoive une éducation sur la nécessité d'effectuer un dépistage des lésions rétinienne par un examen systématique annuel du fond d'œil.

Dans le cas du DNID, le diagnostic étant fréquemment fait avec plusieurs années de retard, l'examen du fond d'œil permet de découvrir, dans environ 20% des cas, des lésions préexistantes justifiant une angiographie rétinienne [9].

Stade	Lésions	Vision altérée	Traitements
Non proliférante	Dilatation capillaire Microanévrismes Exsudats Hémorragies Rares AMIR ²	Non	Normalisation glycémique Contrôle tensionnel
Préproliférante, minime, modérée ou sévère, et proliférante	Zones d'ischémies nombreuses Hémorragies rétinienne en tâche ou AMIR Néovaisseaux	Possible	Contrôle tensionnel Panphotocoagulation au laser Normalisation glycémique prudente
Proliférante compliquée	Hémorragie du vitré Détachement de rétine	Oui	Normalisation glycémique Contrôle tensionnel Panphotocoagulation au laser Chirurgie
Maculopathie minime, modérée ou sévère	Œdème maculaire	Oui	Normalisation glycémique Contrôle tensionnel Photocoagulation au laser

Tableau 1 : classification des rétinopathies diabétiques [17]

b. Néphropathie

Il s'agit de la première cause de mise en dialyse dans les pays développés et sa proportion progresse (25 à 50%) par augmentation de la prévalence du diabète de type 2. Or, les patients diabétiques dialysés chroniques ont un risque de décès vasculaire deux fois plus important que les dialysés non diabétiques, et cent fois plus important que la population générale. La mortalité est supérieure à 25% dans les deux ans qui suivent la mise en dialyse chez les diabétiques.

² Anomalies microvasculaires intrarétiniennes

Les altérations rénales secondaires au diabète sont d'origine plurifactorielle :

- Altérations hémodynamiques

L'hémodynamique rénale semble jouer un rôle important dans la progression de la néphropathie diabétique et pourrait même contribuer à son déclenchement. Deux éléments contribuant à l'hyperfiltration glomérulaire sont à distinguer :

- l'augmentation primitive ou secondaire de la pression artérielle systémique joue le rôle de cofacteur fondamental dans la progression de la néphropathie diabétique. Elle peut être d'abord une hypertension essentielle, indépendante du diabète, au stade initial de la néphropathie diabétique. Ensuite, elle est présente de façon constante à partir du stade de protéinurie. La pression sanguine artérielle semble toujours légèrement élevée, même à des stades précoces de la néphropathie diabétique. Il paraît donc indispensable de détecter précocement et de contrôler une pression artérielle élevée chez un patient diabétique.

- les modifications de la microcirculation intra-rénale que sont l'augmentation des débits capillaires et l'élévation de la pression de filtration intra-glomérulaire. Une augmentation du débit de filtration glomérulaire (DFG) de base chez un sujet donné au dessus de son DFG normal théorique (déterminé en fonction de l'âge et de la surface corporelle), définit l'hyperfiltration glomérulaire. L'hyperfiltration glomérulaire est susceptible d'entraîner, par elle même, une altération de la fonction rénale. On peut assimiler l'hyperfiltration à une « congestion glomérulaire » préluant à la glomérulosclérose.

- Altération fonctionnelle : augmentation de l'excrétion urinaire d'albumine (EUA)

Elle est considérée depuis plusieurs années comme un marqueur prédictif d'évolution vers la néphropathie diabétique.

Plusieurs études ont établi sa valeur comme indicateur spécifique et ont permis la généralisation de son utilisation comme test de dépistage de la néphropathie diabétique.

Il existe un consensus pour la définition d'une valeur seuil caractérisant une microalbuminurie permanente : une excrétion urinaire d'albumine comprise entre 30 et 300 mg/24 h, ou entre 20 et 200 mg/min ou entre 20 et 200 mg/l, présente lors d'au moins deux dosages sur trois réalisés au cours d'une période de 1 à 6 mois.

Dans le DNID, une microalbuminurie positive signe, outre le risque rénal (moins spécifique que dans le diabète de type 1), un risque de pathologie cardiovasculaire sous-jacent et doit motiver la réalisation, même en l'absence de signes fonctionnels, d'une exploration dynamique de la réserve coronarienne (ex : ECG d'effort sur tapis roulant...).

L'augmentation du risque relatif sur le plan des maladies cardiovasculaires est significative pour une valeur de la microalbuminurie supérieure ou égale à 15 mg/24h [5].

	Stade 1	Stade 2	Stade 3	Stade 4	Stade 5
	Hypertrophie rénale, hyperfiltration glomérulaire	Phase silencieuse	Néphropathie incipiens	Néphropathie	Insuffisance rénale
Années après le diagnostic	1	2 à 6	7 à 15	15 à 20	20 à 30
Albuminurie	Normale	Normale	Microalbuminurie (30-300 mg/j ou 20-200 mg/L)	Protéinurie (albuminurie > 300 mg/j ou 200 mg/L)	Protéinurie massive à faible lorsque la fonction rénale est profondément altérée
Pression artérielle	Normale	Normale	Peut être discrètement augmentée	Souvent élevée	Souvent élevée
Filtration glomérulaire	Elevée (de l'ordre de + 20%)	Elevée à normale	Normale ou discrètement abaissée	Baisse de 10 mL/min/an en l'absence de traitement	Basse à effondrée

Tableau 2 : classification des néphropathies diabétiques [17]

c. Neuropathie

La neuropathie diabétique est définie par l'atteinte du système nerveux périphérique (neuropathie périphérique) et du système nerveux végétatif (neuropathie végétative, neuropathie autonome ou dysautonomie).

- Neuropathie périphérique

La neuropathie périphérique prédomine au niveau des membres inférieurs en raison de la plus grande fragilité des fibres longues sensibles peu myélinisées. La polynévrite diabétique est une des formes cliniques les plus fréquentes et doit systématiquement être recherchée car elle joue un rôle majeur dans l'apparition des lésions des pieds. On peut la reconnaître par la présence de paresthésies, d'allodynies ou de dysesthésies mais les signes sont cependant très polymorphes, allant de simples fourmillements à une sensation de pied chaud ou froid jusqu'à des douleurs importantes à type d'écrasement, de broiement, de brûlure ou de sensations de décharges électriques. Les douleurs peuvent être continues, mais le caractère nocturne des douleurs à type de crampes est très évocateur, réveillant le patient et calmées par la position debout et la marche.

- Neuropathie végétative

Elle touche de nombreux systèmes et organes et entraîne le plus souvent chez le patient diabétique un handicap lourd dans sa vie quotidienne et sociale.

- Manifestations urogénitales

Elles sont caractérisées principalement par une vessie neuropathique, définie par une perte de la sensation de plénitude vésicale, une diminution de la perception du besoin d'uriner avec rétention urinaire et miction par rengorgement. La vessie est augmentée de volume, dilatée, avec des risques de retentissement sur les voies urinaires hautes à type de reflux vésico-urétral. La stase vésicale favorise l'apparition d'infections urinaires itératives vésicales, puis rénales en raison des reflux.

Le diagnostic de neuropathie vésicale doit être évoqué devant l'augmentation de la fréquence des infections urinaires. Il peut être confirmé par la réalisation d'une échographie vésicale avec recherche d'un résidu post-mictionnel.

En outre, les troubles de la fonction érectile sont fréquents chez le patient diabétique (prévalence de 30 à 50%). Le mécanisme étiologique est complexe et très souvent multifactoriel associant : neuropathie autonome, artériopathie, participation psychogène et iatrogène (bétabloquants). Cette complication du diabète est souvent négligée et sous évaluée. Un nombre important de patient n'aborde pas ce sujet en consultation mais celui-ci est responsable d'un retentissement psychologique important [5].

Une éjaculation rétrograde peut aussi être observée, provoquant une anéjaculation alors que l'orgasme est normal. C'est une cause d'infertilité [8].

➤ Manifestations digestives

Elles sont marquées principalement par :

- la gastroparésie, avec ralentissement du péristaltisme, dilatation gastrique et stase du bol alimentaire. Les conséquences cliniques sont des vomissements et une intolérance alimentaire, associés à des perturbations de l'équilibre glycémique par ralentissement de l'absorption des glucides.

- L'entéropathie diabétique est caractérisée par la présence de diarrhées nocturnes de type motrice ou au contraire de constipation opiniâtre par atonie colique.

➤ Manifestations cardiovasculaires et sudorales

La neuropathie autonome cardiaque est liée en premier lieu à l'atteinte du système parasympathique. L'atteinte orthosympathique est plus tardive et correspond à un grade plus sévère associé à l'apparition des symptômes les plus invalidants.

Le déficit parasympathique peut être responsable d'une tachycardie sinusale permanente avec perte de l'adaptation de la fréquence cardiaque à l'effort et, beaucoup plus rarement, d'un risque de syncope ou de mort subite.

Le déficit orthosympathique induit souvent une hypotension orthostatique et une asthénie marquée [5].

Les troubles vasomoteurs vont de la sympathicotomie avec peau glacée couverte de sueur pouvant faire croire à une artérite des membres inférieurs à la sympathicoplégie avec, à l'inverse, peau rosée, chaude, sèche et parfois pouls « bondissant ».

L'atteinte sudorale est classique et fréquente, caractérisée par une absence de sudation au niveau des membres inférieurs, contrastant avec des épisodes d'hypersudation au niveau de la partie supérieure du corps et du tronc, déclenchés en particulier par la prise de repas. Ces manifestations peuvent être une source d'erreur dans le diagnostic des hypoglycémies nocturnes et entraîner des erreurs dans l'adaptation de traitement.

➤ La dysautonomie diabétique

Elle peut être responsable de :

- troubles pupillaires fréquents,
- troubles trophiques, dominés par les maux perforants plantaires et par l'ostéo-arthropathie diabétique (pied de Charcot),
- déficits endocriniens, notamment d'un hyporéninisme-hypoaldostéronisme, parfois responsable d'une hyperkaliémie avec acidose tubulaire [8].

V. Traitements

1. Objectifs thérapeutiques

La prise en charge thérapeutique du diabète de type 2 doit être précoce et globale. Les objectifs généraux du traitement sont d'obtenir une glycémie normale, mais aussi de prendre en charge l'ensemble des facteurs de risque cardio-vasculaires qui sont souvent associés au diabète. Le traitement vise en outre à réduire l'obésité et la sédentarité.

a. Objectif glycémique à adapter au patient

L'objectif glycémique cible (taux d'HbA1C à atteindre) sera adapté par le médecin au profil du patient et évoluera donc au cours du temps. Pour la plupart des diabétiques de type 2, l'objectif glycémique cible doit être inférieur ou égal à 7% [3].

b. Prise en charge des facteurs de risque

- Pression artérielle : contrôle tensionnel strict < 130/80 mmHg

- Lipides : cibles pour le LDL-cholestérol graduées selon un niveau de risque cardiovasculaire croissant :

LDL-cholestérol < 1,9 g/l si patient sans autre facteur de risque additionnel, dépourvu de microangiopathie et dont le diabète évolue depuis moins de 5 ans.

LDL-cholestérol < 1,6 g/l chez les autres patients présentant au plus un facteur de risque additionnel.

LDL-cholestérol < 1,3 g/l chez les patients présentant au moins deux facteurs de risque additionnels à un diabète évoluant depuis moins de 10 ans.

LDL-cholestérol < 1 g/l chez les patients en prévention secondaire ou à risque équivalent : soit ayant une atteinte rénale (albuminurie > 300 mg/j ou DFG < 60ml/min), soit un diabète évoluant depuis plus de 10 ans et au moins deux facteurs de risque additionnels.

- Arrêt du tabac [5].

2. Traitement non médicamenteux

La base de la prise en charge repose sur les mesures hygiéno-diététiques : adopter une alimentation saine et équilibrée et pratiquer régulièrement une activité physique ou sportive même modérée (au moins 2h30 par semaine) sont les clés pour réussir à atteindre l'objectif glycémique cible ou le stabiliser.

Si les mesures hygiéno-diététiques ne suffisent pas ou plus pour atteindre l'objectif glycémique cible, le médecin, en concertation avec son patient, prescrira un traitement médicamenteux [3].

3. Traitement médicamenteux

a. Les médicaments de l'insulinorésistance

- Biguanides : Metformine (Glucophage®), Stagid®)

Les biguanides ne stimulent pas l'insulinosécrétion. Leur action principale est de diminuer la production hépatique de glucose en freinant la néoglucogenèse. Ils augmentent également la sensibilité à l'insuline des tissus périphériques.

Les biguanides n'induisent pas d'hypoglycémie par eux-mêmes.

b. Les insulinosécréteurs

- Sulfamides hypoglycémiantes : Gliclazide (Diamicron®), Glibenclamide (Daonil®), Glimépiride (Amarel®)

Les sulfamides hypoglycémiantes agissent principalement en stimulant la sécrétion d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans. Les sulfonylurées se lient à un récepteur spécifique présent sur la membrane des cellules β . Ils régulent la sécrétion d'insuline en fermant les canaux potassiques ce qui entraîne une dépolarisation de la membrane et l'entrée de calcium dans les cellules β . L'augmentation de la concentration en calcium intracellulaire stimule la libération d'insuline par exocytose.

- Glinides : Répaglinide (Novonorm®)

Ils stimulent l'insulinosécrétion en agissant sur le canal potassique ATP-dépendant, mais leur site de liaison sur la cellule β est différent de celui des sulfamides. Ils stimulent le pic précoce d'insulinosécrétion et ont une action préférentielle sur la glycémie postprandiale.

c. Les incrétines

- Analogues du GLP1 - incrétino-mimétiques : Exenatide (Byetta®), Liraglutide (Victoza®)

Les incrétino-mimétiques sont des agonistes du récepteur du GLP-1, résistant à la dégradation par l'enzyme DPP-4 du fait de modifications de leur structure. Ils augmentent la sécrétion d'insuline de manière glucose-dépendante, réduisent la synthèse de glucagon et ralentissent la vidange gastrique.

Ils s'administrent par voie sous-cutanée en une (liraglutide) ou deux (exenatide) injections par jour.

Ils sont indiqués dans le diabète de type 2 en association à la bithérapie metformine et sulfamide hypoglycémiant chez des malades n'ayant pas obtenu un contrôle glycémique adéquat avec les hypoglycémiants oraux.

- Inhibiteurs de la DPP-4 – gliptines : Sitagliptine (Januvia®), Vildagliptine (Galvus®)

Les inhibiteurs de l'enzyme DPP-4 permettent de prolonger la demi-vie et donc les effets (stimulent la sécrétion d'insuline) des gluco-incrétines endogènes (GLP-1 et GIP) de manière glucose-dépendante. Ils diminuent aussi la sécrétion de glucagon. Les premiers représentants de cette classe sont la sitagliptine (Januvia®) et la vildagliptine (Galvus®). Ils s'administrent en une ou deux prises quotidiennes per os. Ils ont un impact significatif sur la glycémie postprandiale.

Ils sont indiqués dans le DNID en association à la metformine chez les patients n'ayant pas obtenu un contrôle glycémique adéquat.

d. Les inhibiteurs des alpha-glucosidases : Acarbose (Glucor®)

Ils ralentissent l'absorption intestinale des glucides alimentaires complexes. Ils sont principalement actifs sur la glycémie postprandiale. Ils n'induisent pas d'hypoglycémie [5].

e. L'insuline

L'indication peut être transitoire lors d'une décompensation métabolique aiguë, d'une grossesse, de pathologies intercurrentes déséquilibrant le diabète ou d'une intervention chirurgicale par exemple. Cependant, elle peut devenir définitive en cas de contre-indication à la poursuite des antidiabétiques oraux (insuffisance rénale, hépatique...), ou lorsque la glycémie reste mal contrôlée malgré les traitements, en particulier en l'absence d'amaigrissement, en cas d'impossibilité d'introduire une activité physique, ou lorsque la capacité des cellules du pancréas à sécréter de l'insuline s'épuise de façon incontrôlable au fil des années. Les patients ont alors recours à une insulinothérapie, consistant à s'injecter de l'insuline plusieurs fois par jour, en fonction de la glycémie, mesurée en temps réel.

L'instauration d'une insulinothérapie fait l'objet d'une discussion avec le patient, et/ou son entourage, dans le cadre de l'éducation thérapeutique. Elle doit être accompagnée et idéalement précédée d'une auto surveillance glycémique et doit faire l'objet d'un apprentissage.

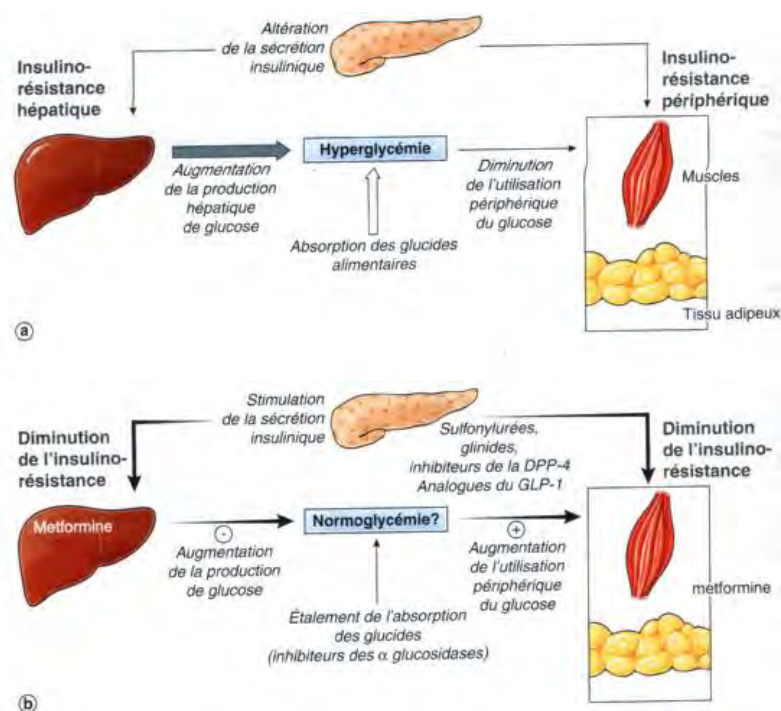


Figure 4 :

a : Schéma simplifié des perturbations physiopathologiques qui conduisent à l'hyperglycémie du DNID.

b : Schéma simplifié des points d'impact des différentes thérapeutiques à visée hypoglycémisante dans le DNID [10].

4. Schéma thérapeutique

La HAS recommande de prescrire la metformine seule en première intention. Si le traitement par metformine ne permet plus d'atteindre l'objectif glycémique cible, une bithérapie (puis éventuellement une trithérapie) pourra être envisagée sur la base d'une association de metformine et de sulfamide hypoglycémiant. L'insuline est le traitement de choix lorsque les traitements oraux et non insuliniques ne permettent pas d'atteindre l'objectif glycémique.

Du fait d'une efficacité moindre, d'un manque de recul sur leur sécurité à moyen et long terme et/ou d'un coût supérieur, les autres traitements (glinides, gliptines, incrétino-mimétiques, inhibiteurs des alpha-glucosidases) doivent être réservés aux situations dans lesquelles les traitements recommandés en première intention ne peuvent être prescrits [3]

PARTIE 2 :
LE MICROBIOTE
INTESTINAL

I. Définition

Le microbiote intestinal représente les bactéries qui peuplent notre tube digestif. Il regroupe un ensemble de micro-organismes dont la composition n'est pas encore bien définie.

La diversité microbienne est estimée à l'heure actuelle à environ 10^3 espèces bactériennes composant le microbiote intestinal dominant d'un individu adulte avec une abondance de 10^{14} bactéries, représentant un génome bactérien d'environ 10^8 gènes soit 100 à 150 fois le génome humain [18]

L'ensemble constitue un écosystème qui fonctionne comme un organe à part entière, en étroite symbiose avec notre organisme. C'est un élément indispensable à la digestion des aliments non assimilés par l'organisme et nécessaire pour diverses fonctions physiologiques de l'Homme : effet barrière contre des pathogènes extérieurs, maturation du système immunitaire, fermentation de substrats, production de vitamines...

Dans certaines situations pathologiques, le microbiote est déséquilibré et présente une composition modifiée. Une dysbiose du microbiote intestinal apparaît alors comme un facteur de prédisposition à certaines pathologies.

II. Composition

1. Méthodes d'analyse

Chaque personne possède des bactéries relativement proches en termes d'espèces, mais la composition exacte du microbiote est pour une large part (environ $\frac{2}{3}$ des espèces) spécifique de l'hôte. Ainsi, le microbiote intestinal humain est un écosystème très diversifié, complexe, et spécifique de chaque individu.

Les techniques classiques de culture des bactéries ne permettent de détecter qu'entre 20 et 30% des bactéries présentes. Celles qui restent sont qualifiées de non cultivables.

Ce sont d'abord les techniques basées sur le séquençage de l'ARN 16S qui ont permis d'identifier de nouvelles espèces, non cultivables par les techniques classiques de microbiologie (microscopie, culture axénique). Puis, suite à la mise au point du séquençage de l'ADN à haut débit (pyroséquençage) il a été possible de séquencer et identifier les gènes des bactéries présentes dans l'écosystème digestif humain (métagénome) grâce aux travaux menés en Europe et aux États-Unis. Enfin, grâce au clonage des grands fragments d'ADN, il devient possible d'identifier les espèces responsables de certaines fonctions physiologiques [19].

2. Différents micro-organismes

Les bactéries dominantes du microbiote peuvent être réparties en 3 phyla bactériens majeurs (*Bacteroidetes*, *Firmicutes* et *Actinobacteria*), appelés « entérotypes », qui sont identifiés chez tous les individus. Chaque entérotipe est caractérisé par l'existence de nombreuses espèces dominées par les genres bactériens *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Clostridium* et *Bifidobacterium*.

Le phylum des ***Firmicutes*** est souvent le plus représenté. Il est constitué d'espèces appartenant aux genres *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*.

Les ***Bacteroidetes*** sont représentés par des genres liés à *Bacteroides*. Ils sont toujours présents et relativement dominants (9 à 42% des bactéries totales en moyenne).

Le phylum des ***Actinobacteria*** représente un petit pourcentage des bactéries totales. Il comprend les *bifidobactéries* (0,7 à 10%) et les bactéries du groupe *Collinsella-Atopobium* (0,3 à 3,7% en moyenne).

Les entérobactéries (0,4 à 1%), ainsi que les lactobacilles et streptocoques (2%), sont plus rarement observées [20].

Enfin, ces espèces bactériennes sont strictement associées à l'écosystème intestinal. Ceci est le résultat d'une longue co-évolution avec l'hôte, c'est pourquoi il est difficile de définir un microbiote normal. Ce qui est important, c'est la biodiversité ; en effet, les fonctions exercées par le microbiote apparaissent avec plus ou moins d'intensité chez tous les individus, et les variations observées seraient liées à la composition qualitative et quantitative des entérotypes. Un microbiote normal présente donc une importante diversité et toute diminution de cette diversité est associée à des anomalies fonctionnelles.

En outre, la composition bactérienne du microbiote intestinal est la plus largement étudiée, mais il se compose de nombreux autres micro-organismes : virus, archées, levures.

Les virus de notre tractus digestifs sont pour l'essentiel des phages (ADN) et des virus végétaux (ARN).

Les archées sont présentes chez 4% des individus. En effet, l'analyse de leur ADNr 16S a permis d'identifier au sein de nos fèces la présence de *Méthanobrevibacter smithii* et *Méthanobrevibacter stadtmanae*.

Les levures et les champignons sont aussi des composants de notre tube digestif. Ainsi, nous pouvons retrouver des levures issues des espèces *Candida* et *Saccharomyces* ; cependant, la diversité de ces organismes est encore très sous-estimée.

3. Répartition

Les micro-organismes varient tout au long du tractus digestif, en fonction du pH, du potentiel d'oxydoréduction, des substrats, et des sites d'adhésion qui caractérisent l'organe cible ou la niche écologique.

Dans l'estomac, les micro-organismes se situent principalement dans le mucus stomacal et développent des adhésions ; l'un des plus connus est *Helicobacter pylori*. Cependant, l'estomac présente un pH peu propice à l'implantation de micro-organismes, c'est donc une première barrière contre les bactéries exogènes.

Dans l'intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon), la colonisation est plus favorable. La présence de mucus permet l'implantation des différentes espèces bactériennes, mais le temps de séjour court de ces composés limite leur croissance à cet endroit.

C'est dans le côlon que la multiplication est la plus importante, du fait d'un temps de transit plus lent, de l'abondance de facteurs alimentaires (polysaccharides) et de mucus [21].

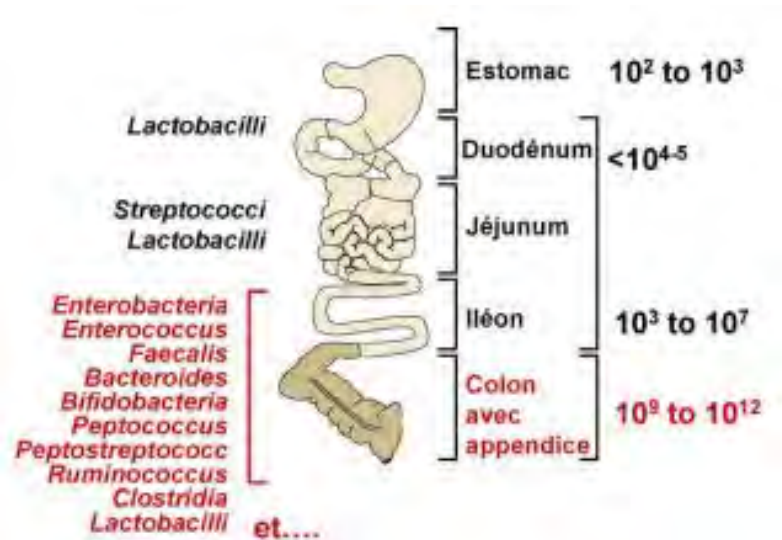


Figure 5 : répartition des différentes espèces bactériennes dans le tube digestif [22]

III. Mise en place

In utero, le fœtus se développe dans un environnement stérile ; dès la naissance, il est colonisé par les bactéries de l'environnement et, progressivement, le microbiote va se mettre en place pour devenir un élément essentiel au développement harmonieux de l'hôte.

1. Inégalités dès la naissance

a. Mode d'accouchement

Le nouveau-né, stérile in utero, se retrouve à la naissance en contact avec des bactéries provenant du microbiote maternel et de l'environnement, qui vont rapidement coloniser son tube digestif. Le microbiote fécal maternel (entérobactéries et bifidobactéries) constitue la source principale de bactéries colonisatrices, mais le microbiote vaginal (lactobacilles) participe également à la colonisation [23].

Chez les enfants nés par césarienne, et qui ne sont donc pas en contact avec le microbiote fécal et vaginal de la mère, la flore de type anaérobie s'installe plus tardivement (1 à 6 mois) par rapport à un enfant né par voie basse. Dans une étude visant à déterminer les taux de colonisation des bifidobactéries et lactobacilles, les

chercheurs ont montré que la complexité de la flore d'un nourrisson dix jours après une naissance par voie vaginale n'est atteinte qu'un mois plus tard dans le cas d'une naissance par césarienne.

Chez les enfants prématurés, la mise en place de la flore est plus tardive, notamment du fait de leur séjour dans un environnement aseptisé ; de plus ils reçoivent souvent une antibiothérapie prophylactique à cause de la perméabilité trop importante de leur intestin. Ils peuvent donc être colonisés précocement par *Clostridium difficile*, impliqué dans l'entérocolite ulcéro-nécrosante du nourrisson [24].

b. Mode d'allaitement

Le mode d'alimentation du nouveau-né est l'un des facteurs les plus étudiés. En comparant les flores de nouveau-nés nourris au sein ou au lait artificiel, on observe des différences, particulièrement la colonisation dominante par le genre *Bifidobacterium* chez le nouveau-né allaité. Parallèlement, l'implantation des entérobactéries (surtout *Clostridium* et *Bacteroides*) est retardée ou moins importante.

Dès qu'une alimentation mixte est adoptée, la flore semble reprendre un profil de flore de nouveau-né nourri au lait artificiel. Cependant, certaines études ont montré que les nouveau-nés nourris au lait artificiel peuvent être colonisés par le genre *Bifidobacterium* aussi rapidement et à un niveau aussi élevé que les nouveau-nés allaités. Mais les espèces dominantes semblent être différentes, avec entre autre l'absence de l'espèce *bifidum*, ce qui modifierait l'effet barrière, pouvant ainsi expliquer l'implantation d'une flore plus variée.

De nombreux travaux ont recherché les composants du lait responsables de cette colonisation dominante du genre *Bifidobacterium*. Une plus faible concentration en protéines du lait maternel, une capacité tampon réduite, des protéines particulières telles que le lysozyme, la lactoferrine, les immunoglobulines (IgA surtout) ont été évoqués comme facteurs bifidogènes. Cependant, les modifications des formules infantiles prenant en compte ces différents facteurs n'ont pas favorisé l'implantation d'une flore similaire à celle du nouveau-né allaité, supposée être une flore à effets bénéfiques.

Ce n'est que tardivement que l'on s'est intéressé aux oligosaccharides, pourtant quantitativement le 3^{ème} constituant du lait maternel après le lactose et les lipides. En

raison de leur structure, ils ne sont pas hydrolysables par les enzymes digestives humaines et ne sont donc pas assimilés au niveau de l'intestin grêle, constituant ainsi les véritables facteurs bifidogènes du lait maternel [25].

2. Mise en place progressive

Après l'accouchement, le nouveau-né est continuellement exposé à des bactéries exogènes, que ce soit par l'alimentation ou transmises par l'entourage (tétées, baisers...). Une flore stable, proche de celle de l'adulte, ne sera obtenue qu'entre 2 et 4 ans.

IV. Rôles

La vie symbiotique du microbiote intestinal avec son hôte a pour conséquence de multiples interactions avec les fonctions de l'organisme.

1. Défense de l'hôte

Les microbes intestinaux sont responsables de nombreuses fonctions de protection et métaboliques, et sont impliqués dans divers effets : régulation structurelle et stimulation du système immunitaire. La présence de bactéries commensales protège contre la colonisation par les agents pathogènes entériques, par compétition pour les nutriments et les récepteurs nécessaires à leur implantation, et par synthèse ou induction de facteurs anti-microbiens.

a. Lutte contre l'intrusion de microorganismes étrangers : « effet barrière »

La flore intestinale constitue une « barrière » permettant de limiter la colonisation par des bactéries pathogènes. L'équilibre de la flore intestinale résulte d'interactions microbiennes au sein du microbiote intestinal sous la forme de compétitions pour les substrats nutritifs ou les sites d'adhérence et de modifications de l'environnement intestinal par des produits du métabolisme bactérien : pH, bactériocines, acides

organiques... La flore intestinale est donc un biotope majeur, indispensable à l'acquisition et au maintien des fonctions digestives et immunitaires [22].

- Effet sur le renouvellement des cellules épithéliales

Des études comparant des animaux axéniques³ ou gnotobiotiques⁴ ont indiqué que la flore bactérienne envoie un signal à la couche épithéliale permettant de contrôler l'apoptose, la prolifération et la différenciation cellulaire. La diminution de l'apoptose épithéliale et la prolifération de cellules cryptiques ont été observé dans l'intestin des animaux axéniques par rapport aux animaux gnotobiotiques. L'inoculation de bactéries commensales à ces animaux gnotobiotiques stimule l'apoptose, augmente la profondeur de la crypte, et induit des activités enzymatiques de bordure en brosse par rapport aux animaux axéniques. Le renouvellement rapide des cellules épithéliales participe au maintien physique de la barrière.

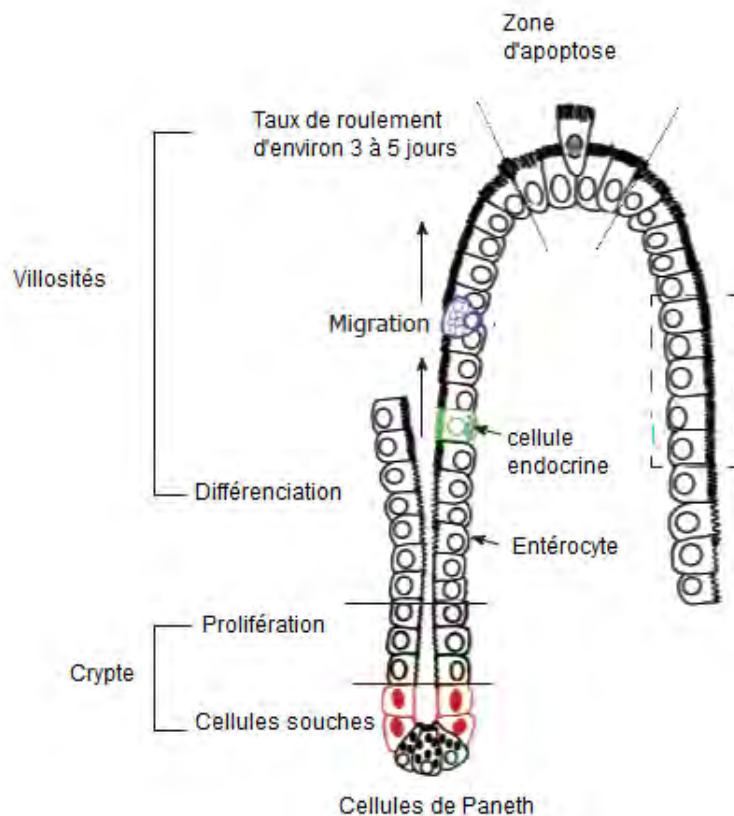


Figure 6 : glande intestinale [26]

³ Animaux exempts de germes saprophytes ou pathogènes, sans microbiote

⁴ Animaux hébergeant exclusivement un ou plusieurs microorganismes vivants parfaitement connus

- Effets sur la fortification des jonctions serrées de l'épithélium

Plusieurs études ont démontré l'effet des bactéries commensales sur la perméabilité épithéliale, par l'utilisation de probiotiques. Un prétraitement avec une ou plusieurs souches de probiotiques (par exemple *Lactobacillus rhamnosus*) inhibe la perméabilité intestinale et favorise le renouvellement de l'épithélium colique chez des souris modèles de colite. Le maintien de la barrière épithéliale a été associé à la restauration des jonctions serrées.

Par ailleurs, des études *in vitro* ont montré que les probiotiques réduisent l'hyperperméabilité épithéliale provoquée par *Escherichia Coli* dans les cellules épithéliales intestinales humaines.

Les probiotiques auraient donc un effet bénéfique dans le maintien de la fonction de barrière, la réduction de l'afflux bactérien et le niveau d'endotoxines plasmatiques.

Il est à noter que l'administration de ces probiotiques ne conduit pas à des changements dans la perméabilité épithéliale intestinale chez les animaux témoins sains [26].

b. Education et maturation du système immunitaire

Le système immunitaire intestinal joue un rôle très important dans la physiologie des mammifères. Il doit d'abord développer des réponses protectrices cellulaires et humorales envers les virus, bactéries ou parasites entéropathogènes.

La réponse humorale est réalisée essentiellement grâce à la sécrétion d'anticorps spécifiques des muqueuses, les IgA, bloquant l'adhésion de bactéries pathogènes, la multiplication virale dans l'entérocyte et neutralisant les entérotoxines.

La réponse cellulaire, quant à elle, fait appel aux lymphocytes intra-épithéliaux qui permettent de maintenir l'intégrité de l'épithélium intestinal.

Parallèlement à cette fonction protectrice, le système immunitaire intestinal doit également empêcher l'induction de réponses immunes envers les composants des aliments et des bactéries commensales présentes dans le tube digestif. Ce phénomène est nommé la tolérance orale.

Des études comparatives entre des souris axéniques et leurs homologues élevés classiquement ont démontré le rôle essentiel joué par le microbiote dans le développement et la maturation du système immunitaire et donc sur ses fonctions.

Les animaux axéniques présentent en effet de nombreuses anomalies au niveau du système immunitaire intestinal : hypoplasie des plaques de Peyer, nombre de lymphocytes intra-épithéliaux réduits, concentration d'immunoglobulines sériques et production de cytokines limitées. Les anomalies observées ne se limitent cependant pas à l'épithélium intestinal, puisque la rate et les ganglions lymphatiques des animaux axéniques sont non structurés et présentent des zones lymphocytaires atrophiées. L'ensemble de ces anomalies peut être réparé en quelques semaines en inoculant un microbiote de souris conventionnelle à ces souris axéniques. Certains des mécanismes mis en jeu ont été établis et il a par exemple été montré que le polysaccharide A de *Bacteroides fragilis* était capable, à lui seul, d'induire la maturation du système immunitaire de souris axéniques.

La stimulation permanente du système immunitaire par le microbiote intestinal est nécessaire non seulement pour son développement et sa maturation, mais également pour le maintien de l'homéostasie intestinale, de la fonction de barrière de l'épithélium ou encore de l'équilibre entre réponses pro et anti-inflammatoires.

c. Activité anti-inflammatoire

Des études utilisant des modèles knockout⁵ ont montré que la mort cellulaire est responsable d'un défaut de la barrière épithéliale entraînant par la suite l'inflammation intestinale.

Des souris dont on a supprimé la caspase-8 ou la protéine Fas associée avec le domaine de la mort sur les cellules épithéliales intestinales, ont spontanément développé une nécrose des cellules épithéliales et des lésions inflammatoires dans l'iléon et le côlon. En effet, les cellules des villosités intestinales sont normalement éliminées par un mécanisme régulé d'apoptose ; ici, en bloquant ce mécanisme, la seule alternative pour les cellules vieillissantes est alors la nécrose. Ces corps nécrotiques, contrairement aux corps apoptotiques, sont à l'origine de la perte d'intégrité de la barrière et d'une inflammation.

D'autre part, un certain nombre d'études ont démontré que des cytokines pro-inflammatoires (par exemple, IFN- γ et TNF) et des médiateurs phagocytaires (par exemple, les radicaux libres et les protéases) provoquent une rupture des jonctions

⁵ Souris génétiquement modifiées pour inactiver un ou plusieurs gènes

serrées et une hausse de la perméabilité intestinale, et permettent ainsi d'incriminer l'inflammation comme cause de rupture de la barrière épithéliale. Quel que soit le point de départ, un cercle vicieux entre dysfonctionnement de la barrière et réaction inflammatoire est mis en évidence, entraînant la perpétuation et l'aggravation de l'inflammation chronique dans les intestins.

Plusieurs éléments de preuve suggèrent un rôle important de la dysbiose⁶ dans la pathogenèse de la maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI). Chez les patients atteints de MICI, non seulement la quantité de bactéries commensales de l'intestin est réduite (environ dix fois plus faible que les sujets témoins), mais la diversité de la flore est aussi modifiée. La diminution de certaines classes de bactéries commensales, les *Firmicutes* et les *Bacteroidetes*, et l'augmentation de l'adhérence des bactéries à la muqueuse sont documentées chez ces patients. Des modèles expérimentaux tels que des souris déficientes en IL-2 ou IL-10 qui développent spontanément une colite ne développent pas la maladie lorsqu'ils sont élevés dans un environnement exempt de germes.

Les souris présentant un déficit génétique en RAG-1 (enzyme responsable du réarrangement des gènes du BCR et du TCR ; si elle n'est pas fonctionnelle, on observe un déficit en cellules B ou T circulantes) [27] et T-bet (facteur de transcription de la voie Th1) [28] ont un système immunitaire perturbé ; elles présentent une dysbiose et développent une inflammation spontanée du côlon ressemblant à la rectocolite hémorragique humaine. Fait intéressant, des souriceaux T-bet compétents nés de mère T-bet déficientes (avec transmission de la flore de la mère vers les nouveau-nés) développent la colite après avoir été croisés à des souris mutantes femelles, suggérant une nature transmissible de cette forme de colite par le microbiote intestinal.

La signalisation bactérienne aberrante par les récepteurs, par exemple, l'oligomérisation de NOD2 et des récepteurs Toll-like (TLR) sur les cellules de la muqueuse, est incriminée dans le développement de l'inflammation intestinale chronique. Des mutations dans le gène codant pour NOD2 ont été identifiées chez des patients atteints de la maladie de Crohn. NOD2 est connu comme récepteur

⁶ Déséquilibre du microbiote intestinal

cytosolique inné capable de détecter le peptidoglycane de bactéries Gram positives et négatives à l'intérieur des entérocytes pour déclencher la kinase RIP2 qui active le facteur nucléaire kappa B (NF- κ B), induisant des réponses pro-inflammatoires, et la synthèse de défensine antimicrobienne. Des études récentes ont démontré que des souris déficientes en NOD2 affichent une composition du microbiote altérée et une charge bactérienne élevée dans les fèces et l'iléon terminal par rapport à leurs homologues de type sauvage, soutenant qu'un dysfonctionnement en NOD2 et une dysbiose ultérieure peuvent entraîner la rupture de l'homéostasie intestinale et prédisposer à une inflammation chronique [26].

2. Biotransformation

Les glucides et les protéines alimentaires non digérés dans la partie supérieure du tractus digestif représentent les principales sources d'énergie du microbiote ; ils parviennent alors au côlon pour être métabolisés.

Cette propriété de biotransformation confère à la flore intestinale une capacité métabolique énorme, équivalente à celle du foie, assurant des fonctions que notre organisme ne possède pas (hydrolyse des polysides végétaux, production d'acides gras à chaîne courte, de vitamines, d'enzymes détoxifiant les xénobiotiques...), sans oublier qu'il intervient dans la régulation de l'appétit et dans le stockage des lipides.

a. Métabolisme des glucides

Les fibres alimentaires, principalement issues des fruits, légumes, et céréales, contiennent des glucides complexes tels que l'amidon, les polysides composant la paroi des végétaux (cellulose, hémicelluloses, pectines) ou autres glucides non assimilés par l'organisme.

- Dégradation des polysaccharides

Les bactéries hydrolytiques ont un rôle fondamental dans le fonctionnement de l'écosystème, puisqu'elles interviennent lors de la première étape de la chaîne pour

dégrader les polymères en fragments plus petits (oses, oligosides...), également assimilables par les espèces dépourvues d'activité hydrolytique.

Les principales espèces bactériennes pour lesquelles une activité hydrolytique à l'égard des polymères glucidiques a été démontrée, appartiennent aux genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia* ainsi qu'à quelques espèces des genres *Enterococcus*, *Clostridium* et *Eubacterium*.

- Fermentation des glucides

La majorité des espèces utilise ensuite la glycolyse pour convertir les glucides en pyruvate, métabolite majeur de ces processus fermentaires. Il est ensuite transformé selon différentes voies métaboliques en produits terminaux de fermentation, les AGCC⁷ (acétate, propionate et butyrate). Cependant, un certain nombre d'espèces produisent aussi des métabolites intermédiaires comme le succinate, le lactate, l'éthanol, le formate, qui ne s'accumulent pas dans l'écosystème, mais sont métabolisés par d'autres espèces bactériennes en produits finaux. La synthèse de composés intermédiaires contribue donc au maintien de la diversité microbienne dans le côlon. La majorité des AGCC produits sont rapidement absorbés au niveau de l'épithélium intestinal et métabolisés dans différents organes (épithélium colique, foie, muscle, cœur...).

- b. Métabolisme des protéines

A l'opposé de la fermentation des glucides, la dégradation des protéines dans le côlon génère de nombreux métabolites potentiellement toxiques pour l'hôte (phénols, indoles, ammoniac, amines). La fermentation des glucides contribue à diminuer la disponibilité des composés toxiques issus de la protéolyse, en stimulant la protéosynthèse bactérienne.

⁷ Acides gras à chaîne courte

- Protéolyse

La protéolyse est un processus très important dans le côlon : les bactéries doivent hydrolyser les protéines et peptides (principales sources d'azote du côlon) afin de disposer de ce qui les compose. Le pH intra-luminal jouerait un rôle dans ce processus : les protéases (enzymes protéolytiques), possédant un pH voisin de la neutralité, seraient particulièrement actives dans la partie distale du côlon où le pH est plus élevé.

Les bactéries protéolytiques prédominantes appartiennent aux genres *Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*.

- Métabolisme des peptides et acides aminés

Les peptides issus de la protéolyse peuvent être assimilés par certaines espèces, permettant ainsi de stimuler leur croissance. Leur utilisation s'accompagne fréquemment de l'excrétion d'acides aminés non nécessaires à la croissance de la bactérie, qui deviennent alors potentiellement disponibles pour d'autres espèces. Certaines espèces des genres *Veillonella*, *Peptococcus*, *Fusobacterium*, *Acidaminococcus*, *Clostridium* et *Eubacterium* utilisent les acides aminés comme source principale d'énergie, ces bactéries ne fermentant pas les glucides. Toutefois, de nombreuses espèces glycolytiques utilisent les acides aminés et les peptides uniquement comme source d'azote.

c. Métabolisme des lipides

Les lipases issues de certaines bactéries permettent d'hydrolyser les triglycérides à chaînes longues. Cependant, les acides gras insaturés à 18 carbones sont réduits (ou bio-hydrogénés) par le microbiote intestinal, tandis que les acides gras à 20 ou 22 carbones ne seraient pas métabolisés.

Certaines personnes, selon leur microbiote, seraient capables de convertir le cholestérol en coprostanol, non absorbé par l'intestin et éliminé dans les fèces ; l'absorption du cholestérol est donc limitée et le risque de maladies cardiovasculaires diminué.

d. Métabolisme des gaz

L'hydrogène est l'un des gaz majoritairement formé lors de ces processus fermentaires. Son élimination de l'écosystème est fondamentale au maintien de l'efficacité d'un bon métabolisme. Il est ainsi en partie excrété par voies pulmonaire et anale [23] [29].

3. Synthèse de vitamines

Enfin, les bactéries participent à la synthèse de facteurs vitaminiques :

- vitamine K
- cobalamine (B12)
- acide folique (B9)
- pyridoxine (B6)
- biotine (B8)
- riboflavine (B2)

Les vitamines synthétisées s'ajoutent à celles retrouvées dans l'alimentation.

Le microbiote fournit également des acides aminés essentiels à l'hôte [24].

4. En résumé

Fonctions de protection	Déplacement des pathogènes Compétition avec les nutriments Concurrence pour les récepteurs Production de facteurs antimicrobiens
Fonctions structurelles	Régulation du turn over des cellules épithéliales Différenciation des cellules épithéliales Renforcement de la barrière épithéliale Stabilisation des jonctions serrées
Fonctions immunitaires	Induction de l'IgA sécrétoire Induction de la tolérance orale Mise en place d'un microenvironnement immunitaire
Fonctions métaboliques	Fermentation de substances alimentaires non digestibles Génération d'acides gras à chaîne courte Récupération de source d'énergie Synthèse des vitamines essentielles

Tableau 3 : fonctions des bactéries commensales de l'intestin [26]

5. Fonctions du microbiote dans certaines pathologies

Les perturbations du microbiote intestinal sont impliquées aussi bien dans certaines pathologies intestinales que dans des pathologies extra-intestinales. Parmi celles-ci, nous pouvons citer les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) du type maladie de Crohn ou rectocolite hémorragique, l'obésité, le syndrome métabolique, certaines pathologies cardiovasculaires, certaines pathologies allergiques et avec plus de prudence, l'autisme ou les troubles du comportement.

De ce fait, nous pouvons faire un lien entre microbiote et inflammation intestinale, entre microbiote et système immunitaire (immunité innée, allergie et auto-immunité), et entre microbiote et cerveau.

La question est alors d'identifier les bactéries responsables de ces maladies ou, à l'inverse, les espèces assurant une éventuelle protection et permettant d'y résister.

Certaines réponses ont déjà été données, par exemple, une espèce particulière, *Faecalibacterium prausnitzii*, possède des propriétés anti-inflammatoires ; sa diminution ou sa disparition au sein du microbiote induit une inflammation du tube digestif, qui disparaît lorsqu'elle est réintroduite dans l'écosystème intestinal.

D'autres réponses sont apportées par les techniques de transfert de flore et, par exemple, la restauration de l'effet barrière contre *Clostridium difficile*.

Enfin les études sur les bénéfices apportés par les probiotiques se multiplient [19].

V. Facteurs de variation

L'équilibre du microbiote intestinal est fragile ; plusieurs facteurs peuvent venir perturber cet écosystème et entraîner une dysbiose, favorisant ainsi la prolifération soit d'une bactérie étrangère à la communauté soit d'une des bactéries constituante de la flore. Cependant, la modification de la flore est souvent transitoire, la diversité des espèces constituant le microbiote étant généralement stable dans le temps.

1. Facteurs dépendant de l'hôte

a. Patrimoine génétique

Des facteurs génétiques peuvent influencer sur la colonisation du microbiote. La composition du microbiote intestinal de jumeaux monozygotes est proche et semble témoigner de l'intervention de facteurs génétiques dans l'implantation et la qualité de la flore.

Par ailleurs, un gradient Nord-Sud pour le microbiote des nouveaux nés Européens a été mis en évidence : le genre *Bifidobacterium* prédomine pour des naissances au Nord de l'Europe (Suède), et *Bactéroides* au Sud de l'Europe (Espagne) [21].

b. Age

Au cours des années, la composition du microbiote varie ; on observe une diminution des sécrétions digestives et une augmentation du pH gastrique, donc une moins bonne digestion.

D'autre part, les habitudes alimentaires sont souvent modifiées (altération de l'odorat et du goût, isolement social, régime adapté à certaines pathologies liées à l'âge, problèmes de dentition...) et on observe une réduction globale des apports alimentaires.

Enfin, les personnes âgées sont à risque d'hospitalisations répétées et de traitement médicamenteux qui peuvent influencer l'état de leur flore intestinale.

Globalement, la plupart des études ont décrit une réduction du nombre et de la diversité des bifidobactéries et une augmentation des bactéries de type anaérobie facultative, tout particulièrement les Entérobactéries [24].

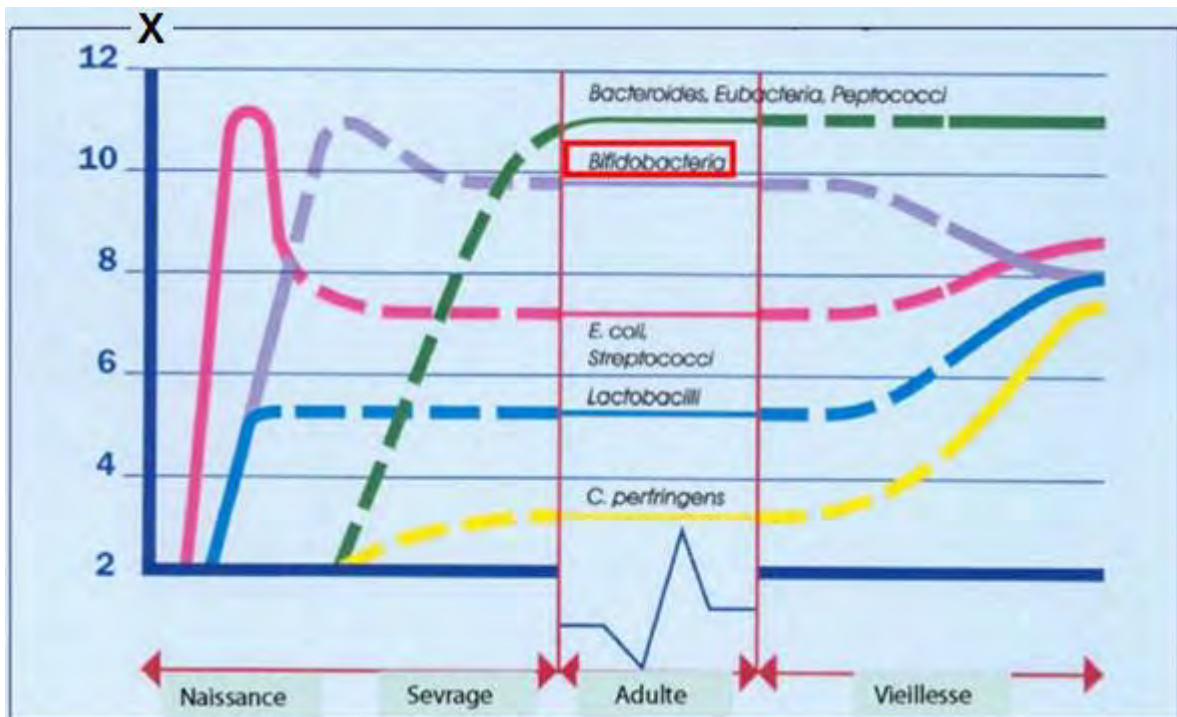


Figure 7 : évolution de la flore bactérienne fécale (10^x UFC par gramme de selles) au cours de la vie [22]

2. Facteurs exogènes

Les éléments susceptibles d'influencer la composition bactérienne sont principalement les substances qui sont au contact du microbiote, à savoir les aliments et les xénobiotiques ainsi que leurs produits de métabolisation (médicaments, pesticides et contaminants chimiques présents sur et dans les aliments et boissons).

a. Médicaments

Les médicaments, et particulièrement les antibiotiques, peuvent altérer les fonctions bénéfiques du microbiote. Une antibiothérapie entraîne la redistribution de la population bactérienne, la pullulation de microorganismes insensibles au traitement et l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques. La flore anaérobie est atteinte, entraînant ainsi l'altération de la fonction de barrière et pouvant libérer le pouvoir pathogène de certaines bactéries en induisant la production de toxines bactériennes, de facteurs d'adhérence et de virulence. *Clostridium difficile*, bactérie

potentiellement pathogène résidant dans le côlon, peut induire une colite pseudomembraneuse dans les suites d'une antibiothérapie.

La diarrhée est un effet fréquemment rencontré lors de la prise d'antibiotiques ; elle est la conséquence d'une réduction du métabolisme des hydrates de carbone et des sels biliaires par les bactéries anaérobies.

Un autre effet indésirable fréquent est l'infection fongique, tout particulièrement lorsque l'antibiothérapie réduit la flore commensale anaérobie.

Les réactions au cours d'une antibiothérapie sont dépendantes de l'hôte ; on observe de grandes variations interindividuelles et selon les souches d'une bactérie.

Les bêta-lactamines ont fait l'objet de nombreux travaux. Leur utilisation est classiquement associée à une diminution du nombre d'entérobactéries, d'entérocoques et de la flore anaérobie. L'émergence de *Clostridium difficile* est observée chez quelques patients après traitement par amoxicilline, associée ou non à l'acide clavulanique. L'émergence de bactéries résistantes est classiquement rapportée pour cette classe d'antibiotiques, mais également pour toutes les molécules testées. Il en est de même pour la survenue d'infection par *Candida albicans* [30].

En ce qui concerne l'éventuel impact d'autres médicaments, peu de données ont été publiées. Certains agissent sur le microbiote par des modifications des conditions de la niche écologique telles que la variation du pH (inhibiteurs de la pompe à proton, anti-histaminiques H2), l'altération du mucus (AINS), ou encore des modifications de la motilité intestinale (opioïdes, laxatifs).

b. Alimentation

Parmi les facteurs environnementaux susceptibles d'influencer l'équilibre de l'écosystème microbien, la nature et la quantité des substrats disponibles pour la fermentation ont un rôle majeur. Comme vu précédemment, une grande variété de substrats est disponible pour le microbiote colique, permettant ainsi le maintien de la diversité microbienne. L'ensemble de ces réactions de fermentation permet aux bactéries d'obtenir l'énergie nécessaire à leur croissance et au maintien de leurs

fonctions cellulaires. Ces activités microbiennes sont, de plus, importantes pour l'hôte puisque les métabolites formés sont, pour la plupart, absorbés et utilisés dans l'organisme et ont ainsi des répercussions sur la nutrition et la santé [31].

Plusieurs études ont montré que l'alimentation modifie la communauté microbienne et entraîne des changements biologiques chez l'hôte (tableau 4). En effet, la composition du microbiote intestinal est fortement corrélée au régime alimentaire comme l'a démontré une étude évaluant les contributions relatives des facteurs génétiques et de l'alimentation dans l'élaboration de la flore chez les souris. Chez celles nourries avec un régime riche en graisse, on observe des modifications, telles que l'absence de *Bifidobacterium* spp, responsable de l'effet barrière du microbiote. Dans l'ensemble, les changements alimentaires peuvent expliquer 57% de la variation structurelle totale du microbiote intestinal tandis que les modifications génétiques représentent maximum 12%. Cela indique que le régime alimentaire a un rôle prépondérant dans l'élaboration et la modification du microbiote intestinal et peut transformer un microbiote sain en une entité induisant la maladie. Par exemple, le régime « occidental », riche en sucre et en gras, provoque une dysbiose qui affecte à la fois le métabolisme du tractus gastro-intestinal de l'hôte et l'homéostasie immunitaire. Si on observe des souris nourries avec un régime alimentaire riche en polysaccharides donc une faible teneur en gras, lors du passage à un régime « occidental », on constate une prolifération de Firmicutes y compris *Clostridium innocuum*, *Eubacterium dolichum*, *Catenibacterium mitsuokai* et *Enterococcus* spp., ainsi qu'une réduction significative de plusieurs *Bacteroides* spp.

Régime	Bactéries altérées	Effet sur les bactéries
Riche en graisse	<i>Bifidobacterium</i> spp	Diminution (absentes)
Riche en graisses et en sucre	<i>Clostridium innocuum</i> , <i>Catenibacterium mitsuokai</i> et <i>Enterococcus</i> spp	Augmentation
	<i>Bacteroides</i> spp	Diminution
Pauvre en glucides	<i>Bacteroidetes</i>	Augmentation
Hypocalorique	<i>Clostridium</i>	Diminution (croissance limitée)

Glucides complexes	<i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i> et entérobactéries	Diminution
	<i>B. longum</i> sous espèce <i>longum</i> , <i>B. breve</i> et <i>B. thetaiotaomicron</i>	Augmentation
Sucres raffinés	<i>C. difficile</i> et <i>C. perfringens</i>	Augmentation
Végétarien	<i>E. coli</i>	Diminution
Riche en oméga 6	<i>Bacteroidetes</i>	Diminution
	<i>Firmicutes</i> , <i>Actinobacteria</i> et <i>Proteobacteria</i>	Augmentation
	δ - <i>Proteobacteria</i>	Augmentation
Graisse du lait animal	δ - <i>Proteobacteria</i>	Augmentation

Tableau 4 : résumé des dysbioses induites par l'alimentation [32]

Ainsi, nous pouvons concevoir que certains régimes favorisent la croissance de microbes potentiellement néfastes tandis que d'autres pourraient favoriser les « microbes bénéfiques ».

La question que l'on se pose alors est de savoir si cette dysbiose induite par l'alimentation, et retrouvée chez le diabétique de type 2, est un événement réversible par la mise en place d'un régime équilibré, ou si l'apport de prébiotiques et probiotiques est nécessaire.

La composition qualitative du microbiote intestinal, en termes de groupes et de genres, est le facteur clé qu'il faut maîtriser pour qu'il puisse assurer ses fonctions physiologiques. En plus des recommandations nutritionnelles habituelles qui privilégient la satisfaction des besoins de nos cellules eucaryotes qui composent nos organes vitaux (l'alimentation « systémique »), il faut ajouter des recommandations nutritionnelles permettant de garantir l'alimentation adéquate de ces bactéries. C'est dans ce contexte qu'a été introduit le concept de « fibre alimentaire » et de « prébiotique ».

Il existe différents types de fibres : elles peuvent être divisées en fibres insolubles (cellulose, hémicelluloses et lignine) et solubles (pectines, gommés, mucilages et polysaccharides de stockage), sur la base de la solubilité dans l'eau.

Les aliments riches en fibres peuvent contenir des fibres solubles et insolubles en quantités différentes. En général, les céréales sont principalement considérées comme une bonne source de fibres insolubles (blé, riz ou seigle) mais contiennent aussi une quantité, relativement faible (environ 25%), de fibres solubles. L'avoine est une exception, c'est une très bonne source de fibres solubles (environ 50%).

Les légumineuses constituent une source importante des deux types de fibres.

La teneur en fibres des fruits et légumes est généralement inférieure à celle des céréales et des légumineuses et se compose essentiellement de fibres solubles [44].

La base du concept « fibre » est la propriété qui caractérise certains composants de l'alimentation, leur permettant de résister à la digestion dans la partie supérieure de notre tube digestif. Du fait de l'absence de décomposition mais aussi de résorption, les composants alimentaires dits « résistant » à la digestion ont la capacité de traverser l'estomac, le duodénum, le jéjunum et l'iléon pour atteindre, pratiquement indemnes, le côlon et constituer la majeure partie de cette « alimentation colique ». Après avoir atteint le côlon, soit ces aliments résistent également aux actions de la microflore, et sont alors excrétés inchangés dans les selles contribuant ainsi à leur masse et à leur consistance, soit, au contraire, servent d'aliments aux différentes bactéries qui les « fermentent ». Il est important de noter que, dans ce concept, il n'y a aucune notion de sélectivité : les fibres qui seront fermentées peuvent nourrir la majorité, voire la totalité, des populations bactériennes du microbiote.

Cette notion de sélectivité est importante, et retrouvée dans le concept de prébiotique : ce dernier devra stimuler la croissance et/ou l'activité d'un ou un nombre limité de genres/espèces microbiennes avec comme conséquence des bénéfices pour la santé.

Une telle modification de composition, avec en particulier (mais pas exclusivement) le renforcement de la composante bifidobactérienne, est susceptible de renforcer le caractère normobiotique ainsi que les fonctions physiologiques du microbiote et pourrait permettre de réduire le risque de développer certaines maladies, en

particulier celles liées au syndrome métabolique comme le diabète de type 2 ou l'obésité.

En conclusion, une alimentation équilibrée, et notamment l'apport de glucides non digérés dans la partie haute de l'intestin mais largement fermentés dans le colon, est importante dans la lutte contre la dysbiose ; ils servent d'aliments aux différentes bactéries, diminuant ainsi le poids corporel, le développement de la masse adipeuse et la sévérité du diabète.

Cependant, l'apport de prébiotiques a un rôle majeur car permet le développement majoritaire des bifidobactéries dans le côlon, et change ainsi sélectivement la composition du microbiote [33].

c. Polluants minéraux

Parmi ceux-ci figurent notamment le plomb (Pb) et le cadmium (Cd), qui peuvent être à l'origine d'un déséquilibre du microbiote avec toutes les conséquences qui en découlent, notamment l'inflammation et les modifications cellulaires intestinales.

- Impact des métaux lourds sur le microbiote

Les expériences menées avec des animaux axéniques versus animaux conventionnels montrent que quel que soit le métal, la dissémination dans le corps des métaux lourds est plus importante chez les animaux axéniques car en absence de microbiote, la perméabilité intestinale est augmentée. Le microbiote joue donc un certain rôle de détoxification grâce à son action sur la perméabilité cellulaire.

De plus la sensibilité des bactéries est variable. Il a été montré que *Lactobacillus plantarum* est sensible au CdCl₂, mais résistant au PbCl₂. Cependant, la biodiversité des espèces bactériennes cœcales et fécales paraît respectée.

Au niveau des genres bactériens, il existe des différences significatives après traitement au plomb et au cadmium, notamment une moins grande diversité de genres avec une plus grande abondance du genre *Turicibacter*, et une raréfaction des genres *Coprococcus*, *Streptococcus*, *Blautia*, *Barnesiella* et *Allistipes*.

- Impact du microbiote sur les métaux lourds

Certains microorganismes, dont les bactéries lactiques, possèdent des propriétés chélatrices des métaux lourds, ce qui permet leur utilisation pour extraire des minerais ou dépolluer des sols ou de l'eau. Outre des bactéries issues de l'environnement comme des bactéries lactiques, il est possible de construire des bactéries génétiquement modifiées pour dépolluer l'eau ou les sols [19].

PARTIE 3 :

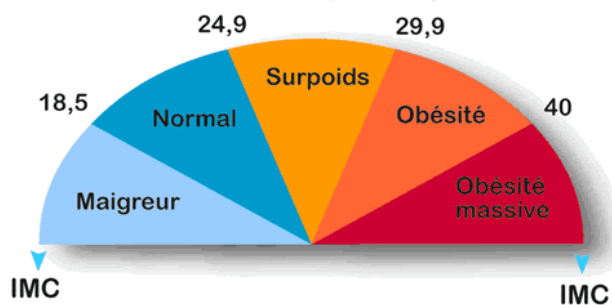
IMPACT DU MICROBIOTE SUR LE METABOLISME ET LE DIABETE DE TYPE 2

I. Lien entre microbiote et maladies métaboliques

1. Obésité et désordres métaboliques associés

L'obésité est, depuis plusieurs années, une véritable épidémie qui ne cesse de s'étendre dans les pays industrialisés ; elle constitue un problème majeur de santé publique.

Le surpoids et l'obésité se définissent comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle, entraînant un risque pour la santé. L'indice de masse corporelle (IMC) est un moyen simple de mesurer l'obésité dans la population : il est égal au poids de la personne (en kilogrammes) divisé par le carré de sa taille (en mètres). Une personne ayant un IMC supérieur à 30 est considérée comme obèse. Une personne dont l'IMC est supérieur ou égal à 25 est en surpoids [34].



$$\text{IMC}_{(kg/m^2)} = \frac{\text{Poids}_{(kg)}}{\text{Taille}^2_{(m^2)}}$$

Associés à l'obésité, un certain nombre de désordres métaboliques existent ; ils peuvent être liés à une altération de l'homéostasie glucidique (intolérance au glucose, résistance à l'insuline, diabète de type 2...) et/ou au développement de pathologies cardiovasculaires (hypertension artérielle, dyslipidémie, athérosclérose...).

Les recherches se multiplient afin d'identifier les facteurs physiologiques et environnementaux responsables du développement de cette pathologie.

L'excès d'apport énergétique, ainsi que la baisse de l'activité physique, sont les deux facteurs environnementaux les plus classiquement associés au développement de ces troubles. Mais quelles autres causes peuvent être imputées ? Au-delà de l'impact génétique, de plus en plus d'études mettent en lumière certains aspects de la relation hôte-microbiote intestinal.

2. Modifications de la flore intestinale : cause ou conséquence des désordres métaboliques ?

a. Mise en cause du microbiote intestinal dans le diabète de type 1

Le diabète de type 1 est dû à une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices, dites cellules β des îlots de Langerhans, survenant sur un terrain génétique. L'élément déclencheur du diabète de type 1 n'a pas encore été identifié, mais des preuves sur l'homme et sur des modèles animaux suggèrent qu'en plus de la génétique, les facteurs environnementaux et les infections microbiennes en particulier, peuvent être des acteurs clés dans les mécanismes de la maladie.

Des études récentes suggèrent que des modifications dans la composition du microbiote intestinal peuvent être liées au développement du diabète de type 1. Les bactéries intestinales seraient impliquées dans les mécanismes précoces de la maladie ; en effet, les données indiquent que l'interférence entre le microbiote intestinal et le système immunitaire inné peut être impliquée dans la destruction des îlots de Langerhans. Si un lien de causalité entre microbiote intestinal et diabète de type 1 existe, le mécanisme exact reste à élucider [35].

b. Chez l'Homme

Les études comparant le microbiote de personnes obèses et minces ont révélé un lien entre l'obésité et les modifications du rapport entre deux phyla bactériens dominants de l'intestin : les *Bacteroidetes* et les *Firmicutes*. On observe une modification du rapport *Bacteroidetes/Firmicutes* en faveur des *Firmicutes* dans l'obésité.

Aussi, il y a modification de la flore intestinale avec augmentation de *Bacteroidetes* chez l'obèse après un régime pauvre en graisses ou en glucides amenant à une

perte de poids. Ceci sous-entend qu'une modification de l'alimentation entraîne une modification de l'équilibre du microbiote intestinal. Ces changements affecteraient le potentiel métabolique de la flore [36].

Plusieurs études ont montré cette association entre obésité, augmentation du phylum des *Firmicutes* et abondance relativement faible du phylum des *Bacteroidetes*.

La recherche sur certaines pathologies, comme la maladie de Crohn, a révélé que les patients avaient une réduction significative de la diversité globale de la flore intestinale et des modifications dans la composition microbienne. Cependant, des informations complémentaires sont nécessaires afin d'obtenir des détails sur les changements de composition microbienne intestinale et leurs impacts sur le développement de maladies.

Pour cela, une étude cas-témoins a séquencé le microbiote intestinal de 345 individus chinois. L'analyse n'a pas révélé de différence significative au niveau de la diversité entre les groupes de diabétiques et de contrôle. Cependant, les analyses indiquaient un déclin dans les bactéries productrices de butyrate (par exemple *Clostridiales* sp., *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia intestinalis*), qui peuvent être métaboliquement bénéfiques, et une augmentation de divers agents pathogènes opportunistes (*Bacteroides caccae*, *Clostridium hathewayi*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium symbiosum*, *Eggerthella Lenta* et *Escherichia coli*). Aussi, le constat d'une dysbiose générale chez les patients diabétiques de type 2 soulève la possibilité qu'il y ait une « dysbiose fonctionnelle », plutôt que l'existence d'une espèce microbienne spécifique ayant un lien direct avec la physiopathologie du DNID. En outre, étant donné que d'autres maladies intestinales montrent une perte de bactéries productrices de butyrate, avec une augmentation proportionnelle de pathogènes opportunistes, il est possible que la modification de la composition microbienne joue un rôle dans l'accroissement de la sensibilité à diverses maladies. A noter que l'analyse des fonctions des gènes bactériens a révélé une augmentation de la réponse au stress oxydatif, fait intéressant car d'autres études ont montré qu'un niveau de stress oxydatif élevé est lié à une prédisposition pour les complications diabétiques [37].

c. Chez la souris

Comme chez l'Homme, l'obésité chez la souris est associée à des modifications qualitatives de la flore intestinale. Les souris présentant une obésité d'origine génétique (ob/ob) possèdent deux fois moins de *Bacteroidetes* et une augmentation proportionnelle des *Firmicutes* par rapport à leurs congénères sauvages.

Par ailleurs, des chercheurs ont constaté une amélioration de la sensibilité à l'insuline périphérique six semaines après la perfusion du microbiote intestinal de donneuses maigres à des bénéficiaires obèses.

Ils n'ont observé aucun changement dans le nombre total de bactéries fécales et dans le nombre d'*Archaea*, mais la diversité microbienne a augmenté significativement après le transfert de microbiote maigre.

Une augmentation des producteurs de butyrate type *Eubacterium hallii* a aussi été observée. Même si les espèces bactériennes spécifiques contribuant à cet effet sont inconnues, cela suggère que le butyrate dérivé du métabolisme microbien joue un rôle de régulation conduisant à une amélioration de la sensibilité à l'insuline [38].

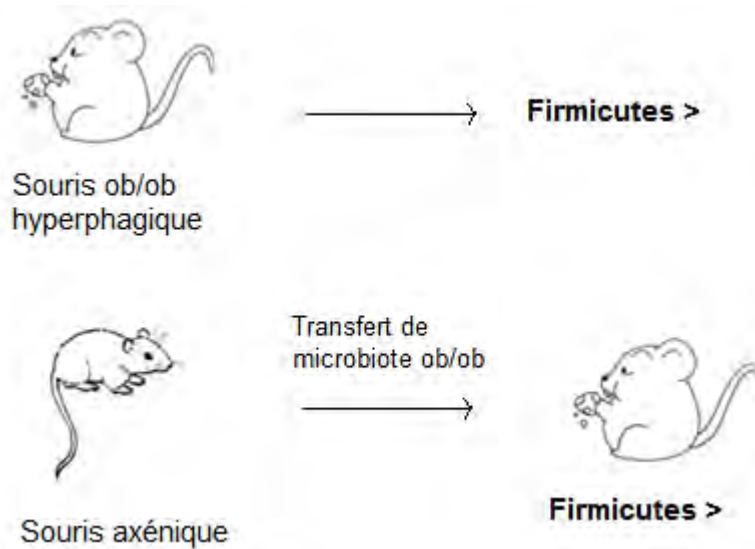
d. Expériences

Des expériences de transplantation de microbiote ont été réalisées avec des souris obèses (ob/ob) hyperphagiques, des souris maigres (+/+) et des souris axéniques.

Les résultats confirment que le microbiote des souris (ob/ob) a une proportion de *Firmicutes* plus élevée que celui des donneuses maigres (+/+).

Les souris axéniques ont été colonisées par le microbiote des souris (ob/ob) ou (+/+). Après colonisation par le microbiote de souris génétiquement obèses, les souris axéniques alimentées avec un régime gras de type occidental ont gagné plus de poids que leurs homologues inoculées avec le microbiote de souris minces. En d'autres termes, le transfert d'un microbiote « obèse » induit l'obésité ; il y a transfert de phénotype.

En outre, le bénéficiaire du microbiote (ob/ob) a une proportion significativement plus importante de *Firmicutes* que le bénéficiaire (+/+).



Ces études chez l'animal suggèrent fortement que le microbiote puisse être un facteur étiologique dans le développement de l'obésité, bien que le mécanisme reste à expliquer [36] [39].

Dans une étude menée aux Etats-Unis, des chercheurs ont récolté le microbiote intestinal de jumeaux adultes discordants pour l'obésité : un était mince et l'autre obèse. Ces microbiotes ont ensuite été implantés chez des souris axéniques. Les souris disposant des flores « minces » sont restées minces, alors que celles ayant reçu la flore des sujets obèses ont pris du poids, en suivant le même régime alimentaire. Les scientifiques ont ensuite placé les deux types de souris dans le même espace ; en effet, les rongeurs sont coprophages, ils peuvent se nourrir de matière fécale, et les souris se sont donc échangées les bactéries. La flore « mince » s'est rapidement implantée chez les souris à flore « obèse » qui n'ont alors pas continué à grossir. En revanche, les souris maigres ont conservé leur poids de départ. Cela s'expliquerait par le fait que la flore intestinale plus pauvre des obèses laisserait des niches pour l'implantation de nouveaux microbes provenant de la flore plus diversifiée des sujets minces ; le contraire serait impossible. Aussi, les bactéries associées au microbiote maigre auraient une plus grande capacité de fermentation que le microbiote obèse, ce qui favoriserait la perte de poids.

Les chercheurs ont ensuite remplacé la nourriture des souris par des aliments humains plus ou moins riches, et se sont rendu compte que cela avait une influence fondamentale sur le transfert de la flore intestinale. Ainsi, lorsqu'ils ont donné aux

rongeurs des repas très riches, les souris obèses ont continué à grossir en présence des selles des souris minces et la flore n'a pas été modifiée. Il existerait donc une relation étroite entre l'alimentation et la composition du microbiote intestinal [40].

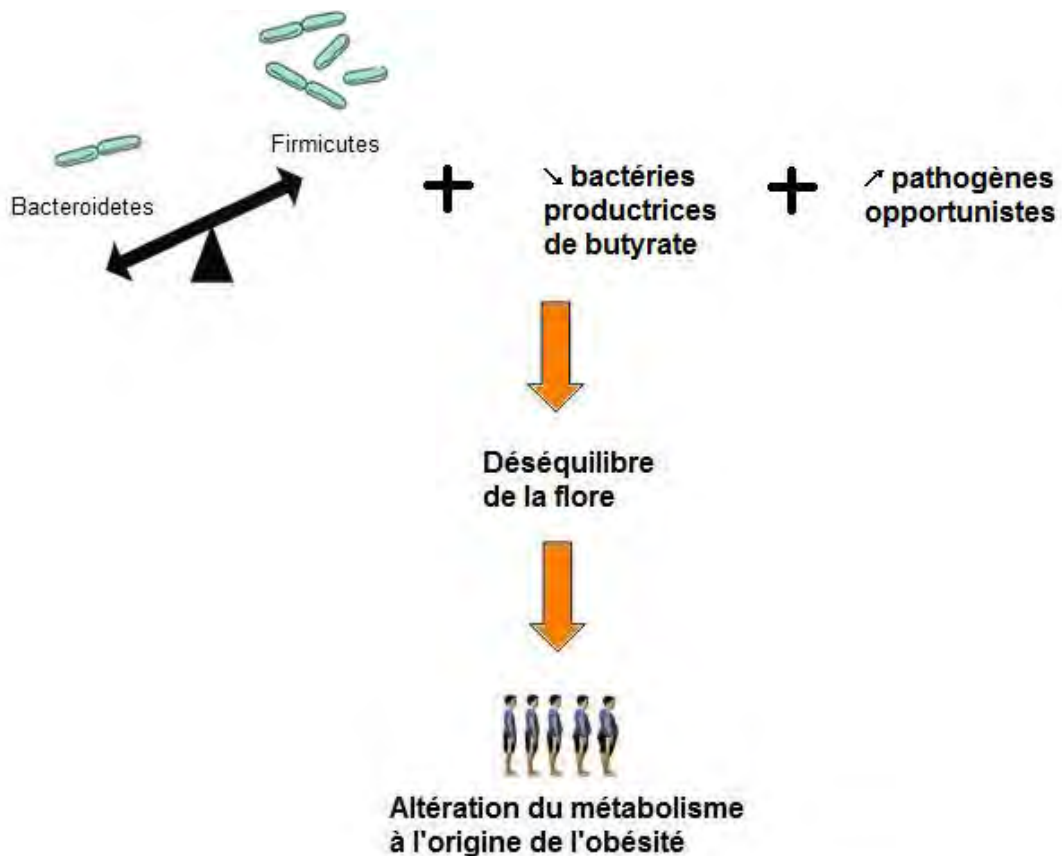


Figure 8 : le microbiote intestinal comme cause des désordres métaboliques

II. Modification du stockage énergétique

Une des nombreuses capacités du microbiote intestinal serait la récupération de l'énergie issue de l'alimentation.

Le bilan énergétique est l'équilibre entre la quantité d'énergie absorbée et les besoins. Sur une année, des variations minimales de cet équilibre peuvent entraîner une augmentation du poids corporel. Par conséquent, tous les mécanismes impliqués dans la modification de l'équilibre énergétique pourraient contribuer à la régulation du poids corporel.

Expérimentalement, la colonisation de souris sans germes par un microbiote provenant de souris classiques provoque une augmentation de la graisse corporelle dans les 10-14 jours, malgré une diminution de la consommation d'aliments.

En outre, les souris axéniques contraintes à une forte consommation d'énergie ne développent pas d'obésité [36].

Ce genre d'étude laisse à penser que la présence du microbiote intestinal favoriserait le stockage de l'énergie.

Mais d'autres études ont démontré que certains constituants de l'alimentation, les glucides non digérés dans la partie haute de l'intestin et fermentés par certaines bactéries de la flore colique (par exemples les fibres), peuvent modifier le microbiote intestinal, et permettre de diminuer le poids corporel, la stéatose hépatique, le développement de la masse adipeuse et la sévérité du diabète. Cela suggère donc que la nature de la flore peut influencer le comportement, voire le métabolisme, des individus vis-à-vis des nutriments ingérés.

Nous avons vu que les bactéries du genre *Bifidobacterium* spp., très largement développées dans le colon, jouent un rôle majeur dans cette fermentation, et peuvent modifier sélectivement la composition du microbiote intestinal.

Les glucides non digestibles sont en fait des prébiotiques et les bifidobactéries des probiotiques [41].

1. Fermentation de glucides non digestibles

Un des principaux rôles de la flore intestinale est d'extraire l'énergie ingérée dans la partie haute de l'intestin, via la fermentation.

Les glucides non digestibles, qui échappent à la digestion par les enzymes du tractus digestif supérieur, contiennent de l'énergie. Les bactéries intestinales vont fermenter ces glucides (pour extraire et absorber l'énergie non digérée) en acides gras à chaîne courte (AGCC), principalement le butyrate, l'acétate et le propionate.

Les AGCC sont reconnus pour être une source importante d'énergie, permettant de maintenir l'équilibre énergétique. En effet, ils peuvent être utilisés par le foie pour la synthèse *de novo* des lipides et du glucose, qui sont utilisés en tant que principales sources d'énergie pour l'hôte.

En outre, cela pourrait expliquer pourquoi les souris axéniques sont plus maigres que les souris classiques : elles ne possèdent pas les bactéries nécessaires à la fermentation des glucides non digestibles en AGCC et ont donc moins d'énergie.

En plus d'être une source d'énergie et de nutriments, les AGCC agissent comme des molécules de signalisation. Ils diffusent passivement, sont récupérés par des transporteurs d'acides monocarboxyliques, ou agissent comme des molécules de signalisation par liaison à des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) tels que la protéine G liée au récepteur 41 (GPR41) et la protéine G liée au récepteur 43 (GPR43). Ces RCPG sont exprimés par de nombreux types cellulaires, y compris les cellules épithéliales de l'intestin, les adipocytes et les cellules du système immunitaire.

Des arguments expérimentaux suggèrent alors que la fermentation des glucides non digestibles n'augmente pas la masse grasse. En effet, une étude de Kimura et al a démontré que les souris déficientes en GPR43 sont obèses, même avec un régime alimentaire normal, alors que les souris sur-exprimant ce récepteur spécifiquement dans le tissu adipeux restent maigres, indépendamment de la consommation de nourriture.

Les auteurs ont pu démontrer que l'activation de GPR43 médiée par les AGCC conduit à la suppression de la signalisation de l'insuline dans les adipocytes et empêche l'accumulation de lipides dans le tissu adipeux ; cela favorise le métabolisme des lipides et du glucose dans les muscles et le foie.

Un régime alimentaire riche en graisse induit une résistance à l'insuline significativement accrue chez les souris déficientes en GPR43, par rapport aux souris de type sauvage. Un traitement antibiotique chez des souris de type sauvage entraîne aussi une résistance à l'insuline.

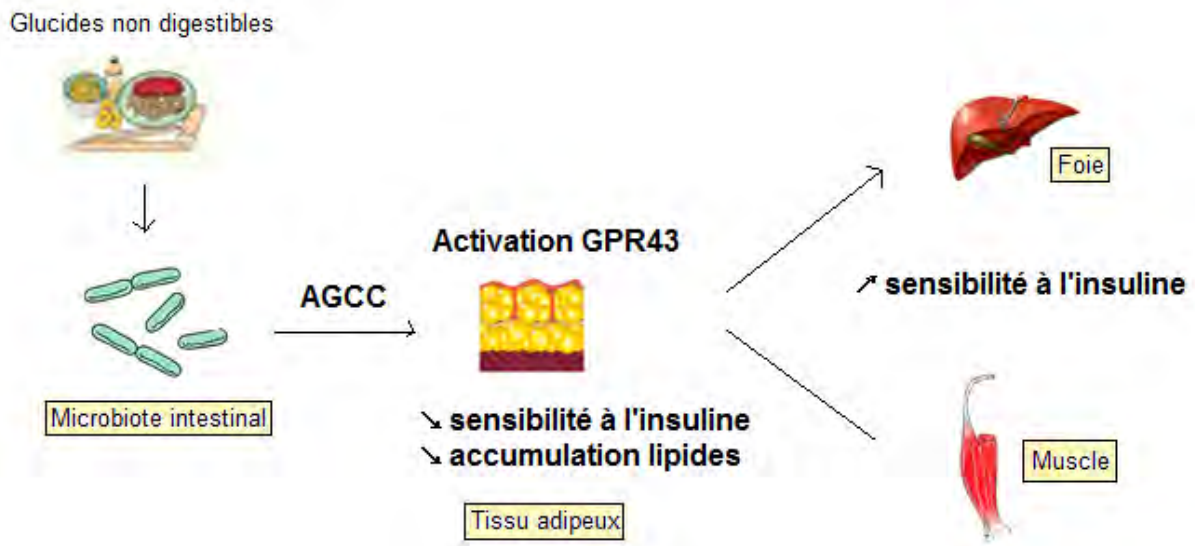


Figure 9 : rôle de GPR43 comme capteur de l'excès d'énergie alimentaire

Par conséquent, GPR43 peut fonctionner comme un capteur d'énergie capable d'utiliser l'énergie excédentaire dans d'autres tissus plutôt que de la stocker sous forme de graisse dans le tissu adipeux, maintenant ainsi l'homéostasie métabolique [42].

L'activation de GPR43 améliore également la sensibilité à l'insuline en favorisant la sécrétion du glucagon-like peptide 1 (GLP-1), produit par les cellules L de l'intestin et impliqué dans la régulation de l'appétit. En relation avec les AGCC, GLP-1 serait capable de stimuler la sécrétion d'insuline par le pancréas et d'exercer un effet favorable sur la réponse à l'insuline.

Modifier le microbiote intestinal des animaux à l'aide de fibres non digestibles (comme le fructane) permet alors d'améliorer les altérations métaboliques induites par un régime hyper-lipidique (effet satiétogène, diminution de la stéatose hépatique, diminution de la masse adipeuse, amélioration de la tolérance au glucose et de la sensibilité à l'insuline...), et ces effets sont principalement gérés par l'augmentation de la production endogène de GLP-1 [43].

Les fructanes (par exemple l'inuline) sont des polysaccharides souvent retrouvés dans l'alimentation humaine, mais résistants à la digestion par le tractus digestif supérieur. Ils ont la particularité d'avoir un effet prébiotique : ils sont largement fermentés et utilisés comme source d'énergie par certaines bactéries de la flore colique, et notamment les bactéries du genre *Bifidobacterium* spp., qui se

développent davantage dans le côlon et changent ainsi sélectivement la composition du microbiote.

Ainsi, les AGCC sont une source importante d'énergie pour l'hôte, et agissent comme des molécules de signalisation en particulier dans le tissu adipeux, maintenant ainsi l'équilibre énergétique systémique.

Par conséquent, une alimentation riche en fibres pourrait améliorer la sensibilité à l'insuline et la tolérance au glucose chez les sujets diabétiques minces et obèses.

Plusieurs études épidémiologiques ont d'ailleurs montré que les régimes riches en fibres alimentaires sont associés à un risque réduit de diabète :

- Les fibres alimentaires solubles réduisent les taux de glucose postprandiaux et améliorent la sensibilité à l'insuline chez les personnes diabétiques ;

- Elles favorisent l'augmentation de l'absorption du glucose dans les muscles squelettiques et améliorent la sensibilité à l'insuline en augmentant la viscosité du contenu de l'estomac ;

- Bien que les fibres insolubles soient principalement non visqueuses et aient des effets négligeables sur la glycémie postprandiale, la plupart des études épidémiologiques montrent tout de même clairement que la consommation accrue de fibres de céréales essentiellement insolubles et de grains entiers est recommandée pour améliorer la sensibilité à l'insuline [44].

2. LPL

Le fait de coloniser l'intestin de souris axéniques avec une flore normale entraîne également l'augmentation de l'activité d'une enzyme : la lipoprotéine lipase (LPL), produite notamment par le foie et le tissu adipeux. Celle-ci va catalyser la libération des acides gras à partir des triglycérides associés aux lipoprotéines circulantes, entraînant la captation des acides gras par le muscle et le tissu adipeux.

Un facteur circulant de l'intestin, le fasting-induced adipose factor (FIAF), inhibe la LPL. La suppression de FIAF par la flore intestinale serait donc à l'origine d'une augmentation d'activité de la LPL, provoquant par conséquent l'accumulation de lipides.

La faible quantité de graisse corporelle chez la souris axénique est due à la suppression de la néolipogenèse hépatique et à l'inhibition du stockage des triglycérides dans le tissu adipeux blanc. Ce dernier effet est dû à une production excessive de FIAF dans l'intestin de la souris axénique [39].

3. AMPK

Enfin, le phénotype mince observé chez la souris axénique est associé à un accroissement de la concentration de l'AMPK⁸ phosphorylée dans le muscle et le foie. L'AMPK est un détecteur intracellulaire de l'état énergétique ; quand elle est phosphorylée, elle active les gènes intervenant dans l'oxydation des acides gras, entraînant une augmentation de l'oxydation des graisses chez la souris axénique.

Outre cet effet, l'AMPK pourrait aussi agir sur le contrôle de la satiété au niveau hypothalamique. Il a été décrit que l'activité de l'AMPK hypothalamique varie avec le statut nutritionnel ; elle est activée à jeun et inhibée en période de satiété. Des hormones connues pour agir en fonction de l'état nutritionnel pourraient également moduler l'activité de l'AMPK : la ghréline et les endocannabinoïdes activent l'AMPK et induisent la prise alimentaire alors que l'insuline, le glucose et la leptine ont un effet opposé.

L'activation de l'AMPK et une concentration élevée de FIAF sont probablement deux mécanismes indépendants induisant l'oxydation des graisses et protégeant la souris axénique contre l'obésité induite par l'alimentation [45] [46].

⁸ Adenosine monophosphate protein kinase

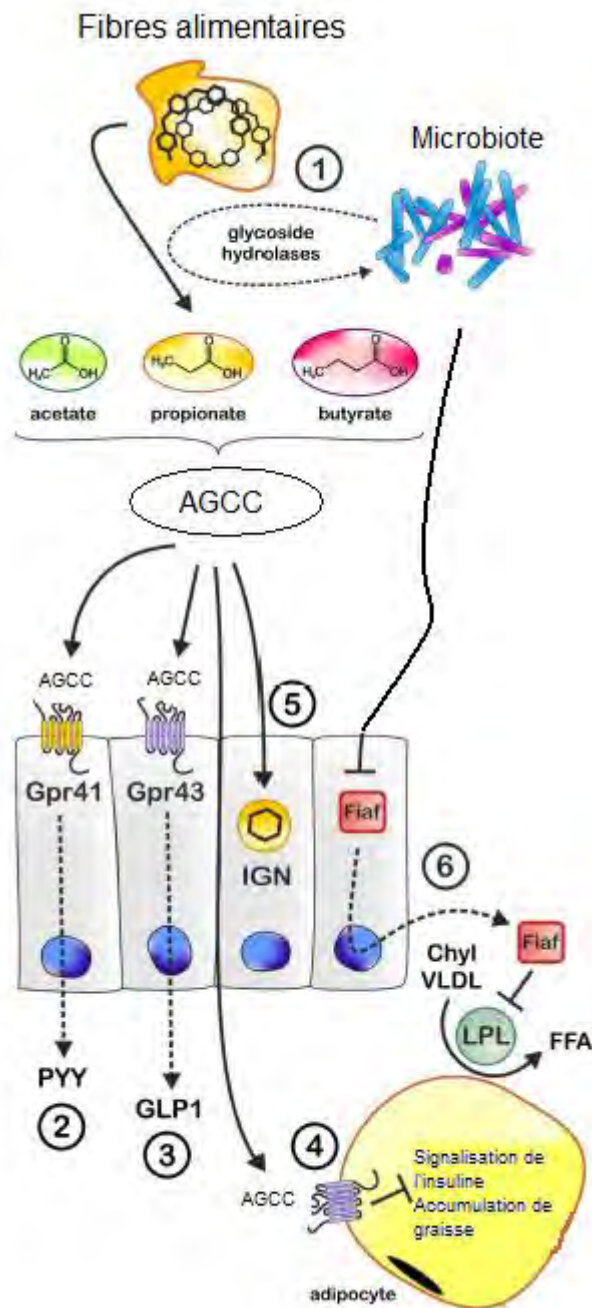


Figure 10 : différentes voies de régulation énergétique [43]

(1) Les glycosides hydrolases bactériennes clivent les glucides complexes dérivés des fibres alimentaires pour produire des AGCC, tels que l'acétate, le propionate et le butyrate.

(2) L'activation AGCC-dépendante de la protéine G liée au récepteur 41 (GPR41) induit l'expression du peptide YY, une hormone qui inhibe la motilité intestinale, augmente le taux de transit intestinal, et procure une impression de satiété.

(3) L'activation de GPR43 et GPR41 par les AGCC entraîne la sécrétion de GLP-1 permettant de ralentir la vidange gastrique, inhiber le glucagon, stimuler la production d'insuline par le pancréas et la trophicité pancréatique.

(4) L'activation de GPR43 dans les adipocytes inhibe la signalisation de l'insuline et inhibe l'accumulation de graisse dans le tissu adipeux.

(5) Le butyrate et le propionate activent la néoglucogénèse intestinale (IGN) ; le butyrate par un mécanisme AMPc-dépendant, et le propionate via un circuit neuronal intestin-cerveau impliquant GPR41.

(6) Le microbiote intestinal supprime l'expression du facteur adipeux (FIAF), favorisant ainsi l'activité de la LPL et l'accumulation de lipides [43].

III. Inflammation

Une autre explication de l'impact du microbiote sur les maladies métaboliques serait l'apparition d'une inflammation favorisant l'insulinorésistance et le développement du tissu adipeux.

1. Désordres immunitaires

Comme vu précédemment, les AGCC agissent comme molécules de signalisation par liaison à GPR43. Or, ce dernier est exprimé au niveau des cellules du système immunitaire, pouvant ainsi jouer un rôle dans les mécanismes de l'inflammation.

D'après les études, les souris axéniques, qui sont dépourvues de bactéries et expriment donc peu ou pas d'AGCC, ont montré une dysrégulation de certaines réponses inflammatoires. La liaison entre GPR43 et AGCC peut donc fournir un lien moléculaire entre l'alimentation, le métabolisme bactérien gastro-intestinal, et les réponses immunitaires et inflammatoires.

Par exemple, une composition modifiée de la flore intestinale, provoquée par un régime alimentaire occidental ou par l'utilisation d'antibiotiques, a été suggérée comme une raison de l'incidence accrue de l'asthme et des allergies chez les humains. Les interactions entre AGCC et GPR43 pourraient représenter un mécanisme central dans la compréhension des rôles de l'alimentation, des prébiotiques et des probiotiques sur les réponses immunitaires [47].

2. Baisse d'action de l'insuline

Elle s'explique par la sécrétion du TNF- α , particulièrement délétère pour l'action de l'insuline. Le TNF- α fait parti de la famille des cytokines pro-inflammatoires ; ces cytokines, parmi lesquelles on retrouve aussi l'IL-1 et l'IL-6, sont des glycoprotéines synthétisées par certaines cellules en réponse à divers stimuli ; leur fonction est d'assurer la communication entre les cellules. Les cytokines pro-inflammatoires vont être à l'origine d'une inflammation.

Normalement, le récepteur à l'insuline (*Insulin receptor substrate*, IRS) transmet l'information hormonale vers les fonctions cellulaires, telles que le transport de glucose, par l'intermédiaire de l'activation d'une tyrosine kinase. Des substrats de l'IRS sont phosphorylés en tyrosine pour véhiculer l'information. Cependant, l'activation du récepteur du TNF- α induit une signalisation intracellulaire inhibant la phosphorylation de l'IRS1 (premier substrat identifié de la tyrosine kinase), entraînant le blocage du message de l'insuline. On observe alors une insulino-résistance, un hyperinsulinisme, une hyperglycémie et la redistribution des flux métaboliques vers les organes de stockage (foie et tissu adipeux) [39].

3. Augmentation de la plasticité des tissus adipeux

Elle résulterait de macrophages infiltrant les dépôts. En effet, plusieurs études chez l'Homme et l'animal ont récemment démontré qu'un grand nombre de macrophages infiltrent le tissu adipeux chez l'obèse, alors qu'ils sont rares chez l'individu mince.

Des expériences de transplantation de moelle osseuse chez la souris indiquent que les macrophages du tissu adipeux seraient recrutés à partir des monocytes circulants. Les mécanismes facilitant l'infiltration macrophagique dans les tissus sont partiellement connus. Dans le tissu adipeux, l'expression de protéines impliquées dans l'attraction des monocytes, dont le facteur MCP-1⁹, est augmentée chez les sujets obèses et diminue après une perte de poids. L'importance de MCP-1 a été confirmée dans un modèle murin, où la délétion du gène CCR2, récepteur de MCP-1, atténue l'infiltration macrophagique et le profil pro-inflammatoire induit par le régime gras dans le tissu adipeux.

⁹ Monocyte Chemoattractant Protein-1

D'autre part, une étude récente rapporte que la leptine stimule l'adhésion de macrophages dérivés de monocytes humains sur des cellules endothéliales isolées du tissu adipeux. Cet effet passe par la stimulation de l'expression de protéines d'adhésion telles qu'ICAM-1¹⁰ et PECAM¹¹.

Enfin, dans certaines tumeurs et dans la plaque d'athérome, l'hypoxie tissulaire est une cause classique d'attraction et de différenciation macrophagique des monocytes. Il est possible que le tissu adipeux de l'obèse présente des zones hypoxiques favorisant localement l'expression de facteurs attracteurs ou de survie des macrophages. En effet, la sous-unité α du facteur HIF-1¹² relayant les effets géniques de l'hypoxie, ainsi que plusieurs gènes cibles de HIF-1, font partie des gènes fortement surexprimés dans le tissu adipeux de l'obèse et diminués en réponse à la perte de poids. De plus, le gène de la leptine est inductible par l'hypoxie, via l'activation de son promoteur par HIF-1. L'hypoxie tissulaire pourrait provoquer une surproduction locale de leptine, favorisant le recrutement des macrophages chez l'obèse.

Par la suite, ces macrophages seraient à l'origine de la production de cytokines (IL6, TNF- α), celles-ci entraînant le recrutement de précurseurs angiogéniques et de préadipocytes. Ces précurseurs prépareraient les vaisseaux et les adipocytes nécessaires au stockage de l'excès d'énergie [48] [49].

4. LPS

Les chercheurs ont découvert que le lipopolysaccharide (LPS), issu des bactéries Gram-négatives, présent dans l'intestin, pourrait être un facteur responsable des troubles métaboliques, au cours d'une alimentation riche en graisse.

Une alimentation riche en lipides pourrait augmenter l'absorption de LPS ; en effet, celui-ci stimule la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires en se liant à son complexe CD14/TLR4 présent à la surface des cellules immunitaires. Or, des souris contraintes à un régime hyper-lipidique secrètent une plus grande quantité de

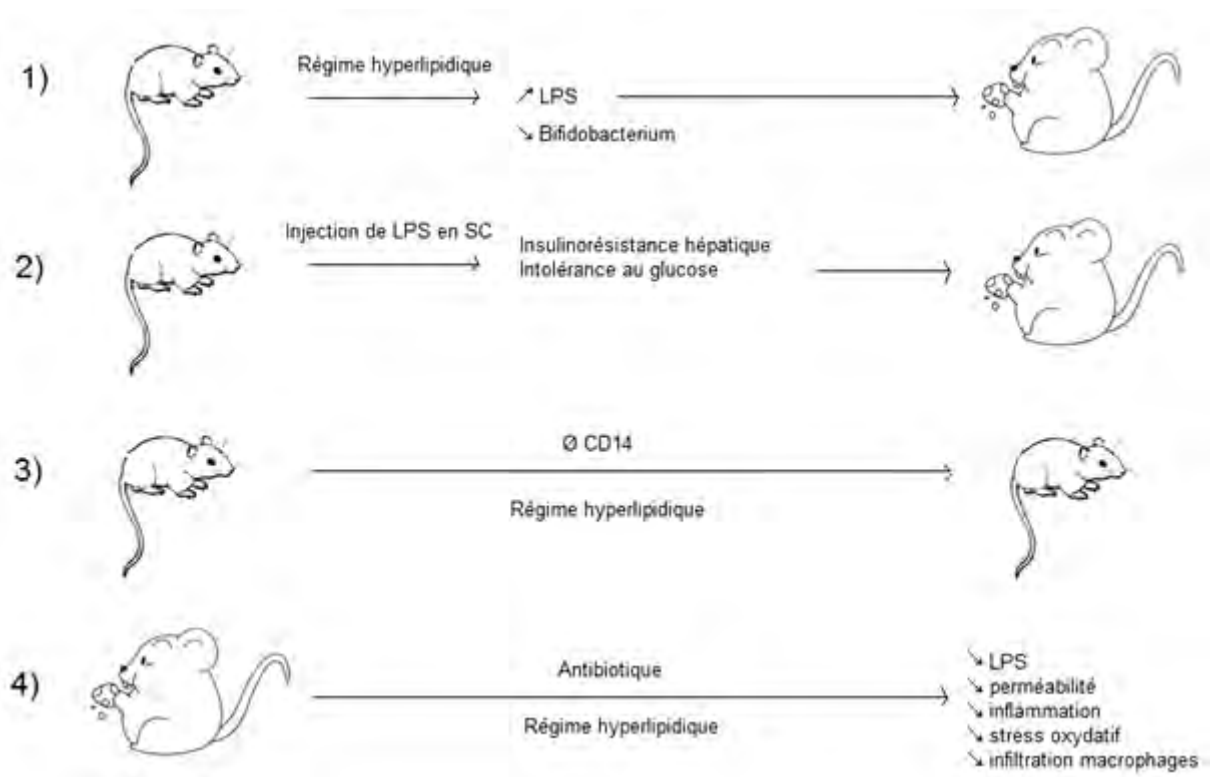
¹⁰ Intracellular Adhesion Molecule

¹¹ Platelet/Endothelial Cell Adhesion Molecule

¹² Hypoxia Inducible Factor

cytokines et chémokines¹³ que les souris nourries avec une teneur en graisse normale.

Afin de démontrer que le LPS est un facteur à l'origine de désordres métaboliques, plusieurs études sur l'animal ont été réalisées :



1) Chez des souris soumises à un régime riche en lipides, on observe une augmentation du taux de LPS dans le sang, qualifiée d'endotoxémie métabolique. On observe l'apparition d'une insulinorésistance périphérique (muscles, tissu adipeux).

Dans ce modèle, l'analyse du microbiote intestinal a révélé une diminution drastique du nombre de *Bifidobacterium* spp. (Gram positives), mais aussi des bactéries du groupe des *Eu. Rectale/Ci. Coccoides* et des bactéries intestinales associées aux *Bacteroides* (Gram négatives). Il y aurait donc une corrélation entre le nombre de bifidobactéries et l'endotoxémie. Des variations de certaines souches bactériennes pourraient donc influencer les modulations accompagnant l'obésité [50].

¹³ Les chémokines, ou chimiokines, appartiennent à une classe de cytokines pro-inflammatoires qui ont la capacité d'attirer et d'activer des leucocytes.

2) En injectant pendant un mois du LPS en sous-cutané à des souris soumises à un régime normal, on observe une intolérance au glucose, une insulino-résistance hépatique et une prise de poids. La détermination de l'expression génique des cytokines pro-inflammatoires TNF- α , PAI1, IL-1 et IL-6 montre une réponse inflammatoire au niveau du muscle, du foie et du tissu adipeux de ces souris [51].

3) Des souris dépourvues de CD14 (récepteur du LPS) et soumises à un régime hyper-lipidique ont été analysées ; on observe qu'elles résistent à la prise de poids [31]. De même, lors d'une perfusion chronique de LPS chez des souris sauvages et chez des mutantes CD14, les données ont montré que le gain de poids corporel et les dépôts adipeux viscéral et sous-cutané ont été augmentés chez les souris sauvages, mais pas chez les souris dépourvues de CD14 [51].

Aussi, l'apparition de l'insulino-résistance est retardée par rapport aux souris sauvages bien qu'au terme de 24 semaines de régime gras les deux génotypes de souris développent une intolérance aux glucides.

4) Lorsqu'on administre un antibiotique à des souris obèses et soumises à un régime gras, on observe une récupération de l'intégrité de leur épithélium intestinal : le traitement réduit significativement les taux plasmatiques de LPS, la perméabilité intestinale, l'apparition de l'inflammation viscérale du tissu adipeux, le stress oxydatif, l'infiltration des macrophages, et les troubles métaboliques ; le microbiote pourrait donc contrôler la perméabilité intestinale déterminant l'apparition de l'endotoxémie.

Chez l'Homme, des arguments ont été apportés selon lesquels le taux de LPS issus de la flore intestinale était significativement augmenté chez les diabétiques de type 2 ou lors de l'absorption d'un régime riche en gras [52].

De nombreuses études ont confirmé le fait qu'un régime riche en lipides induit une endotoxémie métabolique chez les Hommes sains et obèses.

Tout d'abord, les concentrations de base en LPS chez des Hommes sains ont été mesurées, et on a constaté qu'un repas riche en graisse provoquait une endotoxémie métabolique, induisant rapidement une inflammation.

En outre, il a été montré que l'endotoxémie métabolique augmente les concentrations de TNF- α et d'IL-6 et l'insulino-résistance chez des volontaires sains [53].

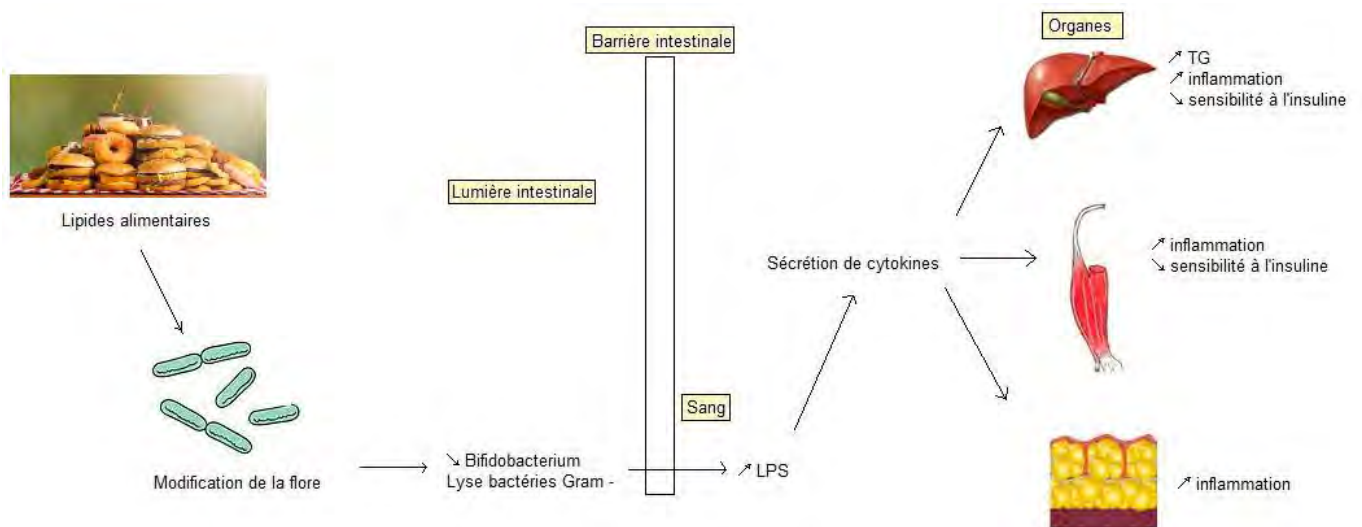


Figure 11 : origine de l'inflammation induite par un régime riche en lipides

En résumé, l'excès lipidique, en modifiant la flore intestinale, augmente la disponibilité du LPS au niveau général, ce qui favorise la production de cytokines inflammatoires via CD14 puis l'insulinorésistance. Les auteurs suggèrent que les conditions nutritionnelles par le biais de la flore intestinale peuvent ainsi favoriser non seulement l'obésité, mais également des anomalies métaboliques graves comme l'insulinorésistance. Pour étayer cette hypothèse, les chercheurs ont modifié la flore intestinale de souris soumises au régime gras par une alimentation riche en fibres fermentescibles (oligofructose). Comme vu précédemment, ces fibres sont connues pour favoriser la croissance de bactéries de type *Bifidobacterium*, capables de réduire le niveau d'endotoxine plasmatique en modifiant les propriétés de la muqueuse intestinale. À la suite de cette modification alimentaire chez des souris en régime gras, les auteurs ont pu constater la normalisation des paramètres inflammatoires systémiques et des paramètres métaboliques altérés (insulinorésistance, intolérance au glucose) [54].

5. Perméabilité intestinale

Parmi les causes potentielles du développement de l'endotoxémie métabolique, de nombreuses études estiment que l'association hôte-microbiote commanderait la fonction de barrière intestinale.

a. Protéines de jonctions serrées

L'endotoxémie métabolique peut résulter de plusieurs mécanismes, y compris l'augmentation de la production d'endotoxines liée à des changements du microbiote intestinal. Dans des conditions physiologiques, l'épithélium intestinal constitue une barrière efficace et continue qui empêche la translocation bactérienne. Cependant, diverses situations endogènes et/ou exogènes sont associées à une altération de cette fonction de protection. Parmi les facteurs reconnus, le stress, la consommation d'alcool et l'exposition à des radiations ont été proposés. En outre, des changements dans la distribution et la localisation de la Zonula occludens-1 (ZO-1) et de l'Occludine (deux protéines de jonctions serrées) dans le tissu intestinal sont associés à l'augmentation de la perméabilité intestinale chez les rongeurs obèses et diabétiques.

Diverses théories ont vu le jour pour expliquer ces modifications. Une étude a démontré que la modification, avec des prébiotiques, de la flore intestinale de souris génétiquement obèses, est associée à une amélioration significative de la perméabilité intestinale mesurée in vivo ; ce phénomène est lié à l'augmentation de l'expression de l'ARNm des jonctions serrées et à une meilleure distribution des protéines. Dans cette étude, les chercheurs ont constaté que l'amélioration de la fonction de barrière était fortement corrélée à une réduction du taux de LPS et de l'inflammation de bas grade. De plus, ils ont démontré que la réduction de l'inflammation systémique était corrélée à la diminution du stress oxydatif et de l'inflammation dans le foie.

Bien que ces données suggèrent que la modulation du microbiote intestinal, grâce à des prébiotiques, pourrait agir favorablement sur la barrière intestinale, les mécanismes par lesquels les prébiotiques améliorent la perméabilité intestinale dans le contexte particulier de l'obésité restent à élucider.

b. GLP-2

Des études ont été menées pour déterminer le rôle d'un peptide intestinal impliqué dans le contrôle de la prolifération des cellules épithéliales et de l'intégrité de la barrière intestinale, à savoir le glucagon-like peptide-2 (GLP-2). En effet, GLP-1 et GLP-2 sont produites et sécrétées par les cellules L ; or, chez les sujets sains, une

alimentation par des fructanes de type inuline a augmenté de manière significative la fermentation du microbiote intestinal. Dans ces études, l'alimentation par des prébiotiques a été associée à une augmentation des taux plasmatiques de GLP-1. Au vu de ces résultats, des chercheurs se sont alors penchés sur l'étude de GLP-2.

L'augmentation de la production endogène de GLP-2 suite à l'administration de prébiotiques a été associée à une amélioration de la fonction de barrière de la muqueuse par la restauration de l'expression et de la distribution des protéines de jonctions serrées. Afin d'approfondir le rôle de GLP-2, les chercheurs ont bloqué les récepteurs du GLP-2, toujours en associant le prébiotique, et ont observé le blocage des principaux bénéfices observés habituellement avec le traitement. Par conséquent, sans un récepteur fonctionnel de GLP-2, les prébiotiques ne réduisent pas l'endotoxémie métabolique, l'inflammation hépatique et les marqueurs de stress oxydatif.

Ces données appuient l'idée que des changements spécifiques dans le microbiote intestinal améliorent la perméabilité intestinale et l'inflammation via un mécanisme GLP-2-dépendant.

c. Système endocannabinoïde

Un autre mécanisme pourrait être impliqué dans l'impact de la flore intestinale sur le développement de l'obésité et des troubles associés : le système endocannabinoïde (BCE).

Dans l'obésité induite par l'alimentation et chez des souris génétiquement obèses, le système BCE est suractivé dans l'intestin et dans le tissu adipeux. Les chercheurs ont découvert que le système BCE, et plus particulièrement le récepteur CB₁, contrôle la fonction de barrière intestinale. Par exemple, le blocage de CB₁ chez des souris obèses réduit la perméabilité intestinale grâce à une meilleure distribution des protéines de jonctions serrées (ZO-1 et Occludine).

Selon différentes expériences, des changements spécifiques dans le microbiote intestinal pourraient diminuer de manière sélective l'activité du système BCE dans le côlon et dans le tissu adipeux.

d. En résumé

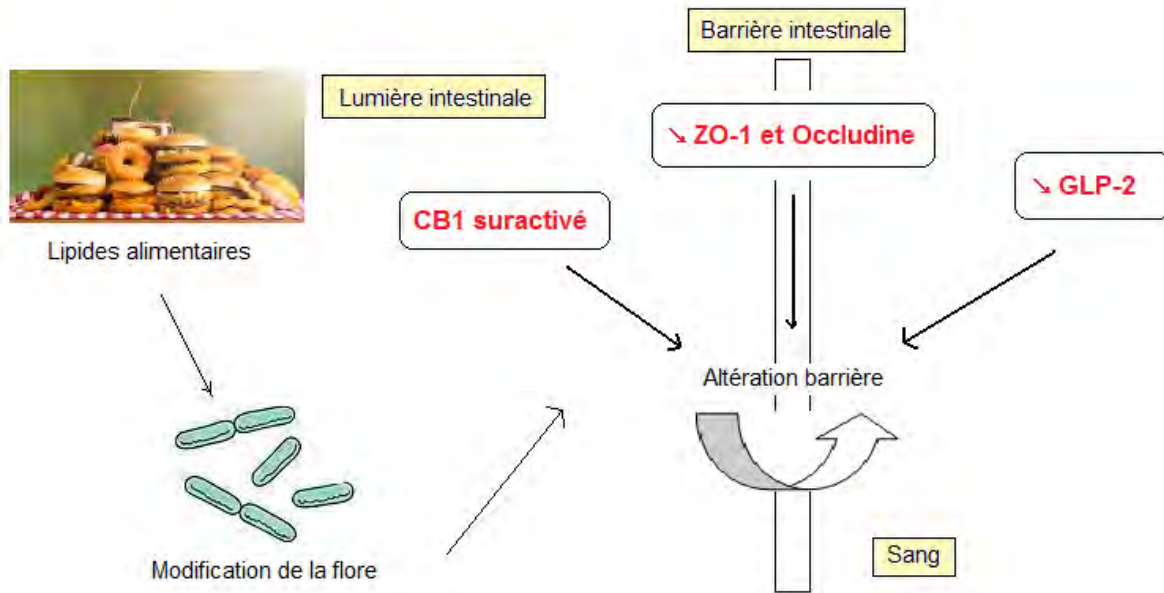
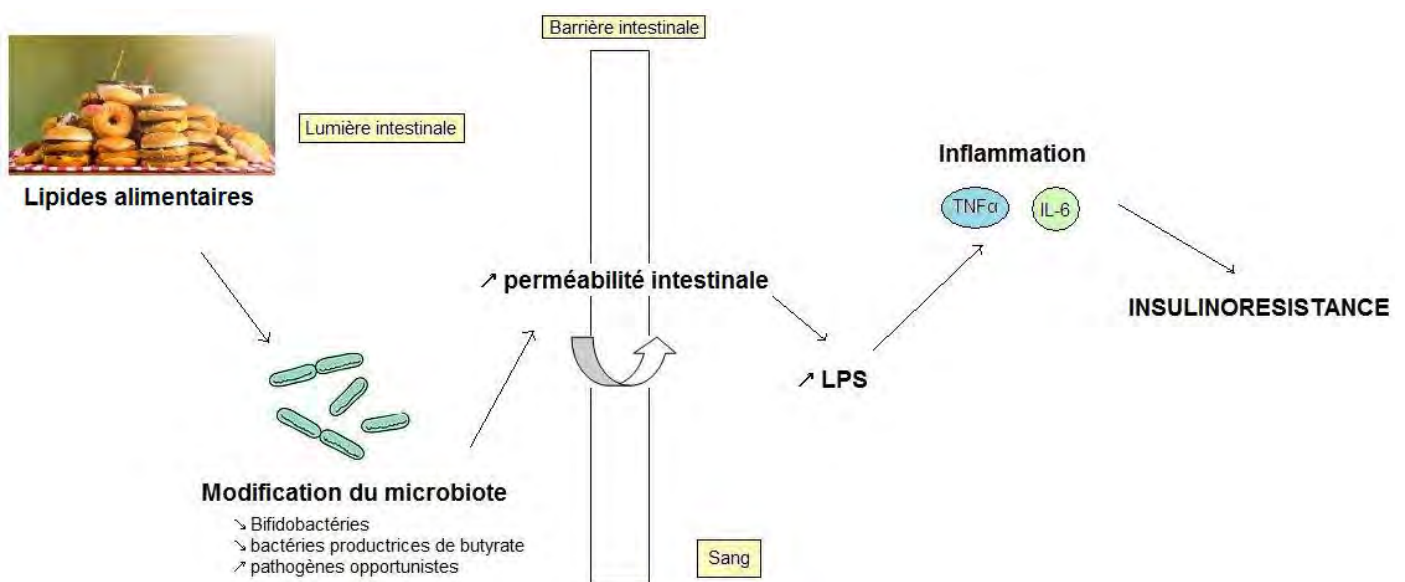


Figure 12 : différents acteurs influant sur la perméabilité intestinale

Néanmoins, il convient de noter que, même si de fortes corrélations existent entre la composition de la flore intestinale et les éléments contrôlant la fonction de barrière, la participation directe de la flore microbienne doit être clarifiée [55].

IV. Synthèse : mécanisme physiopathologique du diabète lié à la flore



Tel que décrit précédemment, le microbiote intestinal interagit avec le métabolisme de l'hôte, conduisant à la résistance à l'insuline et au diabète de type 2. Plusieurs mécanismes sont impliqués, notamment l'induction de l'inflammation de bas grade et les altérations de l'homéostasie énergétique et du métabolisme du glucose. Une alimentation riche en lipides est responsable d'une perturbation de la population microbienne intestinale ; les études issues de modèles animaux et humains ont montré qu'une alimentation riche en graisse peut moduler le microbiote intestinal et augmenter les taux circulants de LPS, probablement par augmentation de la perméabilité intestinale.

Le LPS bactérien, dérivé de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, induit une endotoxémie métabolique par la promotion de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Le LPS se lie à des récepteurs Toll-like 4 (TLR4) et active le complexe CD14/TLR4, qui active à son tour les voies de signalisation pro-inflammatoires responsables d'une inflammation de bas grade et donc d'une diminution de la sensibilité à l'insuline.

Pour conclure, en plus des facteurs de risque établis pour le diabète de type 2, à savoir la prédisposition génétique, l'activité physique médiocre et l'obésité, la modification de la configuration microbienne de notre intestin apparaît comme un nouveau candidat pouvant être lié au DNID.

Des altérations dans le microbiote intestinal ont été liées à la prévalence croissante des troubles métaboliques comme l'obésité, la résistance à l'insuline et le diabète de type 2. Les études sur les animaux ont permis d'élucider les mécanismes sous-jacents et ont soutenu un rôle causal de la flore intestinale dans les maladies métaboliques. Cependant, les études chez l'homme n'ont jusqu'à présent pas réellement montré si la modification du microbiote intestinal est une cause ou une conséquence du diabète de type 2 [56].

PARTIE 4 :
APPROCHES
THERAPEUTIQUES
ET HYPOTHESES

I. Moyens de modification du microbiote

1. Probiotiques

a. Définition

Les probiotiques, du grec « pro » = pour et « bio » = la vie, par opposition aux antibiotiques, sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, ont des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte.

Les espèces les plus communément retrouvées sont les *Lactobacillus*, les *Bifidobacterium*, ou encore la levure *Saccharomyces cerevisiae*, bien que d'autres genres peuvent également être utilisés. Cependant, il n'existe pas de probiotique « universel » : une souche donnée sera efficace dans une indication donnée [57].

Il existe quatre grands groupes de probiotiques :

- Les ferments lactiques

Ils ont la capacité de produire de l'acide lactique à partir de sucres comme le lactose.

Ils sont regroupés en deux catégories, en fonction de leur morphologie :

- les Lactobacilles (*Lactobacillus bulgaris*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus caséi*) ;

- les coques (Entérocoques et Streptocoques).

- Les Bifidobactéries

Elles appartiennent à la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques. La population de bifidobactéries diminue avec l'âge et les espèces varient selon l'âge.

- Les levures de type *Saccharomyces cerevisiae*

Elles sont principalement utilisées par l'industrie agroalimentaire mais peuvent aussi être utilisées en tant que complément alimentaire.

- Les autres bactéries sporulées, dont *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus* [24].

Ils représentent le traitement curatif ou préventif de certaines pathologies, qu'elles soient digestives ou extra-digestives. Certaines souches ont fait leurs preuves dans

le traitement de l'intolérance au lactose, la prévention et le traitement de la diarrhée aiguë, la prévention de la diarrhée liée à l'antibiothérapie, l'aide à l'éradication d'*Helicobacter pylori* ou le traitement de nombreuses formes du syndrome de l'intestin irritable. Les probiotiques ont également montré leur efficacité lors d'affections gynécologiques, de certains types d'allergies ou de pathologies liées à une baisse d'immunité.

Les caractéristiques d'un bon probiotique sont :

- ne pas être toxique
- ne pas être dégradé par la digestion (acidité gastrique, bile)
- survivre, mais ne pas persister
- ne pas représenter une cible pour les antibiotiques
- avoir un effet sur la santé [58]

b. Origine

Au début du vingtième siècle, Elie Metchnikoff, vice-directeur de l'Institut Pasteur de Paris et prix Nobel de Médecine en 1908, observe le fait que les paysans bulgares, qui sont de grands consommateurs de laits fermentés, vivent vieux et en bonne santé. Il en conclut que l'ingestion de bactéries lactiques vivantes pourrait réduire les désordres intestinaux et augmenter l'espérance de vie.

Par la suite, un pédiatre français, Henri Tissier, observe des différences entre les selles d'enfants sains et celles d'enfants souffrant de diarrhées. Pour lui, l'administration de *Bifides* pourrait rétablir une flore intestinale saine.

Le terme probiotique n'apparaît qu'en 1965, avec Lilly et Stillwell, pour désigner des « substances produites par des microorganismes qui favorisaient la croissance d'autres microorganismes » [59].

c. Où les trouver ?

On les retrouve dans certains aliments (lait fermenté, yaourt, fromage, bière, choucroute, saucisson, poisson fumé...), médicaments ou compléments alimentaires.

- Yaourt

Le yaourt est le plus connu et le plus consommé des laits fermentés. Il est fabriqué grâce à la fermentation du lait par *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Ces bactéries sont considérées comme des probiotiques car elles libèrent la lactase, qui va permettre de digérer le lait, même chez les personnes dépourvues de lactase physiologique. Cependant, ces souches meurent majoritairement dans la partie haute du tube digestif, et n'auraient donc pas d'effet probiotique.

La réglementation spécifie que seuls les laits fermentés contenant les espèces vivantes citées précédemment, n'ayant donc subi aucun traitement thermique après la fermentation, peuvent bénéficier de l'appellation « yaourt ». En cohérence avec cela, tout lait fermenté par d'autres bactéries n'a pas accès à cette appellation et sera donc commercialisé sous l'appellation « lait fermenté » ; ces derniers utilisent des Bifides ou des Lactobacilles. De même, certains produits issus de la technologie des laits fermentés et contenant des bactéries vivantes peuvent ne pas avoir accès à l'appellation « lait fermenté », par exemple en raison de l'ajout d'ingrédients (laitiers ou non) non prévus par la réglementation en vigueur ; ils sont alors commercialisés sous l'appellation « spécialité laitière » [60].

- Fromage

Les fromages fermentés, à pâte dure ou molle, contiennent des bactéries du genre *Lactobacillus* et des moisissures, en particulier au niveau de leur croûte, mais aussi dans la pâte comme le roquefort.

- Choucroute

Dans la choucroute, les ferments lactiques se développent et transforment une partie des sucres du chou en acide lactique ; cela permet au chou d'être plus digeste.

- Kéfir

C'est une boisson naturellement gazeuse, obtenue par fermentation de grains de kéfir dans le lait ou dans de l'eau sucrée et fruitée. Les grains de kéfir proviennent de différents endroits dans le monde et peuvent avoir différentes combinaisons de bactéries et de levures ; ils peuvent aussi eux-mêmes évoluer dans le temps [24].

2. Prébiotiques

a. Définition

D'après Gibson et Roberfroid en 1995, les prébiotiques sont des « ingrédients alimentaires non digestibles qui ont un effet bénéfique sur leur hôte en stimulant la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries résidant dans le colon, améliorant ainsi la santé de leur hôte ».

Les prébiotiques sont des substances alimentaires (généralement des oligosaccharides ou des polysaccharides sans amidon) qui nourrissent un groupe sélectif de microorganismes vivant dans l'intestin.

Les prébiotiques les plus connus sont l'oligofructose, l'inuline, les galacto-oligosaccharides, le lactulose, les oligosaccharides du lait maternel. L'oligofructose et l'inuline appartiennent à la famille bien connue des fructo-oligosaccharides (FOS).

Un produit symbiotique contient à la fois des probiotiques et des prébiotiques.

b. Où les trouver ?

L'inuline est retrouvée dans les racines de chicorée et l'oligofructose se trouve naturellement dans de nombreux aliments tels que le blé, les oignons, les bananes, le miel, l'ail et les poireaux [57].

3. Transfert de flore

a. Définition

Le transfert de flore digestive, ou transplantation de microbiote fécal, consiste à administrer un filtrat de selle d'un donneur sain dans le tube digestif d'un patient malade, afin de rééquilibrer le microbiote altéré du receveur. Il n'existe pas encore de protocole standardisé pour cette pratique ; chaque établissement utilise la technique lui paraissant la plus appropriée (lavement, sonde naso-gastrique, coloscopie).

Un certain nombre de travaux scientifiques rapportent l'intérêt thérapeutique du transfert de flore digestive dans certaines pathologies, en particulier lors de récurrences d'infections à *Clostridium difficile* ; c'est aujourd'hui le traitement le plus efficace dans cette maladie, lorsque les traitements habituels n'ont pas fonctionné.

D'autres pathologies représentent des cibles potentielles, telles que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), les troubles fonctionnels intestinaux, l'obésité, les maladies métaboliques et auto-immunes, les désordres neuropsychiatriques. La transplantation de microbiote fécal pourrait également représenter une indication potentielle dans certains contextes non pathologiques tels que le portage sain de bactéries indésirables. En l'état actuel des connaissances, il n'existe pas de situations contre-indiquant la transplantation de microbiote fécal ; cependant, cette méthode reste expérimentale et est donc réservée aux situations graves ou rares, et lorsque les méthodes classiques de traitement n'ont pas fonctionné [18].

b. Origine

La première description scientifique de transfert de flore a été publiée par Eiseman en 1958 chez quatre patients souffrant de diarrhée post-antibiotique et traités par des lavements de selles d'un donneur sain. Le transfert de flore par lavement dans le cadre de l'infection à *C. difficile* a été rapporté pour la première fois par Schwan et al. en 1983 [61].

4. Résultats

a. Avec probiotiques

Des études ont montré que l'utilisation de probiotiques a réduit l'intolérance au lactose, renforcé l'immunité chez des nourrissons et diminué le risque de diarrhées à Rotavirus.

L'apport de probiotiques a aussi diminué les troubles liés au diabète sur des modèles animaux : chez des souris diabétiques de type 2 présentant une obésité et une insulino-résistance, auxquelles on a administré *Lactobacillus casei*, on observe une baisse significative de la glycémie, de l'insulinémie et du poids corporel. L'administration de dahi (produit laitier contenant *Lactobacillus acidophilus* et *L. casei*) a également retardé la survenue d'une insulino-résistance induite par une alimentation riche en fructose [45].

b. Avec prébiotiques

Nous avons vu qu'une alimentation riche en lipides module la composition du microbiote cœcal, réduisant notamment la population de Bifidobactéries. Or, les fibres (telles que les FOS) sont capables d'augmenter de façon significative les bactéries du genre *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* chez l'homme et l'animal.

Ainsi, ces prébiotiques auraient des bénéfices reconnus sur la santé, en rapport avec les différents troubles énoncés précédemment liés à une dérégulation du microbiote intestinal. En effet, la fermentation des prébiotiques permettrait de stimuler la production de GLP-1, que l'on a décrit comme régulateur de l'appétit, et qui exercerait un effet favorable sur la réponse à l'insuline.

Une autre hypothèse est l'impact résultant de l'administration des prébiotiques sur la perméabilité intestinale et l'endotoxémie métabolique. L'augmentation des *Bifidobacterium* spp. entraîne une diminution significative de la perméabilité intestinale, avec particulièrement une augmentation de l'expression et une amélioration de la distribution des protéines de jonctions serrées de l'intestin (ZO-1, Occludine). De ce fait, on observe une forte diminution du tonus inflammatoire, avec une baisse de l'endotoxémie métabolique, des cytokines et des chemokines plasmatiques.

Cette étude suggère que l'administration de prébiotiques peut agir favorablement sur la barrière intestinale, et donc réduire l'endotoxémie métabolique, l'inflammation systémique et hépatique, et *in fine* jouer un rôle bénéfique sur le développement des désordres métaboliques associés à l'obésité [55].

c. Avec transfert de flore

▪ Sur infection à *C. difficile* :

Plusieurs études ont été menées à ce jour concernant l'utilisation de la transplantation de microbiote fécal dans le traitement de l'infection à *C. difficile*. Au total, plus de 500 patients ont été traités par cette procédure avec un succès thérapeutique allant de 81% à 100%. L'efficacité de cette technique est donc très importante dans cette indication [61].

▪ Sur le syndrome métabolique :

Un essai clinique a été réalisé en 2012 au cours duquel des patients souffrant de syndrome métabolique ont reçu une transplantation de microbiote fécal de donneurs « maigres ». Les résultats ont montré une amélioration de la sensibilité à l'insuline six semaines après la perfusion, impliquant un effet important sur le métabolisme du glucose. L'effet de la transplantation sur le métabolisme peut s'expliquer par une augmentation de la production d'acides gras à chaînes courtes, notamment le butyrate, produit par les bactéries présentes dans les selles du donneur [38].

À ce jour, la transplantation de microbiote fécal apparaît comme une technique sûre ayant peu d'effets indésirables, mais cette approche reste encore peu développée et le rapport bénéfice/risque non clairement établi. Une évaluation individuelle du risque encouru doit notamment être prise en compte chez les patients immunodéprimés.

5. Autres moyens de modification du microbiote

a. Antibiotiques

Nous avons précédemment montré qu'une alimentation riche en gras modifie le microbiote intestinal et augmente les niveaux de LPS plasmatique, définit par

l'endotoxémie métabolique. Cani et coll ont cherché à modifier le microbiote intestinal au moyen d'un traitement antibiotique, afin de réduire la concentration élevée de LPS plasmatique chez des souris nourries par un régime riche en gras et chez des souris obèses ob/ob. Ils ont utilisé des antibiotiques à large spectre (ampicilline et néomycine) afin de modifier la communauté microbienne intestinale de la souris.

Un traitement antibiotique de 4 semaines a fortement modifié le microbiote intestinal, à la fois chez les souris contrôle et chez les souris traitées par un régime riche en gras, ce qui a entraîné une réduction de l'endotoxémie et une amélioration de la tolérance au glucose dans les deux modèles animaux.

Nous avons aussi démontré que le régime riche en matière grasse augmente considérablement la perméabilité intestinale, par l'expression réduite des protéines de jonctions serrées telles que ZO-1 et Occludine. Or, cet effet a été entièrement restauré par le traitement antibiotique. Ces données confirment que les bactéries intestinales sont impliquées dans le contrôle de la perméabilité intestinale et de l'endotoxémie métabolique.

Aussi, le traitement antibiotique réduit l'apparition de l'inflammation du tissu adipeux, du stress oxydatif, et des marqueurs de l'infiltration des macrophages chez les souris nourries par un régime riche en graisse.

Ces observations démontrent que la restauration de l'insulinosensibilité est associée à une diminution du statut inflammatoire, confortant le concept selon lequel une modulation du microbiote intestinal réduit l'inflammation et accroît l'insulinosensibilité chez la souris.

Des études ont montré qu'une antibiothérapie à court terme améliorerait un diabète chez la souris, mais les bénéfices et effets indésirables à long terme de cette approche restent à déterminer [53].

b. Metformine

La metformine représente le traitement de première ligne dans la prise en charge du diabète de type 2. Les chercheurs commencent à étudier les effets de cette molécule en lien avec le microbiote intestinal.

Dans une étude, des souris nourries avec un régime alimentaire normal ou un régime riche en graisse ont été traitées avec de la metformine pendant 6 semaines. L'effet

de la metformine sur la composition du microbiote intestinal et l'inflammation du tissu adipeux a été examiné.

Le traitement par metformine a considérablement amélioré le profil glycémique des souris soumises au régime riche en gras.

Par ailleurs, on a observé une plus grande abondance de la bactérie *Akkermansia* par rapport aux souris témoins (avec régime riche en gras mais sans metformine). La bactérie *Akkermansia muciniphila* représente entre 3 et 5% des bactéries contenues dans les intestins. Cependant, chez les Hommes et les souris obèses, cette proportion est nettement plus faible. Cette bactérie est localisée au niveau de la couche de mucus, dont elle est capable de dégrader des protéines spécifiques appelées mucines.

En outre, le nombre de cellules caliciformes productrices de mucine a été significativement augmenté par la metformine. En plus de produire des composants de la couche de mucus, les cellules caliciformes produisent également des molécules qui sont associées à des mécanismes de défense innés.

L'administration orale d'*Akkermansia muciniphila* à des souris soumises au régime gras, sans metformine, a considérablement amélioré la tolérance au glucose et l'inflammation du tissu adipeux. Parce que les cellules caliciformes augmentent l'intégrité de la barrière, une augmentation de leur nombre après l'administration d'*Akkermansia* peut atténuer l'intolérance au glucose en réduisant la translocation de LPS à travers la barrière intestinale. Cependant, les niveaux sériques de LPS et la perméabilité intestinale ne sont pas significativement différents chez les deux modèles de souris (avec ou sans administration d'*Akkermansia*), ce qui suggère que des facteurs autres que les changements dans la fonction de barrière sont responsables de l'amélioration du profil métabolique retrouvée chez la souris avec *Akkermansia*.

La modulation de la flore intestinale (par une augmentation de la bactérie *Akkermansia* spp.) peut contribuer aux effets antidiabétiques de la metformine, fournissant ainsi un nouveau mécanisme de l'effet thérapeutique de cette molécule chez les patients diabétiques de type 2.

Par ailleurs, cette étude suggère qu'*Akkermansia* aurait un rôle potentiel comme probiotique, avec des effets antidiabétiques [62].

II. Statut réglementaire

1. Législation

a. Nomenclature, dosage, étiquetage

Une souche probiotique est identifiée par son genre, son espèce, et par des caractères alphanumériques. Dans la communauté scientifique, il existe une nomenclature reconnue et acceptée pour les micro-organismes, par exemple, *Lactobacillus casei* DN-114 001 ou *Lactobacillus rhamnosus* GG.

Genre	Espèce	Souche
Lactobacillus	<i>casei</i>	DN-114 001
<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>	GG

Cette classification est importante car les effets décrits dépendent de la souche et non de l'espèce ou du genre.

En revanche, aucune réglementation existe quant aux noms commerciaux ou de marques donnés par les laboratoires ; ils peuvent les commercialiser sous le nom qu'ils souhaitent (par exemple : LGG pour *Lactobacillus rhamnosus* GG).

Les doses de probiotiques nécessaires varient selon la souche et le produit. Bien que beaucoup de produits vendus sans ordonnance contiennent 10^9 UFC¹⁴/dose, certains se sont révélés efficaces à des doses plus basses, alors que d'autres en nécessitent des plus élevées. Il n'est pas possible d'établir un dosage général pour tous les probiotiques ; la quantité survivant lors du transit dans l'intestin dépend de la souche, de la dose ingérée, des facteurs liés à l'hôte (acidité, sels biliaires,...) et de l'aliment vecteur [57].

En matière d'étiquetage, la réglementation (Règlement (CE) n°1924/2006) impose certaines mentions obligatoires sur ces produits ayant une allégation de santé :

- Dénomination : complément alimentaire à base de...

¹⁴ UFC = Unité Formant Colonie

- Dose journalière, quantités présentes dans le produit par dose journalière recommandée, et mode de prise.
- Avertissements : ne pas dépasser la dose journalière recommandée, tenir hors de portée des enfants, ne se substitue pas à un régime alimentaire varié.

Les allégations thérapeutiques sont interdites sur l'étiquette (propriétés de prévention, de traitement, de guérison...) [63].

b. Aliments fonctionnels

Beaucoup de produits sont qualifiés de bénéfiques pour la santé, d'« aliments fonctionnels », par exemple des denrées alimentaires qui ont été modifiées pour prétendre apporter des bienfaits pour la santé (les yaourts Activia ou Actimel par exemple). La question est alors de savoir si ces produits améliorent véritablement la santé.

Depuis 2007, un nouveau règlement vise à ce que les allégations portant sur les effets bénéfiques des produits soient étayées par des preuves scientifiques. La Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) est chargée du contrôle de ces allégations, et est habilitée à demander aux professionnels tous les éléments pertinents attestant de leur véracité. L'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) est chargée de l'évaluation des données scientifiques transmises par la Commission européenne ou les États membres.

Cette nouvelle mesure vise à garantir que les allégations de santé incitent à choisir les produits adaptés à ce que l'on recherche, et que les bénéfices promis sont basés sur des preuves scientifiques solides.

On définit par allégation : « tout message ou toute représentation non obligatoire en vertu de la législation communautaire ou nationale, y compris une représentation sous la forme d'images, d'éléments graphiques ou de symboles, quelle qu'en soit la forme, qui affirme, suggère ou implique qu'une denrée alimentaire possède des caractéristiques particulières ».

Exemple : « renforce les défenses naturelles de l'organisme »

On peut distinguer quatre types d'allégations :

- Allégation de santé : allégation qui attribue une relation entre, d'une part, une catégorie de denrées alimentaires ou l'un de ses composants et, d'autre part, la santé.

Exemples : « contient des bactéries essentielles à la santé », « probiotiques ».

- Allégation fonctionnelle : allégation portant sur les effets bénéfiques de la consommation d'aliments ou de leurs constituants. Elle décrit une contribution positive à la santé, l'amélioration d'une fonction, la modification ou la préservation de l'état de santé.

Exemple : « le calcium intervient dans le métabolisme osseux ».

- Allégation nutritionnelle : allégation qui attribue des propriétés nutritionnelles bénéfiques particulières, du fait de sa teneur en énergie, en nutriments ou autres substances.

Exemples : « faible teneur en graisse », « riche en calcium ».

- Allégation relative à la réduction d'un risque de maladie : allégation qui déclare réduire sensiblement un facteur de risque de développement d'une maladie humaine.

Exemple : « diminue le cholestérol ».

Une allégation ne doit pas :

- susciter des doutes quant à la sécurité et/ou l'adéquation nutritionnelle d'autres denrées alimentaires ;
- encourager ou tolérer la consommation excessive d'une denrée alimentaire ;
- affirmer, suggérer ou impliquer qu'une alimentation équilibrée et variée ne peut, en général, fournir des nutriments en quantité appropriée ;
- évoquer des propriétés de prévention, de traitement ou de guérison de maladies [64] [65] [66].

c. Prébiotiques et probiotiques

Pour ce qui est des prébiotiques et probiotiques en tant que compléments alimentaires, nous sommes en mesure de nous demander s'ils s'apparentent ou non à des médicaments.

Par définition, les compléments alimentaires sont des « denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant, seuls ou combinés, un effet nutritionnel ou physiologique ; ils sont commercialisés sous forme de doses (comprimés, gélules, ampoules ou toute autre forme destinée à être prise en unité mesurée de faible quantité) ».

Ils se différencient des médicaments de plusieurs façons, en particulier pour ce qui est des allégations. Les médicaments peuvent prétendre être efficaces dans le traitement ou l'atténuation des maladies, tandis que les aliments et les compléments alimentaires ne peuvent faire que des allégations générales relatives à la santé.

Aussi, contrairement aux médicaments, leur commercialisation ne nécessite pas d'autorisation de mise sur le marché. Malgré cela, des études et des contrôles de qualité de niveau « pharmaceutique » sont nécessaires afin d'obtenir des allégations, sévèrement encadrées en application du règlement européen 1924/2006 qui oblige à en apporter la preuve scientifique devant l'Agence européenne des médicaments (EMA), seule habilitée à leur délivrer une autorisation.

Si l'allégation de santé est déjà inscrite au registre, on l'appelle alors allégation générique et l'industriel peut l'utiliser automatiquement [67].

d. Transfert de flore

A ce jour, en France, le microbiote fécal n'a pas de statut particulier au niveau du Code de la Santé publique ; cependant, dans la mesure où il est utilisé à visée curative, il est considéré comme un médicament.

Le développement de cette technique demeurant encore très récent, et en l'absence d'autorisation de mise sur le marché, celle-ci peut être utilisée dans le cadre législatif et réglementaire applicable aux préparations magistrales et hospitalières, ou aux médicaments expérimentaux destinés à un essai clinique.

Au niveau international, on observe une hétérogénéité entre les différents pays concernant le statut du microbiote fécal. Les Etats-Unis considèrent qu'il s'agit d'un médicament alors que certains Etats membres (Royaume-Uni, Danemark et Pays-Bas) ne le qualifient pas comme tel (certains comme un tissu) [18].

2. Effets indésirables

Les bactéries contenues dans les probiotiques sont naturellement présentes dans la flore intestinale et, de ce fait, ont à priori peu d'effets indésirables du moment où elles ont été décrites comme bénéfiques. Cependant, l'apport de ces bactéries va modifier l'écosystème intestinal, et il est à ce jour difficile d'en prévoir les effets. Des expériences sont nécessaires afin de démontrer la totale innocuité de l'ajout d'une « formule probiotique » à notre microbiote intestinal.

En outre, les souches de bactéries traditionnelles sont consommées quotidiennement par les Hommes depuis plusieurs décennies ; des espèces telles que *Lactobacillus acidophilus* sont utilisées depuis plus de 70 ans ; cela reste la meilleure preuve de leur sécurité sanitaire. Cependant, leur innocuité doit être en permanence reconsidérée et les effets indésirables possibles réévalués.

Les membres des genres *Lactococcus* et *Lactobacillus* sont souvent reconnus comme sûrs, tandis que d'autres comme *Streptococcus* et *Enterococcus* contiennent certains agents pathogènes opportunistes.

Organisme	Potentiel d'infection
<i>Lactobacillus</i>	Principalement non-pathogènes, quelques infections opportunistes (habituellement chez les immunodéprimés)
<i>Lactococcus</i>	Principalement non-pathogènes
<i>Leuconostoc</i>	Principalement non-pathogènes, certains cas isolés d'infection
<i>Streptococcus</i>	Streptocoques oraux essentiellement non-pathogènes (y compris <i>Streptococcus thermophilus</i>) ; certains peuvent causer des infections opportunistes
<i>Enterococcus</i>	Certaines souches sont pathogènes opportunistes avec activité hémolytique et résistance aux antibiotiques
<i>Bifidobacterium</i>	Principalement non-pathogènes, certains cas isolés d'infection humaine
<i>Saccharomyces</i>	Principalement non-pathogènes, certains cas isolés d'infection humaine

Tableau 5 : classification des bactéries selon leur pathogénicité

Les probiotiques pourraient être impliqués dans différents types d'effets indésirables :

- les infections : certaines bactéries sont associées à des infections chez des personnes immunodéprimées ; toutefois, chez un sujet sain, le risque est très rare.
- une immuno-stimulation excessive.
- un transfert de gènes : comme avec toutes les bactéries, on a noté une résistance aux antibiotiques parmi certaines bactéries lactiques ; le transfert de gène de résistance aux antibiotiques est possible mais reste tout de même très rare. Les recommandations sont donc d'éliminer les souches comportant des gènes acquis de résistance aux antibiotiques. De nouvelles recherches doivent être faites dans ce domaine.

Les probiotiques demeurent majoritairement sans danger pour la population générale.

Cependant, de nouvelles espèces sont constamment identifiées. Malgré la sécurité des souches traditionnellement utilisées, les nouvelles doivent bénéficier d'une évaluation de leur sécurité et efficacité, avant de pouvoir être intégrées dans de nouveaux produits.

Trois approches sont utilisées pour évaluer la sécurité d'une souche probiotique :

- Etude des propriétés intrinsèques de la souche
- Etude de pharmacocinétique (survie, activité dans l'intestin, relation dose-réponse, récupération des matières fécales et muqueuses)
- Etude d'éventuelles interactions entre la souche et l'hôte

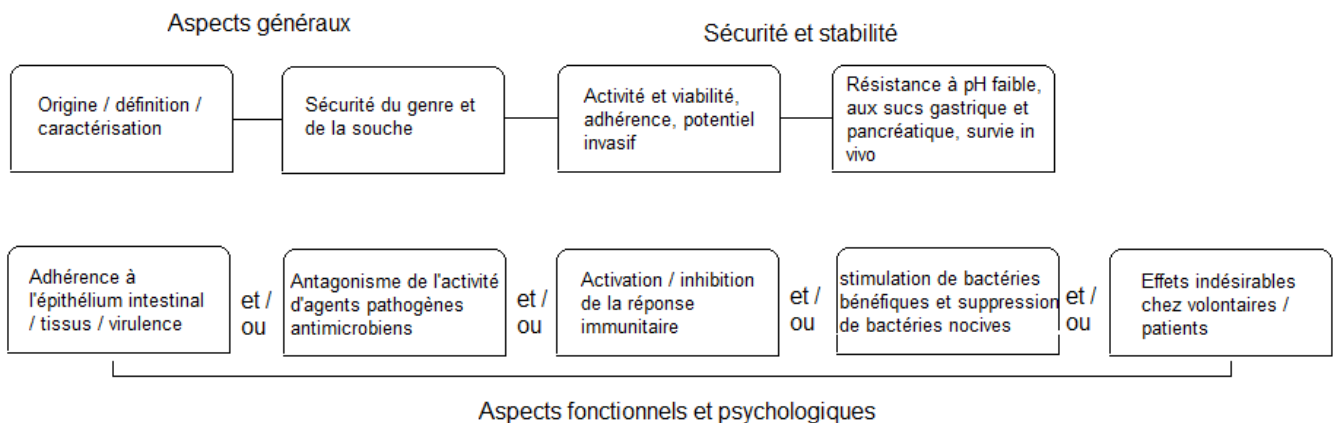


Figure 13 : critères de sélection des probiotiques

La survie des probiotiques dans le tractus gastro-intestinal, leurs propriétés de translocation et de colonisation, et le sort de leurs composants actifs doivent être connus afin de prévoir non seulement les effets positifs, mais aussi les effets secondaires des probiotiques.

La survie des probiotiques ingérés à différents niveaux de l'appareil gastro-intestinal diffère entre les souches. Certaines souches sont rapidement tuées dans l'estomac tandis que d'autres, telles que les souches de Bifidobactéries ou *L. acidophilus*, peuvent passer à travers l'ensemble de l'intestin à des concentrations très élevées. Le lait, en tant que véhicule des probiotiques, semble protéger contre les conditions gastriques.

Plusieurs modèles in vitro peuvent aider à prédire le devenir des souches ingérées : des modèles simples permettent de tester la sensibilité du probiotique à l'acide ou la bile, et des modèles dynamiques plus complexes simulent le transit et les sécrétions dans le tractus gastro-intestinal.

Les pathologies liées à des agents microbiologiques restent beaucoup plus difficiles à prévoir que celles causées par des agents chimiques. Les différences individuelles et le nombre important de facteurs microbiens rendent difficile le calcul de la dose infectieuse minimale.

Cependant, des essais cliniques réalisés sur des volontaires sains ont démontré l'innocuité des probiotiques. La plupart des études ont mentionné que le probiotique n'a pas induit plus d'effets indésirables que le placebo [68].

Pour ce qui est du transfert de flore, la méthode doit être encadrée ; il existe un risque immédiat (infectieux, allergique...) ou des risques à long terme plus méconnus, liés au remplacement d'une communauté complexe de micro-organismes par une autre. Aussi, des essais cliniques contrôlés et rigoureux doivent être mis en place afin de collecter des données et d'assurer des conditions de sécurité optimales pour le patient-receveur [18].




III. A l'officine

1. Produits







De nombreux compléments alimentaires contenant des bactéries ou des levures existent ; leurs formules sont souvent complétées par des vitamines et sels minéraux (par exemple les gammes Bion, Azinc, Léro...).







Cependant, deux laboratoires dominent le marché des probiotiques à l'heure actuelle : Pileje et Nutergia. Leurs gammes de produits sont vastes, très complètes, et testées in vivo (études d'observation ou études cliniques d'intervention réalisées à l'hôpital ou en cabinet médical) ; ils sont donc les plus largement conseillés. D'après mon expérience en officine et le retour des patients, ils font par ailleurs preuves d'une grande efficacité.


Ci-dessous, le détail des différents produits issus de ces deux laboratoires.

Nom commercial	Souches	Posologies	Indications
NUTERGIA			
ERGYPHILUS Plus 	6.10 ⁹ /gélule : <i>L. rhamnosus</i> GG <i>L. paracasei</i> <i>L. acidophilus</i> <i>B. bifidum</i>	2 à 4 gélules/jour, à prendre en dehors des repas, de préférence le matin.	<ul style="list-style-type: none"> - Diarrhées - Terrains allergiques - Stimuler les défenses naturelles - Antibiothérapie
ERGYPHILUS Confort 	6.10 ⁹ /gélule : <i>L. plantarum</i> <i>L. rhamnosus</i> GG <i>L. acidophilus</i> <i>B. longum</i> <i>B. bifidum</i>	2 à 4 gélules/jour de préférence le matin en dehors des repas	<ul style="list-style-type: none"> - Troubles digestifs (constipation, ballonnements, gaz, douleurs) - Faciliter la digestion du lactose - Améliorer l'assimilation des nutriments et minéraux
ERGYPHILUS Enfants 	3.10 ⁹ /sachet : <i>L. rhamnosus</i> GG <i>L. fermentum</i> <i>B. infantis</i> + vitamine D3	<u>Enfants de 0 à 6 ans :</u> 1 sachet/jour à diluer dans le premier biberon tiède. <u>Pour les plus grands :</u> 1 sachet/jour de préférence le matin ou en dehors des repas.	<ul style="list-style-type: none"> - Favoriser le développement d'une flore bénéfique (si terrain allergique) - Troubles digestifs (régurgitations, coliques, gaz, constipation, diarrhées) - Enfants non allaités - Antibiothérapie

PILEJE

<p>LACTIBIANE Référence</p> 	<p>10⁹ UFC/gélule ou sachet : <i>B. longum</i> LA 101 <i>L. helveticus</i> LA 102 <i>L. lactis</i> LA 103 <i>S. thermophilus</i> LA 104</p>	<p>1 sachet ou 1 gélule par jour, à diluer dans un verre d'eau pendant 1 mois. A prendre avant un repas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Colopathies fonctionnelles - Troubles digestifs (ballonnements, flatulences)
<p>LACTIBIANE Imédia</p> 	<p>30.10⁹ UFC/stick : <i>B. longum</i> LA101 <i>L. helveticus</i> LA102 <i>L. lactis</i> LA103 <i>S. thermophilus</i> LA104</p>	<p>1 stick orodispersible/jour. S'utilise sans eau. Pendant 4 jours.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Diarrhées, crampes abdominales
<p>LACTIBIANE Tolérance</p> 	<p>10⁹ UFC/gélule ou sachet : <i>B. lactis</i> LA 303 <i>L. acidophilus</i> LA 201 <i>L. plantarum</i> LA 301 <i>L. salivarius</i> LA 302 <i>B. lactis</i> LA 304</p>	<p>1 sachet ou 1 gélule par jour à diluer dans un verre d'eau pendant 1 mois. A prendre avant un repas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Troubles digestifs liés à une intolérance alimentaire - Allergies
<p>LACTIBIANE Défenses</p> 	<p>10⁹ UFC/gélule : <i>L. acidophilus</i> LA 201 <i>L. helveticus</i> LA 102 <i>B. longum</i> LA 101 + Andrographis (plante originaire d'Asie), zinc et vitamine C</p>	<p>1 gélule/jour pendant 10 jours par mois, à avaler avant un repas. À renouveler sur plusieurs mois. /!\ Pas pour femmes enceintes et allaitantes.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Fragilité pendant l'automne et l'hiver (personne âgée, enfant) - Préparation de l'organisme aux agressions hivernales
<p>LACTIBIANE ATB</p> 	<p>12.10⁹ UFC/gélule : <i>L. rhamnosus</i> LA801</p>	<p>2 gélules/jour, à avaler avec un grand verre d'eau, avant un repas. Pendant 7 jours, à renouveler.</p>	<p>Prévention des troubles digestifs associés à certains traitements</p>
<p>LACTIBIANE ALR</p> 	<p>4.10⁹ UFC/gélule : <u>Gélule blanche</u> <i>L. salivarius</i> LA 302 <u>Gélule jaune</u> Extrait d'oignon et de romarin</p>	<p>1 gélule blanche et 1 gélule jaune par jour. A avaler avec un verre d'eau, de préférence avant un repas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Allergies - Favorise le bon fonctionnement du système immunitaire

<p>LACTIBIANE Cnd - L.h. LA401 candisis</p> 	<p>5 à 10 milliards/gélule : <i>L. helveticus</i> <i>candisis</i> LA 401</p>	<p><u>Lactibiane CND 10 M</u> : 2 gélules/jour <u>Lactibiane CND 5 M</u> : 2 gélules/jour pendant 10 jours, puis 1 gélule/jour</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibe l'adhésion des <i>Candida</i> - Renforce la flore intestinale et vaginale
<p>LACTIBIANE H-Py</p> 	<p>10⁹ UFC/gélule : <i>L. plantarum</i> LA 301 <i>L. salivarius</i> LA 302</p> <p>+ réglisse et cannelle</p>	<p>1 gélule blanche et 2 gélules marrons par jour, à avaler avec un verre d'eau au cours du repas. Pendant 2 semaines, renouvelable.</p>	<p>Renforce le bon fonctionnement des muqueuses du système digestif (estomac et intestins) et maintien son équilibre</p>
<p>LACTIBIANE Iki</p> 	<p>40.10⁹ UFC/sachet : <i>B. lactis</i> LA 304 <i>L. acidophilus</i> LA 201 <i>L. salivarius</i> LA 302</p>	<p>1 à 2 sachets/jour à diluer dans un verre d'eau pendant 1 mois</p>	<p>Renforce l'équilibre de la microflore et améliore le confort intestinal chez les personnes sujettes à des troubles consécutifs (MICI)</p>
<p>LACTIBIANE Voyage</p> 	<p>20.10⁹ UFC/gélule : <i>L. acidophilus</i> LA 201 <i>L. casei</i> LA 205 <i>L. plantarum</i> LA 301</p>	<p>1 gélule/jour, à avaler avec un grand verre d'eau. A prendre avant un repas.</p>	<p>Prévention des désordres digestifs pouvant survenir lors de voyage dans des pays à risques.</p>
<p>BIOFILM</p> 	<p>Fibres solubles d'inuline de chicorée et de FOS (fructo-oligosaccharides)</p>	<p>1 sachet/jour à diluer dans un verre d'eau pendant 14 jours.</p>	<p>Alimentation déséquilibrée en fibres alimentaires.</p>
<p>LACTIBIANE Enfant</p> 	<p>4.10⁹ UFC/sachet : <i>B. longum</i> LA 101 <i>L. helveticus</i> LA 102, <i>L. lactis</i> LA 103, <i>S. therm.</i> LA 104, <i>L. rhamn.</i> LA 801</p> <p>+ vitamine D</p>	<p>1 sachet/jour, à diluer dans l'eau. A prendre avant un repas. Pendant 10 jours à 1 mois renouvelable.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Troubles digestifs - Infections infantiles récurrentes (rhinopharyngites, rhumes, otites à répétitions) - Constituer une flore intestinale équilibrée

<p>LACTIBIANE Enfant Gouttes</p> 	<p>2. 10⁹ UFC/ml :</p> <p><i>B. longum</i> LA101 <i>L. helveticus</i> LA102 <i>L. lactis</i> LA103 <i>S. thermophilus</i> LA104 <i>L. rhamnosus</i> LA801</p> <p>+ huile de colza + vitamine D3</p>	<p>Verser le contenu du sachet dans le flacon contenant l'huile. Agiter avant utilisation.</p> <p>Se conserve 1 mois à T°C ambiante.</p> <p>1 dose de 1 ml/jour. Peut être dilué dans une boisson froide ou tiède.</p> <p>A prendre de préférence avant un repas.</p>	<p>- Stimulation de l'immunité entre 0 et 6 mois</p> <p>- Constituer une flore intestinale équilibrée</p>
---	--	---	---

[69] [70]

Ci-après la liste non exhaustive d'autres compléments alimentaires à base de probiotiques disponibles sur le marché, et agissant sur la flore intestinale (flores buccale et vaginale non traitées) :



Nom commercial	Souches	Posologies	Indications
<p>ACTYFILUS (Codifra) [71]</p>	<p>10.10⁹ UFC/gélule :</p> <p><i>L. lactis</i>, <i>L. paracasei</i>, <i>L. casei</i>, <i>L. acidophilus</i>, <i>B. lactis</i></p> <p>+ Inuline de chicorée (prébiotique)</p>	<p>1 à 3 gélules/jour renouvelable. 30 min. avant toute prise alimentaire</p>	<p>- Avant un voyage dans un pays à risque de turista</p> <p>- Confort digestif</p> <p>- Défenses naturelles</p> <p>- Diarrhées post-antibiotiques</p>
<p>ARKOLEVURE (Arkopharma) [72]</p>	<p><i>Saccharomyces boulardii</i></p> <p>+ Inuline</p>	<p>- Enfants : 1 sachet à 120mg matin et soir au moment du repas. - Adultes : 1 gélule à 250 mg matin et soir au moment des repas.</p>	<p>- Défenses naturelles</p> <p>- Equilibrer la flore intestinale</p>
<p>AZINC DEFENSES NATURELLES (Arkopharma)</p>	<p><i>L. acidophilus</i>, <i>L. rhamnosus</i>, <i>B. longum</i>, <i>B. coagulans</i></p> <p>Vitamine A, B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12, C, D3 et E (α-TE), Chrome, Cuivre, Fer, Manganèse, Molybdène, Sélénium et Zinc, Propolis</p>	<p>Adulte et adolescent à partir de 15 ans : 1 comprimé/jour à avaler sans croquer avec un grand verre d'eau, au petit déjeuner.</p>	<p>- Défenses naturelles</p> <p>- Forme et vitalité</p>
<p>AZINC DEFENSES NATURELLES doses (Arkopharma) [73]</p>	<p>10⁹ UFC/dose :</p> <p><i>B. lactis</i> BI-04, <i>L. acidophilus</i> La-14, <i>L. plantarum</i> Lp-115, <i>L. paracasei</i> Lpc-37, <i>B. coagulans</i> Bc-513</p> <p>Vitamine A, B1, B2, B3, B5, B6, B8, B12, C, D3 et E</p>	<p>Adulte et enfant à partir de 12 ans : 1 dose/jour le matin au petit déjeuner.</p>	<p>- Défenses naturelles</p> <p>- Forme et vitalité</p>

BIOGAIA [74]	10 ⁸ UFC/jour : <i>Lactobacillus reuteri</i> Protectis	<u>Gouttes</u> : 5 gttes/jour en une seule prise. <u>Comprimés</u> : 1 à 2/jour.	- Coliques - Diarrhées - Régurgitations
BION 3 (Laboratoire Merck)	10 ⁷ UFC/cp : <i>L. gasseri</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> + 12 vitamines + 3 minéraux	1 comprimé à avaler/jour Déconseillé si hyperthyroïdie, hyperparathyroïdie, hypercalcémie et insuffisance rénale sévère. Eviter la prise concomitante de vitamine A et D.	- Forme naturelles Idéal dans les situations de fatigue, stress, surmenage, lors d'exposition au froid, à la pollution, à la climatisation
BION RESTORE (Laboratoire Merck)	2,5.10 ⁷ UFC/cp : <i>L. gasseri</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> 250mg vitamine C + 10mg zinc + 12mg histidine	1 comprimé à avaler/jour le matin au petit-déjeuner pendant 14 à 20 jours	Récupération : recharger l'organisme en énergie et renforcer les défenses naturelles après une pathologie hivernale
BION TRANCIT (Laboratoire Merck) [75]	10 milliards/gélule : <i>L. plantarum</i> 299V	1 à 2 gélules ou sachet/jour avant le petit-déjeuner pendant 20 jours	Inconfort intestinal : gêne, pesanteur, ballonnements
BIOPROTUS 4000 ou 7000 (Laboratoire Carrare)	4.10 ⁹ UFC/gélule ou 7.10 ⁹ UFC/sachet : <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. lactis ssp lactis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>S. thermophilus</i> Fructo-oligosaccharides à chaînes courtes (FOS), fibres de pommes	- <u>En urgence</u> : 2 à 6 gélules selon les besoins, à répartir au cours de la journée, au cours des repas. - <u>En entretien</u> : 1 gélule/jour au cours d'un repas, pendant 1 mois.	<u>4000</u> : - Réguler le transit rapide - Renforcer la flore intestinale lors de traitement ATB <u>7000</u> : - rééquilibrer et renforcer la flore intestinale - renforcer la résistance générale de l'organisme - réguler le transit lent
BIOPROTUS VOYAGE (Laboratoire Carrare)	4.10 ⁹ UFC/gélule : <i>S. boulardii</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. lactis</i> + 80 mg d'inuline	- Une semaine avant le départ : 1 gélule/jour au cours d'un repas. - Pendant le voyage : En entretien : 1/jour En urgence : 2 à 6/jour. - Une semaine au retour : 1 gélule/jour	Equilibre et soutien de la flore intestinale des voyageurs

BIOPROTUS SENIOR (Laboratoire Carrare)	5.10 ⁹ UFC/gélule : <i>L. rhamnosus</i> , <i>B. longum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. lactis</i> + gomme acacia	1 gélule/jour au cours d'un repas pendant un mois, renouvelable Conseillé chez les personnes > 50 ans	- Réguler le transit - Renforcer la résistance générale - Rééquilibrer la flore intestinale - Ventre plat
BIOPROTUS INTEGRAL (Laboratoire Carrare)	5.10 ⁹ UFC/sachet : <i>S. boulardii</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. lactis</i> Gomme acacia Bio	1 sachet/jour pendant 14 jours, au cours d'un repas	rééquilibrer et renforcer la flore intestinale
BIOPROTUS ENFANTS 3/14 (Laboratoire Carrare) [76]	3.10 ⁹ UFC/sachet : <i>B. infantis</i> , <i>Bifidobacterium BB-12</i> ®, <i>L. rhamnosus GG</i> Gomme d'Acacia bio, extrait sec de jus d'Acérola bio, extrait sec de Tomate	1 sachet/jour pendant 14 jours, au cours d'un repas	- Evolution et développement de la flore intestinale - Fonctionnement normal du système immunitaire
BLOXAIR (Laboratoire Bausch & Lomb) [77]	1,5.10 ⁹ germes/g : <i>Lactobacillus sporogenes</i>	<u>Adultes et enfants</u> : 20 gouttes, éventuellement diluées dans un liquide, 2 à 4 fois/jour. <u>Nourrisson</u> : 10 gouttes 2 à 4 fois/jour. Bien agiter avant emploi.	- Ballonnements, flatulences et coliques du nourrisson, de l'enfant et de l'adulte - Syndrome du côlon irritable - Adjuvant du traitement d' <i>Helicobacter Pylori</i> .
GRANIONS Renforstim (Laboratoire des Granions) [78]	10.10 ⁹ UFC/gélule : <i>L. acidophilus</i> Inuline Huile de foie de requin Sélénium Vitamine E	2 capsules vertes et 1 gélule blanche le matin, avec un grand verre d'eau, renouvelable	A l'approche de l'hiver Pendant les épisodes hivernaux Chez les convalescents - Renforcer les défenses naturelles
IMMUNOSTIM (Laboratoire URGO) [79]	5.10 ⁹ UFC/gélule ou sachet : <i>L. helveticus</i> Rosell-52, <i>B. infantis</i> Rosell-33, <i>B. bifidum</i> Rosell-71 FOS Vitamine C	1 gélule ou sachet/jour avant le petit-déjeuner pendant 10 jours par mois sur plusieurs mois	- Equilibrer la microflore essentielle aux défenses de l'organisme - Renforcer la barrière de protection contre les microbes.
LERO flore (Laboratoire Léro) [80]	10 ⁹ UFC/gélule : <i>B. longum</i> , <i>L. helveticus</i> FOS	1 gélule/jour	- Après des écarts alimentaires - Avant et pendant un voyage dans des pays chauds - En cas de flore intestinale déséquilibrée

PROBIOLOG (Laboratoire Mayoly Spindler)	10 ⁹ /gélule : <i>L. acidophilus</i> , <i>B. lactis</i>	<u>Nourrisson de plus de 3 mois et enfant</u> : 1 gélule/j <u>Adulte</u> : 2 gélules/j au moment des repas	Troubles digestifs liés à des déséquilibres de la flore intestinale chez l'enfant et l'adulte
SUPRAFLOR (Arkopharma) [72]	11.10 ⁹ UFC/gélule : <i>B. longum</i> Rosell-175, <i>L. rhamnosus</i> Rosell-11, <i>L. helveticus</i> Rosell-52, <i>L. lactis ssp. lactis</i> Rosell-1058, <i>B. animalis ssp. lactis</i> LAFTI B94, <i>L. acidophilus</i> Rosell-418.	<u>Enfants</u> : 1 sachet/jour <u>Adultes</u> : 1 gélule/jour à avaler avec un grand verre d'eau au cours du repas, idéalement au petit déjeuner.	- Troubles du transit - Inconfort digestif
ULTRABIOTIQUE (Laboratoire Nutrisanté) [81]	4.10 ⁹ UFC/gélule : <i>Lactococcus lactis</i> , <i>L. casei</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>L. acidophilus</i>	<u>De 3 à 6 ans</u> : 1 gélule/jour. Ouvrir la gélule et mélanger le contenu avec de la compote ou un yaourt. <u>> 6 ans</u> : 1 gélule matin et soir.	- Prise d'antibiotique - Hygiène alimentaire insatisfaisante, - Transit perturbé, désordres intestinaux, - Stress répétés (favorise l'irritabilité de l'intestin), - Voyages à l'étranger

D'autres produits probiotiques ont obtenus une AMM et sont donc des médicaments :

Nom	Souches	Posologies	Indications	Remarques
LACTEOL 340mg gélules ou sachets 	10 ⁹ UFC/gélule : <i>L. fermentum</i> et <i>L. delbrueckii</i> inactivés	1 à 3 gélules par jour	En complément de la réhydratation et/ou des mesures diététiques dans le traitement symptomatique d'appoint de la diarrhée (chez l'adulte et l'enfant de plus de 6 ans).	
ULTRA LEVURE 50mg 100mg 200mg 	<i>Saccharomyces boulardii</i>	200mg par jour Constitué de cellules vivantes se développant à 37°C → ne pas mélanger avec un liquide ou un aliment trop chaud (plus de 50°C), glacé ou alcoolisé	Traitement symptomatique d'appoint de la diarrhée, en complément de la réhydratation	Contre-indiqué chez porteur d'un cathéter veineux central De part sa nature fongique, ne pas associer à un antifongique oral ou systémique

[82]

2. Utilisation clinique

a. Mécanisme d'action

Les **probiotiques** permettent de compenser ou de prévenir les effets délétères liés à la dysbiose, ou simplement de renforcer les fonctions naturelles du microbiote.

Cependant, leur mécanisme d'action reste encore mal connu :

- Apport enzymatique (lactase) : certaines souches comme les Lactobacilles excrètent la lactase (enzyme capable de digérer le lactose), déficiente dans le tractus digestif de certaines personnes dites « intolérantes au lactose ».

- Interaction avec des bactéries pathogènes : acidification du contenu luminal (production d'acides gras à chaîne courte), compétition pour les nutriments et les sites de fixation, production de bactériocines et défensines, production de monoxyde d'azote.

- Maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale intestinale et stimulation de l'immunité : ils influencent le système immunitaire entérique à travers la production d'IgA ou l'induction de cytokines inflammatoires telles que l'IL-10. Une augmentation de l'expression de gènes de mucines a aussi été observée par certaines souches probiotiques. Une synergie d'action entre la sécrétion de mucus et celle des IgA sécrétoires pourrait expliquer en partie l'effet protecteur vis-à-vis d'agressions diverses (en particulier virales).

Certains probiotiques peuvent aussi renforcer la barrière épithéliale en diminuant la perméabilité vis-à-vis de certains antigènes, et modifier l'adhésion de certaines bactéries.

- Diminution de l'inflammation intestinale, notamment lors de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Les probiotiques peuvent interférer avec les molécules impliquées dans la transduction du signal induit par les cytokines pro-inflammatoires, en particulier la voie NFκB. In vitro, les produits de sécrétion de *L. rhamnosus* GG ont par exemple un effet inhibiteur de la production de TNF-α induite

par le LPS au niveau des macrophages. Plusieurs cibles intracellulaires telles que I κ B, un inhibiteur de NF κ B, et PPAR- γ (peroxisome proliferator activated receptor), pourraient expliquer l'effet anti-inflammatoire de certaines souches probiotiques [58] [83].

La fermentation des **prébiotiques** dans le colon possède un grand nombre d'effets physiologiques :

- augmentation du poids fécal facilitant l'exonération (propriétés laxatives)
- augmentation du nombre de bactéries anaérobies bénéfiques (Bifidobacteries et Lactobacilles) dans le colon.
- amélioration de la fonction de barrière épithéliale : les FOS augmentent l'épaisseur du mucus colique en agissant sur l'expression des gènes codant les mucines.
- production d'acide acétique et d'acide lactique entraînant la réduction du pH dans le colon et inhibant ainsi la croissance de bactéries pathogènes.
- accroissement de l'absorption de certains minéraux (calcium, magnésium)
- raccourcissement du temps de transit gastro-intestinal [57].

b. Affections gastro-intestinales

▪ Diarrhée aiguë

Diarrhée aiguë infectieuse

C'est l'indication la plus connue et la plus étudiée. La diarrhée aiguë infectieuse, généralement due au Rotavirus, est fréquente chez l'enfant et le nourrisson. Elle est responsable d'une morbi-mortalité importante au niveau mondial. L'intérêt des probiotiques réside dans la prévention et/ou la réduction de la durée de l'épisode. Les études révèlent que les probiotiques réduisent la durée de la diarrhée d'environ un jour.

Souches concernées : *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* et *L. bifidus*, *E. faecium* SF 68, *L. casei* DN114 001, *L. casei paracasei*, *L. reuteri*, *S. boulardii*.

Diarrhée liée à l'antibiothérapie

Les traitements par antibiotique sont fréquemment la cause d'un déséquilibre de la flore intestinale, responsable de diarrhées, voire dans les cas extrêmes, de l'émergence de *Clostridium difficile*, bactérie souvent présente dans un tractus intestinal sain, mais dont l'augmentation anormale lors d'un bouleversement de la flore peut être responsable d'une colite pseudomembraneuse. Les complications les plus redoutées sont alors le choc septique et le mégacolon toxique (dilatation massive du colon) qui peut entraîner une perforation colique et nécessiter une colectomie [84].

Certaines souches probiotiques peuvent agir en prévention de ces troubles : *L. casei* DN114 001, *S. boulardii*, *L. rhamnosus* GG.

Diarrhée du voyageur

Aussi appelée « turista », elle touche entre 5 et 50% des voyageurs selon la destination. Elle est surtout due à une transmission fécale-orale de bactéries pathogènes.

Souches concernées : *S. boulardii*, *L. rhamnosus* GG, *L. bulgaricus* et *L. fermentum*.

Il est important de noter que le traitement probiotique d'une diarrhée doit être associé à une réhydratation.

- Syndrome de l'intestin irritable (SII)

Aussi appelée colopathie fonctionnelle, cette pathologie représente une importante partie des consultations en gastro-entérologie. C'est un trouble fonctionnel intestinal responsable de douleurs abdominales ou d'un inconfort digestif. Un ballonnement, une distension abdominale et des troubles du transit sont également fréquemment associés.

Des études ont confirmé l'utilité des probiotiques dans le SII mais le bénéfice obtenu est hautement lié à la souche utilisée, comme pour les autres pathologies.

Ici, *B. infantis* 35624 a prouvé son efficacité dans la réduction de la douleur et le soulagement global ; en outre, *L. reuteri* améliorera les symptômes diarrhéiques en une semaine de traitement [85].

- Infection par *Helicobacter pylori*

Cette bactérie est responsable de gastrites chroniques, d'ulcères gastriques et duodénaux, et joue un rôle important dans la genèse des cancers gastriques (adénocarcinomes et lymphomes). La supplémentation des traitements antibiotiques par des probiotiques pourrait être efficace pour augmenter l'éradication d'*H. pylori*. En outre, les probiotiques ont un impact positif sur les effets indésirables induits par les traitements antibiotiques [86].

Souches concernées : *L. casei* DN114 001, *L. acidophilus* LB, *B. animalis*, *L. johnsonii* La1.

- Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

Les MICI regroupent la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Elles se caractérisent toutes les deux par une inflammation de la paroi d'une partie du tube digestif.

Dans la maladie de Crohn, l'inflammation peut être localisée dans tout le système digestif, de la bouche à l'anus (le plus souvent au niveau de l'intestin), tandis que dans la rectocolite hémorragique elle est localisée au niveau du rectum et du colon. Ces maladies évoluent par poussées inflammatoires de durée et de fréquence variables selon les patients, en alternance avec des phases de rémission.

Certaines études ont montré que les probiotiques pourraient jouer un rôle dans le traitement et la prophylaxie de ces maladies, mais d'autres, particulièrement sur la maladie de Crohn, n'ont pas montré de bénéfice. Les études doivent se poursuivre afin de pouvoir affirmer un effet positif des probiotiques sur ces pathologies.

- Coliques du nourrisson

Les coliques du nourrisson sont dues à des contractions coliques importantes. Elles entraînent douleurs et ballonnements, chez un enfant qui l'exprime en se tortillant, pleurant et semble souffrir après son repas. La flore de ces enfants serait pauvre en *Lactobacillus* et riche en bactéries à gram négatif. Des études ont alors été menées et ont montré un effet positif des *L. reuteri*, *B. lactis* et *L. rhamnosus* [87].

- Intolérance au lactose

L'intolérance au lactose est liée au déficit en lactase, responsable de difficultés à la digestion. La lactase ne digère plus le lactose qui se retrouve au niveau de l'intestin, où il fermente. Cela entraîne des symptômes digestifs inconfortables (douleurs, ballonnements, diarrhées).

Streptococcus thermophilus et *L. bulgaricus* améliorent la digestion du lactose et réduisent les symptômes.

- c. Affections allergiques

L. rhamnosus GG aurait un intérêt en prévention de la dermatite atopique chez le nouveau-né ou la femme enceinte.

D'autres études ont montrées l'efficacité de certaines souches spécifiques dans le traitement de patients avec eczéma atopique.

- d. Affections ORL

Certains probiotiques sont capables de stimuler des fonctions immunitaires. Certaines souches seraient capables de diminuer le portage de bactéries pathogènes au niveau nasal ou encore de réduire la fréquence ou la durée des infections respiratoires [24].

- e. Affection gynécologiques

A l'exception des maladies sexuellement transmissibles, la quasi-totalité des infections du vagin et de la vessie sont dues à des microorganismes qui proviennent de l'intestin. Les probiotiques auraient donc un rôle dans la prévention de ces troubles.

Les infections urinaires, généralement dues à *Escherichia coli*, sont très courantes ; des gélules vaginales de souches de *Lactobacillus* GR-1 et B-54 lyophilisées appliquées une fois par semaine et l'ingestion une fois par jour d'une capsule de

souches de *Lactobacillus* GR-1 et RC-14, peuvent restaurer la flore vaginale et réduire le risque de réapparition d'infections urinaires [57].

Les candidoses vaginales, dont l'agent pathogène est généralement *C. albicans*, une levure commensale de la muqueuse vaginale, pourraient aussi bénéficier d'un traitement probiotique, par voie orale et vaginale. En effet, la recolonisation vaginale par les *Lactobacillus acidophilus* permettrait de restaurer le pH vaginal et d'activer la croissance normale de la flore bactérienne, et ainsi réduire le risque de rechute de candidoses vaginales [88].

IV. Discussion

Au fil de cette thèse, nous décrivons que le microbiote intestinal pourrait être une cible thérapeutique du diabète de type 2. Cependant, malgré l'avancé de la recherche, nous n'en sommes pas encore à traiter les patients diabétiques avec des prébiotiques et probiotiques. Nous pouvons tout de même apporter certains éléments de réflexions : pouvons-nous, à ce jour, conseiller ces nouvelles thérapeutiques aux patients diabétiques ? Quels seraient les prébiotiques ou probiotiques adaptés pour le traitement de cette pathologie ? A quels critères doivent-ils répondre ?

En prospectif du développement de nouvelles molécules indiquées dans le traitement du diabète, quelles seraient les fréquences de prise ? Quelles pourraient être les interactions ?

Pouvons-nous, à ce jour, conseiller un prébiotique, un probiotique voire un antibiotique aux patients diabétiques ?

Nous avons vu que les études, notamment chez l'animal, ont montré des effets prometteurs de la modification du microbiote intestinal sur le DNID. Cependant, et bien que les prébiotiques et probiotiques présentent à priori très peu d'effets indésirables, des études sur l'Homme doivent être réalisées afin d'établir un réel bénéfice. Des études à long terme sur le patient diabétique sont nécessaires afin de fournir des preuves de l'efficacité, de l'innocuité, et de démontrer un rapport bénéfice/risque favorable dans cette pathologie.

Pour ce qui est des antibiotiques, nous avons vu qu'ils jouent un rôle dans la modification de la flore intestinale. En effet, tel que décrit précédemment, un traitement antibiotique chez la souris a entraîné une réduction de l'endotoxémie et une amélioration de la tolérance au glucose. Nous pouvons alors nous demander si une antibiothérapie pourrait agir favorablement dans la prévention ou le traitement du diabète.

Une étude cas-témoins menée au Royaume-Uni sur plus de 200 000 patients diabétiques et plus de 800 000 témoins appariés a cherché à évaluer l'effet d'une exposition aux antibiotiques sur le diabète.

D'après les résultats, la prise de deux à cinq traitements antibiotiques a été associée à une augmentation du risque diabétique pour la pénicilline, les céphalosporines, les macrolides et les quinolones. Le risque augmente avec le nombre de traitements.

Ces résultats ne sont pas cohérents avec ce que nous avons décrit précédemment, décrivant les antibiotiques comme ayant un impact bénéfique sur l'endotoxémie métabolique. L'amélioration du contrôle glycémique dans certains modèles de souris obèses après administration d'antibiotiques pourrait s'expliquer par le fait que certaines bactéries ont un rôle dans le phénotype de l'obésité et le diabète, et des antibiotiques à faible dose pourraient diminuer ces bactéries.

Cependant cette étude confirme :

- le rapport entre les changements microbiens et le diabète de type 2.
- le fait qu'un risque accru de surpoids a été observé chez les nourrissons exposés à des antibiotiques au cours de leur première année de vie.
- les résultats décrivant des modèles de souris avec une flore perturbée, une expression des gènes du métabolisme modifiée et une adiposité augmentée à la suite d'une faible dose d'antibiotique.

Au vue de ces contradictions, de futures études chez l'Homme sont nécessaires afin d'étayer l'effet d'une exposition répétée aux antibiotiques sur les modifications du microbiote et sa conséquence sur le diabète [89].

Quels seraient les prébiotiques ou probiotiques adaptés pour le traitement de cette pathologie ?

En terme de prébiotique, nous avons vu que l'ingestion de FOS induisait de profondes modifications de la flore intestinale, caractérisées par un accroissement des colonies de bifidobactéries et par une diminution de celles des clostridies, des entérobactéries et des *bactéroides*, responsables de différentes modifications métaboliques bénéfiques.

Au niveau des probiotiques, ce sont les lactobacilles qui ont majoritairement fait leur preuve dans la modulation du microbiote intestinal. Nous avons ainsi démontré que la quantité d'une bactérie n'est pas corrélée à son importance en matière d'efficacité ; en effet, les lactobacilles font partis des bactéries principales contenues

dans les probiotiques et ont démontré un grand intérêt, et sont pourtant très rares dans notre écosystème. De même, les bifidobactéries représentent un petit pourcentage des bactéries totales.

Enfin, il est important de noter que, même si les techniques de séquençage ont largement évolué et ont permis d'identifier de nombreuses espèces, beaucoup de bactéries ne sont pas cultivables et ne peuvent pas être apportées sous forme de probiotique. Ceci indique que l'étendu des connaissances est encore mince comparé à ce qu'il reste à découvrir. Des précisions doivent encore être apportées afin de décrire le rôle des milliers de bactéries qui peuplent notre système digestif.

La cartographie de notre microbiote nous permettrait de mieux comprendre comment les bactéries intestinales modulent notre métabolisme, et nous pourrions ainsi sélectionner la souche bactérienne efficace dans chaque indication.

A quels critères doivent-ils répondre ?

Dans l'indication du diabète, les probiotiques devront :

- avoir un effet démontré sur le métabolisme et le diabète de type 2
- ne pas être toxique ; il faudra notamment tester la survenue d'éventuels effets secondaires d'une prise de probiotiques sur du long terme.
- ne pas être dégradé par la digestion (acidité gastrique, bile)
- faire preuve d'une meilleure stabilité afin d'avoir un effet au long cours sur cette pathologie chronique
- ne pas interagir avec d'éventuels autres traitements

Quelles seraient les fréquences de prise ?

Les produits disponibles à ce jour ne persistent pas dans l'intestin, leur stabilité est limitée. De ce fait, les effets bénéfiques sont ressentis sur une période donnée, mais les traitements doivent être renouvelés afin d'en prolonger les effets.

Pour traiter une maladie chronique comme le diabète, les probiotiques devraient donc être pris par cures, au long cours, ou présenter une meilleure stabilité afin de modifier durablement le microbiote altéré.

Quelles pourraient être les interactions ?

L'influence du microbiote intestinal sur le métabolisme des xénobiotiques a été largement étudiée. En effet, un lien entre microbiote et xénobiotiques existe soit par un rôle direct de la flore intestinale dans le métabolisme de certains médicaments, soit par un phénomène de compétitivité.

Grâce à la diversité de ses activités enzymatiques, le microbiote intestinal peut métaboliser de nombreux composés, notamment par des interactions directes :

- Production microbienne de composés actifs

Le microbiote intestinal peut convertir des molécules inactives (prodrugs), ainsi que des composés bioactifs alimentaires, en leur forme active. Par exemple, la sulfasalazine, antibiotique et anti-inflammatoire, est un pro-médicament, constitué d'un acide 5-aminosalicylique (5-ASA) relié à une molécule de sulfapyridine par une double liaison NN. Le médicament reste inactif jusqu'à ce qu'il atteigne l'intestin distal, où des azoréductases codées par le microbiote intestinal clivent la double liaison NN pour libérer le 5-ASA actif.

- Désintoxication microbienne des xénobiotiques

Le microbiote intestinal code également des enzymes qui détoxifient les xénobiotiques, entraînant des changements dans leur efficacité et/ou leur toxicité.

Selon une étude américaine, la bactérie *Eggerthella lenta* serait responsable de l'inactivation de la digoxine, molécule indiquée dans le traitement de certaines arythmies cardiaques.

Cette étude montre qu'une seule souche bactérienne peut moduler l'efficacité d'un médicament [90].

Le microbiote intestinal détoxifie également des composés alimentaires. Par exemple, de nombreuses plantes produisent de l'oxalate, un agent chélatant fort qui se lie au Ca^{2+} et à d'autres cations métalliques libres, ce qui peut être responsable d'une hyperoxalurie, de calculs rénaux, d'une insuffisance rénale et de troubles de la conduction cardiaque.

- Liaison directe aux xénobiotiques

La Lévodopa, précurseur de la dopamine (L-DOPA), est une molécule indiquée dans la maladie de Parkinson, dont les anomalies cliniques sont provoquées par l'épuisement de la dopamine dans le système nerveux central. Contrairement à la dopamine administrée par voie orale, la L-DOPA peut traverser la barrière hémato-encéphalique, où elle est décarboxylée en dopamine.

On sait depuis longtemps que les patients parkinsoniens présentent un risque accru d'ulcère gastroduodéal, qui résulterait de dommages au niveau de la muqueuse de l'estomac et du duodénum engendrés par *Helicobacter pylori*. Des études récentes ont montré que l'éradication d'*H. pylori* avec des antibiotiques augmente la biodisponibilité de la L-DOPA chez les patients parkinsoniens ; on observe avec une dose unique d'antibiotiques l'amélioration des symptômes moteurs pendant au moins trois mois.

La liaison directe par les microbes de l'intestin peut aussi avoir des effets bénéfiques. Les amines hétérocycliques sont formées au cours de la carbonisation de la viande, du poisson ou de la volaille. Des études épidémiologiques ont rapporté une association entre la consommation de ces amines et un risque accru de cancer colorectal. De multiples études ont montré que les bactéries lactiques présentes dans l'intestin et dans les aliments fermentés peuvent directement se lier à ces molécules mutagènes, prévenant potentiellement l'induction des dommages de l'ADN et des lésions pré-néoplasiques [91].

En plus de modifier directement les xénobiotiques, des travaux récents ont souligné que le microbiote intestinal façonne aussi leur métabolisme.

- Modification de l'efficacité ou de la toxicité des xénobiotiques par compétition, avec les métabolites générés par le microbiote, pour les sites de liaison de l'enzyme de l'hôte ;
- Induction d'enzymes de l'hôte (intestinales et/ou hépatiques) responsables de la métabolisation de la drogue ;
- Production, à partir des aliments, de métabolites activant l'expression des enzymes hépatiques assurant le métabolisme des drogues ;

Il conviendra donc de s'intéresser plus particulièrement aux modifications que le microbiote induit ou qu'il est capable d'induire sur les xénobiotiques, et si moduler la flore par le biais de prébiotiques et probiotiques n'interagirait pas dans le métabolisme, et donc la biodisponibilité des médicaments. Ces recherches sont d'un intérêt primordial pour pouvoir détecter d'éventuels métabolites soit toxiques, soit inefficaces, en fonction de l'entérotype du microbiote considéré [92].

Pour finir, il est important de rappeler qu'une alimentation équilibrée, et riche en fibres fermentescibles, est la première étape dans la lutte contre le diabète de type 2, et bon nombre de pathologies en général. C'est un des facteurs primordial permettant d'établir un microbiote sain.

Conclusion

Le diabète de type 2 est un véritable enjeu de santé publique au niveau mondial. Cette pathologie, même si souvent silencieuse et donc généralement minimisée par les patients, est très insidieuse et responsable de complications graves. De plus, elle touche une population de plus en plus jeune.

De nombreux moyens sont mis en place pour lutter contre le diabète (campagnes de prévention, traitements...) ; cependant, face à la forte augmentation de la prévalence de cette pathologie, de nouvelles pistes doivent encore être recherchées.

Il est aujourd'hui bien établi que le DNID est une pathologie de causes multifactorielles. En effet, de nombreux facteurs génétiques et environnementaux seraient impliqués dans sa survenue.

Depuis quelques années, de nombreux travaux portent sur l'identification des facteurs prédisposant et des populations à risque de diabète de type 2, en vue de réduire l'augmentation de l'incidence de cette maladie. Des études visent à mieux comprendre les liens entre surpoids, alimentation, mode de vie et diabète, et de nouvelles cibles thérapeutiques sont recherchées.

L'amélioration de nos connaissances au sujet de notre relation de commensalisme avec le microbiote intestinal a mis l'accent sur sa participation dans la physiopathologie du diabète de type 2. Des chercheurs s'intéressent alors à la modification de la flore intestinale, particulière chez les sujets atteints de DNID. En effet, ils ont montré que sa composition change avec un régime riche en gras.

Le microbiote intestinal se met en place à la naissance et a une composition stable, spécifique à chaque individu. En revanche, des variations quantitatives et qualitatives peuvent l'affecter. Elles sont le plus souvent transitoires et ont parfois pour conséquence la survenue d'une pathologie digestive ou extra-digestive.

C'est pourquoi agir sur la flore intestinale paraît être une cible privilégiée dans la prévention de l'obésité et du diabète de type 2. Plusieurs études expérimentales étayaient le rôle de la communauté microbienne dans l'élaboration de la masse

grasse, la résistance à l'insuline et l'inflammation de bas grade. La différence de composition du microbiote entre des sujets sains et obèses (et diabétiques de type 2) reste une découverte majeure permettant de soulever des questions clés : quelle est l'implication du microbiote intestinal dans l'interaction avec l'hôte ? Comment contrôler les altérations métaboliques liées à l'endotoxémie, l'inflammation, l'accumulation de masse grasse ?

Même si les connaissances doivent encore être approfondies, plusieurs outils ou stratégies sont actuellement envisageables pour moduler le microbiote intestinal. L'approche visant à administrer des probiotiques ou des prébiotiques pourrait être une piste intéressante. Cependant, malgré la commercialisation de ces produits pour d'autres indications, des questions restent encore en suspens avant de les utiliser dans le DNID : quelle est la dose à conseiller et pendant quelle durée ? Doit-on adapter le dosage en fonction de l'âge ou du sexe de l'individu ? Sont-ils réellement sans danger ? Les personnes fragiles ou malades peuvent-elles se traiter avec des probiotiques sans risque ?

Les réponses à ces questions seront cruciales pour le développement de traitements personnalisés des pathologies liées à la dysbiose. En effet, même si les connaissances progressent, les recherches doivent se poursuivre afin de définir précisément le rôle de chaque souche, et ainsi décrire laquelle aura un effet précis sur telle ou telle pathologie. Des études chez l'Homme devront notamment être menées afin d'affirmer le rôle causal du microbiote dans le diabète, et de tester dans des essais cliniques randomisés le traitement par bactéries versus placebo.

En outre, des études prenant en compte les facteurs de variation tels que l'âge, le sexe, le régime alimentaire, l'activité physique, le tabagisme, l'alcool, les médicaments et d'éventuelles maladies infectieuses sont cruciales pour la bonne interprétation des résultats.

En conclusion, les données actuelles permettent d'établir de nombreuses perspectives de recherche. Bien qu'elles ne soient pas encore assez développées pour offrir des traitements, elles demeurent encourageantes pour espérer obtenir dans l'avenir de nouveaux outils thérapeutiques dans la prise en charge des patients diabétiques de type 2.

Bibliographie

- [1] **Inserm**. « Diabète de type 2 (DNID) ». Site disponible sur : <http://www.inserm.fr/thematiques/circulation-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/diabete-de-type-2-dnid>
- [2] **OMS**. « Diabète ». Site disponible sur : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/fr/>
- [3] **HAS**. « Stratégie médicamenteuse du contrôle glycémique du diabète de type 2 ». Site disponible sur : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2013-02/10irp04_reco_diabete_type_2.pdf
- [4] **HAS**. « Principes de dépistage du diabète de type 2 ». Site disponible sur : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/diabete_rap_2003.pdf
- [5] Site disponible sur : <http://www.medecine.ups-tlse.fr/dcem3/module14/diabetologie>
- [6] **Bernard Thorens**. « Incrétines, sécrétion d'insuline et diabète ». Médecine/Sciences Médecine/Science n° 8-9 vol. 19, 860-863, 2003
- [7] **Christophe Porcher**. « Physiologie des régulations ». Site disponible sur : http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p239/Physio_L3_glycemie_2013.pdf
- [8] **A. Hartemann, A. Grimaldi**. « Guide pratique du diabète », Edition Masson
- [9] **Faculté de médecine Pierre et Marie Curie**. « Physiopathologie du diabète de type 2 ». Site disponible sur : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/diabeto/POLY.Chp.3.html>
- [10] **Louis Monnier**, « Diabétologie », Edition Masson
- [11] **Institut Cochin**. « Le récepteur de l'insuline et sa régulation ». Site disponible sur : <http://cochin.inserm.fr/Departements/emd/equipe-postic/les-recepteurs-de-linsuline-et-de-igf1/le-recepteur-de-linsuline-et-sa-regulation-groupe>
- [12] Le récepteur à l'insuline. Site disponible sur : <http://www.exobiologie.info/diabete/10%20recepteur.pdf>
- [13] **G. Boden, G. I. Shulman**. « Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction ». European Journal of Clinical Investigation 32 (Suppl. 3), 14–23, 2002
- [14] **Jean Girard**. « Rôle des acides gras libres dans la sécrétion et l'action de l'insuline : mécanismes de la lipotoxicité ». Médecine/Sciences n° 8-9, vol. 19, 827-833, 2003
- [15] **HAS**. La prise en charge de votre artérite des membres inférieurs. Site disponible sur : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2008-06/08-098_gp_maladie_corona_2008-06-16_14-30-47_587.pdf

- [16] **A. Fredenrich, P.-J. Bouillanne.** Artériopathie diabétique des membres inférieurs. EMC-Endocrinologie 1, 117-132, 2004
- [17] **Collège des Enseignants d'Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques.** « Endocrinologie, diabétologie et maladie métaboliques », Edition Masson
- [18] **ANSM.** « La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques ». Site disponible sur http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/5e5e01018303790194275ded0e02353c.pdf
- [19] **P. Bourlioux.** « Actualité du microbiote intestinal ». Annales Pharmaceutiques Françaises 72, 15-21, 2014
- [20] **J. Doré, G. Corthier.** « Le microbiote intestinal humain ». Gastroentérologie Clinique et Biologique 34, 7-16, 2010
- [21] **Julie Legendre.** « Microbiote intestinal et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ». THESES 2014 TOU3 N°2000
- [22] **O. Goulet.** « La flore intestinale : un monde vivant à préserver ». Journal de pédiatrie et de puériculture 22, 102-106, 2009
- [23] **P. Gérard.** « Le microbiote intestinal : composition et fonctions ». Phytothérapie 9, 72-75, 2011
- [24] **Camilles Rofes.** « Intérêts du microbiote intestinal et probiotiques ». THESE 2014/TOU3/2018
- [25] **F. Campeotto et al.** « Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né ». Gastroenterol Clin Biol 31, 533-542, 2007
- [26] **Linda Chia-Hui Yu, Jin-Town Wang, Shu-Chen Wei, Yen-Hsuan Ni.** « Host-microbial interactions and regulation of intestinal epithelial barrier function: from physiology to pathology ». World J Gastrointest Pathophysiol 3(1), 27-43, 2012
- [27] **Judith A. Owen, Jenny Punt, Sharon A. Stanford.** Kuby immunologie édition Dunod. Site disponible sur : <https://books.google.fr/books?id=mfzcAwAAQBAJ&pg=PR5&lpg=PR5&dq=Judith+A.+Owen,+Jenni+Punt,+Sharon+A.+Stanford&source=bl&ots=CdP94qQZRc&sig=4QbbIOjdTPvMIWoCWQ93kvYOprU&hl=fr&sa=X&ved=0CDUQ6AEwBGoVChMI4PifzNT2yAIVSL9yCh0owQdH#v=onepage&q=Judith%20A.%20Owen%2C%20Jenni%20Punt%2C%20Sharon%20A.%20Stanford&f=false>
- [28] **Cambier L. et al.** « Rôle des cellules Th17 dans les maladies infectieuses et auto-immunes ». Ann. Méd. Vét. 154, 104-112, 2010

- [29] **Philippe Gérard, Annick Bernalier-Donadille.** « Les fonctions majeures du microbiote intestinal ». Cah. Nutr. Diét. 42, 28-36, 2007
- [30] **M. Abély.** « Flore digestive et antibiothérapie ». Archives de Pédiatrie 2010;17:858-860
- [31] **G. Corthier.** « Flore intestinale et santé : quels enjeux ? ». Nutrition clinique et métabolisme 21, 76-80, 2007
- [32] **Kirsty Brown, Daniella DeCoffe, Erin Molcan and Deanna L. Gibson.** « Diet-Induced Dysbiosis of the Intestinal Microbiota and the Effects on Immunity and Disease ». Nutrients 4, 1095-1119, 2012
- [33] **M.B. Roberfroid.** « Les fibres sont-elles toutes des prébiotiques ? ». Phytothérapie 9, 100-104, 2011
- [34] **OMS.** Site disponible sur : <http://www.who.int/topics/obesity/fr/>
- [35] **Naoko Hara, Aimon K. Alkanani et al.** « The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes ». Clinical Immunology 146, 112-119, 2013
- [36] **J. Turnbaugh et al.** « An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest ». Nature 444, 21-28, 2006
- [37] **Junjie Qin et al.** « A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes ». Nature 490, 55-65, 2012
- [38] **A. Vrieze et al.** « Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome ». Gastroenterology 143, 913-916, 2012
- [39] **R. Burcelin, J. Amar.** « Flore intestinale et maladies métaboliques ». Médecine des maladies Métaboliques 3, 2009
- [40] **Vanessa K. Ridaura et al.** « Cultured gut microbiota from twins discordant for obesity modulate adiposity and metabolic phenotypes in mice ». Science 341(6150), 1-22, 2013
- [41] **P. D. Cani.** « Modulation nutritionnelle du microbiote intestinal : impact sur la perméabilité intestinale et les désordres métaboliques ». Médecine des maladies métaboliques 3, 159-164, 2009
- [42] **Ikuo Kimura et al.** « The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43 ». Nature communications 4:1829, 1-12, 2013
- [43] **Herbert Tilg, Alexander R Moschen.** « Microbiota and diabetes: an evolving relationship ». Gut 63, 1513-1521, 2014
- [44] **Milagros Galisteo, Juan Duarte, Antonio Zarzuelo.** « Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome ». Journal of Nutritional Biochemistry 19, 71-84, 2008

- [45] **Rodrigo Bibiloni, Mathieu Membrez, Chieh Jason Chou.** « Microbiote intestinal, obésité et diabète ». Ann Nestlé [Fr] 67, 39-48, 2009
- [46] **Marc Foretz et al.** « Régulation du métabolisme énergétique par l'AMPK ». Médecine/Sciences 22, 381-388, 2006
- [47] **Kendle M.Maslowski et al.** « Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43 ». Nature 461, 1282-1286, 2009
- [48] **Michèle Guerre-Millo.** « La fonction sécrétrice du tissu adipeux : implication dans les complications métaboliques et cardiovasculaires de l'obésité ». Journal de la Société de Biologie 200, 37-43, 2006
- [49] **Andréanne Michaud.** « Obésité et inflammation : infiltration de macrophages dans les tissus adipeux de la femme ». Mémoire 2012
- [50] **Nathalie M. Delzenne, Patrice D. Cani.** « Modulation nutritionnelle de la flore intestinale : une nouvelle approche diététique dans la prise en charge de l'obésité ? ». Cahiers de nutrition et de diététique 44, 42-46, 2009
- [51] **Patrice D. Cani, Jacques Amar et al.** « Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance ». Diabetes 56, 1761-1772, 2007
- [52] **Nathalie M. Delzenne, Patrice D. Cani.** « Implication de la flore intestinale dans le métabolisme énergétique ». Médecine/Sciences 24, 505-510, 2008
- [53] **Patrice D. Cani et al.** « Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice ». Diabetes 57, 1470-1481, 2008
- [54] **Amal Yazigi, Bénédicte Gaborit.** « Rôle de la flore intestinale dans l'insulinorésistance et l'obésité ». Presse Med. 37, 1427-1430, 2008
- [55] **Patrice D. Cani, Nathalie M. Delzenne.** « The gut microbiome as therapeutic target ». Pharmacology & Therapeutics 130, 202-212, 2011
- [56] **Kristine H Allin et al.** « Gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus ». European Journal of Endocrinology 172, 167-177, 2015
- [57] **Francisco Guarner et al.** « Probiotiques et prébiotiques ». World Gastroenterology Organisation, 2008
- [58] **S. M. Schneider.** « Probiotiques ». Médecine des maladies Métaboliques vol. 2 n°4, 363-367, 2008
- [59] **Laurence Martin.** « Probiotiques, prébiotiques, symbiotiques et « métabiotiques » : ce qu'il faut savoir ». Inserm 2009

- [60] **Pierre Bourlioux, Véronique Braesco, Denis D.G. Mater.** « Yaourts et autres laits fermentés ». Cahiers de nutrition et de diététique 46, 305-314, 2011
- [61] **F. Barbut, A. Collignon, M.-J. Butel, P. Bourlioux.** « Le transfert de flore digestive : une revue de la littérature ». Annales Pharmaceutiques Françaises 73, 13-21, 2015
- [62] **Na-Ri Shin et al.** « An increase in the Akkermansia spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice ». Gut 63, 727-735, 2014
- [63] **Brigitte Thimoleon.** « Contrôle des probiotiques ». SCL - L35 Colloque Compléments alimentaires 2011
- [64] **OMS.** Site disponible sur : <http://www.who.int/bulletin/volumes/87/9/09-020909/fr/>
- [65] **D. Baelde.** « Actualités de la législation européenne en matière d'aliments et d'allégations santé ». Annales Pharmaceutiques Françaises 66, 296-299, 2008
- [66] **Autorité européenne de sécurité des aliments.** Site disponible sur : <http://www.efsa.europa.eu/fr/faqs/faqnutrition>
- [67] **François-André Allaert et François Pillon.** « Rôles des probiotiques, prébiotiques et produits de fermentation au niveau du microbiote intestinal ». Actualités pharmaceutiques n° 501, 44-45, 2010
- [68] **Seppo Salminen et al.** « Demonstration of safety of probiotics ». International Journal of Food Microbiology 44, 93-106, 1998
- [69] **Nutergia.** Site disponible sur : <http://www.nutergia.com/complement-alimentaire/fr/index.php>
- [70] **Pileje.** Site disponible sur : <http://www.pileje-micronutrition.fr/>
- [71] **Codifra.** Site disponible sur : <http://www.codifra.fr/produits/complement-alimentaire-reconstituer-reequilibrer-flore-intestinale.php?numCmde=0>
- [72] **Arkopharma.** Site disponible sur : <http://www.arkopharma.fr/produits/complements-alimentaires/digestion.html#.Vjeu79lvet>
- [73] **Azinc.** Site disponible sur : <http://www.azinc.fr/nos-produits/tous-nos-produits/complements-alimentaires-defenses-naturelles/>
- [74] **EurekaSanté.** Site disponible sur : <http://www.eurekasante.fr/parapharmacie/vidal/produits-id12604n0-BIOGAI.html>
- [75] **Bion 3.** Site disponible sur : <http://www.bion.fr/>
- [76] **Carrare.** <http://www.laboratoire-carrare.fr/nos-produits/tous-les-produits?limitstart=0>

- [77] **Bausch+Lomb Laboratoire chauvin.** Site disponible sur : http://www.bausch.fr/OTC/site/Produits/Gastro-enterologie/GASTRO-ENTEROLOGIE-Fiches-produits-et-mentions-legales/BLOXAIR-Dispositif-Medical_828_1123.html
- [78] **Laboratoire des Granions.** Site disponible sur : <http://www.granions.fr/nos-produits/granions-sante/granions-renforstim.html>
- [79] **Immunostim.** Site disponible sur : <http://immunostim.fr/notre-solution-1>
- [80] **Léro.** Site disponible sur : <http://www.lero.fr/activ/flore/>
- [81] **Nutrisanté.** Site disponible sur : <http://www.nutrisante.fr/fr/nos-produits/bien-etre/digestion-transit/ultrabiotique>
- [82] **Theriaque.** Site disponible : http://www.theriaque.org/apps/recherche/rch_simple.php#
- [83] **Martine Heyman.** « Effets des probiotiques sur le système immunitaire : mécanismes d'action potentiels ». Cah. Nutr. Diét. 42, 69-75, 2007
- [84] **INVS.** « Conduite à tenir : diagnostic, investigation, surveillance, et principes de prévention et de maîtrise des infections à *Clostridium difficile* ». Document de travail – 2006
- [85] **Eamonn Quigley et al.** « Syndrome de l'intestin irritable : Une approche globale ». World Gastroenterology Organization, 1-26, 2009
- [86] **J. L. Tong et al.** « Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during Helicobacter pylori eradication therapy ». Aliment Pharmacol Ther 25, 155-168, 2007
- [87] « Consultation mixte d'experts FAO/OMS sur l'évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments, y compris le lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes ». 2001
- [88] **I. Amouri et al.** « La candidose vulvovaginale : revue ». Journal de Mycologie Médicale 20, 108-115, 2010
- [89] **Ben Boursi, Ronac Mamtani, Kevin Haynes, Yu-Xiao Yang.** « The effect of past antibiotic exposure on diabetes risk ». European Journal of Endocrinology 172, 639-648, 2015
- [90] **Henry J. Haiser et al.** « Predicting and manipulating cardiac drug inactivation by the Human Gut bacterium *Eggerthella lenta* ». Science 341, 295-298, 2013
- [91] **R. N. Carmody, P. J. Turnbaugh.** « Host-microbial interactions in the metabolism of therapeutic and diet-derived xenobiotics ». J Clin Invest. 124(10), 4173-4181, 2014
- [92] **Inserm.** « Microbe-Homme : jusqu'où va la symbiose ? ». Collège de France 2014

TITLE: Gut microbiota and type 2 diabetes

SUMMARY:

Type 2 diabetes is a chronic pathology, often insidious and asymptomatic, but responsible for serious complications. Facing the emergence of many types of diabetes, new several studies have been conducted. Today, the human gut microbiota seems to be always present within our body's regulation mechanism, and it is observed associated to various pathologies. Therefore, the study of gut microbiota implication into type 2 diabetes appears to be an interesting hypothesis. Will this last one permit the description of new mechanisms that explain this pathology emergence and maintenance? To answer this question, this research exposes the actual knowledge on type 2 diabetes and gut microbiota. Then it develops gut microbiota participation in that disease. It also describes some therapeutics available (prebiotics and probiotics) that can modify the gut microbiota.

MICROBIOTE INTESTINAL ET DIABETE DE TYPE 2

RESUME

Le diabète de type 2 est une pathologie chronique souvent insidieuse et asymptomatique, mais responsable de complications lourdes. Face à l'émergence de nombreux cas de diabète, de nouvelles pistes de recherche sont sans cesse étudiées. Aujourd'hui, le microbiote intestinal apparaît comme omniprésent dans les mécanismes de régulation de notre corps, et est observé en association avec différentes pathologies. En conséquent, l'étude de l'implication du microbiote intestinal dans le diabète de type 2 apparaît comme une piste intéressante. Celle-ci permettra-t-elle de décrire de nouveaux mécanismes de survenue et d'entretien de cette pathologie ? Pour répondre à cette problématique, ce travail expose les connaissances actuelles sur le diabète de type 2 et le microbiote intestinal, développe la participation du microbiote dans cette maladie, et décrit les thérapeutiques actuellement disponibles (prébiotiques et probiotiques) permettant de modifier la flore intestinale.

DISCIPLINE administrative : Pharmacie

MOTS-CLES : Diabète non insulino-dépendant – Microbiote intestinal – Bactéries – Perméabilité intestinale – Inflammation – Dysbiose – Physiopathologie – Prébiotiques – Probiotiques

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Toulouse III
35 chemin des Maraîchers
31062 TOULOUSE Cedex

Directeur de thèse : Yannis Sainte-Marie